

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



“VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE CREATININA USADO EN EL LABORATORIO QUINTANILLA S.R.L.”

**INFORME DE INTERNADO REALIZADO EN EL
ÁREA DE: BIOQUÍMICA DEL LABORATORIO
QUINTANILLA S.R.L.**

**PARA OPTAR EL TÍTULO
DE QUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTOR : Br. PAREDES LOZANO, EDWIN FRANKLIN.

ASESOR : Dr. PIMINCHUMO CARRANZA, RAMÓN.

TRUJILLO – PERÚ

2007

DEDICATORIA

**A Dios, por darnos la vida, guiar nuestro camino
y estar en todo momento con nosotros.**

**A mis padres, por su ejemplo de lucha,
honestidad y amor incondicional.**

**A nuestros hermanos
por su apoyo y cariño de siempre.**

**A mi tutora de internado:
Castro Guzmán, Judith
y todo el personal que labora en el laboratorio
Quintanilla por apoyarme incondicionalmente
para la realización de este trabajo de Investigación.**

AGRADECIMIENTOS

A la facultad de Farmacia y Bioquímica
de la Universidad Nacional de Trujillo
por la formación profesional recibida.

A mis padres y hermanos quienes
me apoyaron en todo momento para el
logro de mis objetivos propuestos.

A mi asesor:

Dr. Ramón Piminchumo carranza

Por las enseñanzas recibidas y por la colaboración
para la realización del presente trabajo.

A los señores miembros del jurado:

Alg. César Gamarra Sánchez y
Alg. Francisco Saavedra Suarez.

A todos los profesores de la Facultad, quienes
nos impartieron conocimientos que son
el soporte de nuestro desarrollo profesional.

Al laboratorio de la Clínica
Peruano Americana por brindarnos
su apoyo desinteresado en la realización del
Informe de Investigación
particularmente a :
Q.F. Judith Castro Guzmán

JURADO DICTAMINADOR

Mg. GAMARRA SÁNCHEZ, CÉSAR.

Mg. PIMINCHUMO CARRANZA, RAMÓN.

Mg. SAAVEDRA SUAREZ, FRANCISCO.

PRESENTACIÓN

Señores miembros del jurado dictaminador:

Dando cumplimiento a lo establecido por el reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, someto a vuestra consideración y elevado criterio profesional el presente trabajo de Informe de Investigación de internado titulado: **“Validación del Método Analítico para la Determinación de Creatinina Usado en el Laboratorio Quintanilla S.R.L.”**.

Es propicia esta oportunidad para manifestarle el más sincero reconocimiento a esta alma mater y a toda su plana docente, que con su capacidad y buena voluntad contribuyeron a nuestra formación profesional. Dejo a vuestro criterio señores miembros del jurado dictaminador la calificación del presente trabajo de investigación científica.

Trujillo, 09 de Noviembre del 2007

PAREDES LOZANO, EDWIN FRANKLIN

RESUMEN

Se realizó la validación del método analítico para la determinación de creatinina en el laboratorio Quintanilla S.R.L. cede de la Clínica Peruano Americana. Antes de empezar la validación se hizo la calificación del Fotómetro BPC BioSed, que incluye: a) calificación de la instalación (*IQ*), b) calificación operacional (*OQ*) y c) calificación de la performance (*PQ*). Los parámetros validados fueron: Linealidad, precisión, exactitud, sensibilidad y selectividad; parámetros que se tiene que realizar para una validación tipo I, según la USP XXII. De los parámetros evaluados estadísticamente, se comprobó que el método analítico para determinación de creatinina es lineal ($r^2 > 0.99$), preciso ($C.V. \leq 3,9 \%$), exacto ($t_{exp.} < t_{tab.}$), sensible (según la pendiente, *LOD* y *LOQ*) y selectivo (respuesta no significativa).

ABSTRACT

The validation of the analytical method for the determination of creatinine was made in the Quintanilla laboratory S.R.L. yields of the American Peruvian Clinic. Before beginning the validation, the photometer BPC BioSed qualification was made, it includes: a) qualification of the installation (IQ), b) operational qualification (OQ) and c) performance qualification (PQ). The validated parameters were: Linearity, precision, exactitude, sensitivity and selectivity; parameters that must be made for a validation type I, according to USP XXII. from the statistically parameters evaluated, it was verified that the analytical method for creatinine determination is linear ($r^2 > 0,99$), precise (C.V. = 3,9 %), exact ($t_{exp} < t_{tab}$), sensible (according to slope, LOD and LOQ) and selective (nonsignificant answer).

ÍNDICE

PÁGINAS PRELIMINARES	Págs.
Dedicat6ria	i
Agradecimiento	ii
Jurado dictaminador	iv
Presentaci6n	v
Resumen	vi
Abstract	vii
I. INTRODUCCI6N	01
II. MATERIAL Y M6TODOS	05
III. RESULTADOS	19
IV. DISCUSI6N	21
V. CONCLUSIONES	24
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
ANEXOS	

I. INTRODUCCIÓN:

Hoy en día, los laboratorios deben demostrar que sus métodos analíticos proporcionan resultados fiables y adecuados para su finalidad o propósito perseguido, ya que muchas de las decisiones que se toman están basadas en la información que estos resultados proporcionan. La validación de las metodologías, junto a otras actividades englobadas en el control del aseguramiento de la calidad, permite demostrar a los laboratorios que sus métodos analíticos proporcionan resultados fiables.

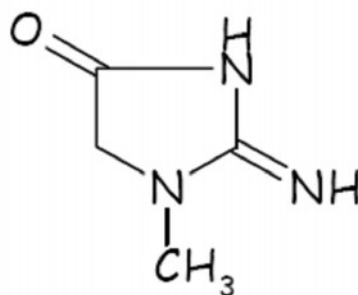
Un laboratorio de análisis clínico, está en la obligación de implementar el aseguramiento de la calidad en todas las etapas del trabajo llámense éstas: pre-analítica, analítica y post-analítica. De los datos registrados el laboratorio puede detectar tendencias, principalmente si emplea técnicas estadísticas para analizar resultados. Para lograr el aseguramiento de la calidad, el laboratorio debe disponer de procedimientos de control para comprobar la validez de sus actividades, especialmente las de ensayo^{1, 2, 5}.

Todo lo que se puede medir, se puede controlar. Las mediciones generan datos cuya recopilación y evaluación constituye una de las funciones más importantes de un sistema de calidad que pueden usarse efectivamente para el control de procesos. La medición sistemática puede tener los siguientes propósitos: a) Verificar la conformidad frente a los requisitos (eficacia), b) Determinar la eficiencia de un proceso (competencia), c) Suministrar datos con los que se hará un análisis de base (validación), d) Identificar variaciones en los procesos (número, frecuencia, fuentes, causas y clases)^{3, 5}.

La vigilancia de la salud tanto individual como de la población en general, el desarrollo de un número creciente de técnicas de laboratorio y la mejora continúa de los métodos diagnósticos; requieren la adopción de herramientas de gestión para una óptima implementación en los sistemas y laboratorios de salud. Por estas razones, entre otras, el concepto universal de calidad y el estudio de sus procesos se han extendido de la industria de la manufactura a las ciencias médicas. Abarcando muchos aspectos en los que se incluye el buen servicio y la satisfacción del cliente o de los usuarios los que son objetivos primordiales para los hospitales y laboratorios que tratan de establecer un sistema de gestión de la calidad ¹.

La creatinina es un producto residual de la digestión de proteínas y una medida de la función del riñón. Niveles altos son normalmente debidos a problemas nefríticos. Los médicos usan el nivel de creatinina como la señal directa de cómo los riñones desechan los productos residuales del cuerpo ¹².

Estructura de la creatinina:



La creatinina es el producto final del catabolismo de la creatina (o fosfocreatina). La cantidad producida diariamente esta relacionada con la masa muscular. La creatinina es filtrada libremente por el glomérulo

(pequeñas cantidades son reabsorbidas y también secretadas por los túbulos renales). El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

A través de la validación establecemos una evidencia documentada que un procedimiento analítico conducirá, con un alto grado de seguridad a la obtención de resultados precisos y exactos dentro de las especificaciones y los atributos de calidad previamente establecidos ^{4, 6}.

La validación de un proceso debe establecer, mediante estudios sistemáticos de laboratorio, los rangos de esas variaciones con parámetros como la reproducibilidad, sensibilidad, especificidad, límites de detección o cuantificación, etc. Así mismo debe demostrar que las características de dicho proceso cumplen las especificaciones relativas al uso previsto de los resultados analíticos. La validación permite el conocimiento de las características de funcionamiento del proceso y proporciona un alto grado de confianza en el mismo y en los resultados obtenidos al aplicarlo.

Los procesos en un laboratorio son complejos y tienen muchas posibilidades de sufrir variaciones que pueden afectar al producto final; es entonces necesario el control de procesos para mantener los niveles esperados de desempeño y para identificar y eliminar las causas de variación; por lo que la validación de los métodos analíticos es uno de los principales avales de que el resultado de un proceso es reproducible, cumple con el uso propuesto y está normalizado, de manera que los resultados que proporciona serán comparables a los de otro proceso en un lugar diferente y viceversa ^{5, 6}.

La validación demuestra que, siguiendo las actividades de un proceso tal y cómo están descritas, se puede obtener un producto con los requisitos especificados, ya que cada una de las etapas del proceso es diseñada y controlada para tener la máxima seguridad que el producto cumple con las especificaciones. Es por ello que en este estudio se plantea el problema siguiente ^{3,5}.

¿El método Analítico para la Determinación de Creatinina Usado en el Laboratorio Quintanilla S.R.L. Cumple con los Parámetros de Validación Requeridos?

Los objetivos que se ha planteado para este trabajo de investigación son los siguientes:

1. Verificar la linealidad, exactitud, precisión, sensibilidad y selectividad del método.
2. Establecer nuestros resultados de validación en base a una validación retrospectiva.
3. Demostrar la aplicabilidad y adaptabilidad del método analítico para la determinación de creatinina en el laboratorio "Quintanilla S.R.L."

II. MATERIALES Y MÉTODOS:

1. MATERIAL

1.1.- Muestra:

- Standard de creatinina (2mg/dL).

1.2.- Reactivos:

- Nombre : Creatinina Cinética AA
- Fabricante : Wiener lab (Argentina).
- Lote : 609550
- Vencimiento : 07/2008
- Contenido del kit de reactivos:

A. Reactivo	1 x 250 mL
B. Reactivo	1 x 250 mL
S. Standard	1x 30 mL

- Composición:

A: Reactivo. Acido pícrico 41.4 mmol/L

B: Reactivo alcalino: Carbonato/NaOH pH 12,7.

Úsense guantes adecuados y protección para los ojos/cara.

S: Standard de creatinina 20mg/L (177 umol/L).

- Conservación de los reactivos:

Conservar de 15-30°C.

Los Reactivos y el Patrón son estables hasta la fecha de Caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

1.3.- Equipo:

- Fotómetro automático BPC BioSed.

2. MÉTODO

2.1. Requisitos previos a la validación:

Para garantizar la confiabilidad de los resultados se aseguró el cumplimiento de los requisitos siguientes:

- **Calificación del personal en el uso de los métodos a validar^{20, 21}:**
Es el primer aspecto a tener en cuenta en una secuencia lógica de validación dado que es el personal el que efectúa las tareas (en especial en nuestros países poco automatizados), lo que sumado al costo en tiempo y en dinero que implica una validación, refuerza la importancia de contar con un personal adecuadamente entrenado y capacitado. Se debe contar además con un Registro de evaluación que demuestre que el personal conoce los principios que rigen las BMP en relación a su trabajo.
- **Calificación Instrumental^{6, 7, 8, 9, 10, 11}:**
La calificación es una premisa necesaria para poder validar. Es la comprobación formal, sistemática y documentada de que el equipo es el más adecuado para los fines previstos.
Para llevar a cabo la misma se procede a la calibración del equipo y a la comprobación de métodos y sistemas.
La validación del Fotómetro BioSed es en esencia la verificación del rendimiento del instrumento elegido para una

técnica analítica en particular, así como el software y el hardware que lo controla, y comprende:

Calificación de la Instalación (IQ):

Es la verificación documentada de que todos los aspectos claves de la instalación están de acuerdo con las recomendaciones del fabricante y corresponden a las especificaciones aprobadas en el diseño. Las cuales pueden ser:

- Nombre del equipo.
- Nombre del fabricante, modelo o tipo.
- Número de serie.
- Fecha en la que fue recibido
- Condiciones en las que fue recibido (nuevo o usado)
- Aspectos verificados para su aceptación de recepción.

(Anexo II).

Calificación Operacional (OQ):

Es la verificación de que los equipos funcionan en la forma esperada y son capaces de operar satisfactoriamente, sobre todo en el rango de los parámetros operacionales para los que han sido diseñados. Es realizado por un técnico calificado (los parámetros sobre los problemas y posibles soluciones (Anexo II).

Calificación de performance (PQ):

Se realiza para demostrar la efectividad y reproducibilidad del proceso, bajo condiciones normales de operación, y bajo

condiciones límites de operación. Es verificado por el usuario, trabajando con estándares certificados (Anexo II).

- **Observación de las medidas de seguridad¹³.**

Uso de guantes descartables.

Uso de mandil.

Uso de anteojos de protección.

2.2. Selección de los parámetros apropiados de acuerdo con la clasificación del método analítico y el tipo de validación a realizar:

Para validar la técnica analítica utilizada para la determinación de creatinina, se escogieron los parámetros adecuados según los criterios de validación que aparecen reportados en la USP.

Según la USP XXII los métodos analíticos se clasifican en varias categorías para su validación. Los métodos que son objeto de estudio en el presente trabajo pertenecen a la categoría I y se clasifican como: "métodos cuantitativos para la determinación de un analito". Los parámetros de validación que se deben considerar varían según los requisitos legales exigidos por distintas organizaciones. Según la literatura consultada, para este tipo de métodos deben evaluarse la linealidad, precisión, exactitud, sensibilidad y selectividad¹⁴.

2.3. Método para la Determinación de Creatinina:

Fundamento:

La creatinina reacciona con el picrato alcalino (reacción de Jaffe) produciendo un cromógeno rojo. La velocidad de esta reacción, bajo condiciones controladas, es una medida de la concentración de creatinina de la muestra puesto que se comporta como una reacción cinética de primer orden para la creatinina. Por otra parte, se ha demostrado que los cromógenos no-creatinina que interfieren en la técnica y que reaccionan luego de los 30 segundos de iniciada la reacción.

Procedimiento:

Para la determinación de creatinina se procede como sigue:

- i. Medir exactamente en un tubo de ensayo 250 μ l de reactivo A más 250 μ l de reactivo B.
- ii. Agregar 100 μ l de muestra, agitar y mezclar bien.
- iii. Leer inmediatamente en el fotómetro.
- iv. Registrar los resultados

2.4. Métodos de los Parámetros a Estudiar^{12, 15, 16, 17,19}:

Dependiendo del uso del ensayo, durante la validación habrá que medir diferentes parámetros, en este caso se estudiarán los siguientes parámetros:

- **Linealidad:**

➤ **Objetivo:**

Medir el grado de proximidad de las observaciones a una línea recta.

➤ **Definición:**

Se entiende como la capacidad de una prueba de generar resultados directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra. El valor de este parámetro determinará el intervalo de la valoración analítica. Puede expresarse como la pendiente de la línea de regresión y su varianza o como el coeficiente de determinación (r^2) y el coeficiente de correlación (r).

➤ **Procedimiento:**

Preparar soluciones de seis a ocho diluciones de la muestra dentro del intervalo considerado y que fueron verificados previamente al llevar a cabo la determinación de la linealidad del sistema.

Determinar el coeficiente de correlación (r) de las diluciones a lo largo del presunto intervalo de la valoración.

Analice cada dilución por triplicado en tres tandas.

Anote los valores previstos, los valores efectivos y los porcentajes de recuperación de cada tanda.

Analice cada conjunto de diluciones como una curva lineal y calcule el r de cada valoración.

➤ **Limites de Aceptación:**

Se confirma linealidad si se cumplen los siguientes criterios:
Homocedasticidad (la varianza es constante para todas las concentraciones).

El Análisis de varianza de la regresión lineal debe demostrar:

- Paso del intercepto por cero, mediante un test de t de student o mediante un intervalo de confianza de 0,05.
- El coeficiente de la correlación lineal debe encontrarse entre 0,98 y 1,00; y el coeficiente de correlación al cuadrado, debe ser mayor de 0,99.

➤ **Formulas:**

$$y = bx + a$$

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n}$$

$$b = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

Donde:

x : Concentración o cantidad de analito (variable independiente).

y : Área (variable dependiente).

b : Ordenada de origen (termino independiente o intercepto). Prueba que la recta pasa por el origen y que cualquier desviación se debe a un error aleatorio.

$$r = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\left(\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n} \right) \left(\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n} \right)}$$

El valor de:

$r = 1$ indica una recta perfectamente lineal.

$r = -1$ indica una recta perfectamente lineal negativa.

$r = 0$ indica que no hay correlación entre x e y .

- Precisión:

➤ Definición:

Es el grado de concordancia entre los valores obtenidos en una valoración. Se expresa como el coeficiente de variación (C.V.). El coeficiente de variación es el cociente entre la desviación estándar de los valores del ensayo y la concentración del analito.

i. Repetitividad

➤ Objetivo:

Determinar el grado de coincidencia existente entre los resultados (C.V.) de una muestra homogénea en diversos puntos de la curva de una sola prueba.

➤ Procedimiento:

Se realiza un mínimo de 6 determinaciones al 100% de la concentración nominal (1,00 mg/dL), en condiciones homogéneas.

Calcular el coeficiente de variación de los resultados

ii. Precisión Intermedia:

➤ **Objetivo:**

Determinar el grado de coincidencia (C.V.) existente entre los ensayos de una muestra homogénea en varios puntos de la curva entre distintas valoraciones.

➤ **Procedimiento:**

Se realiza el experimento anterior dos días, por dos analistas, en el mismo equipo y se calcula el coeficiente de variación Calcule el C.V. para cada punto sobre la curva entre tandas de ensayos.

➤ **Limites de aceptación:**

Los valores aceptación del C.V. de repetitividad se observaran en función de los limites de aceptación y del n° de replicas del análisis.

Existen diferentes criterios de aceptación, sin embargo se puede generalizar que en el caso de la repetitividad y la precisión intermedia la desviación estándar relativa, para evaluar la precisión del sistema debe ser menor o igual a 5,5%. El CV de reproducibilidad debe ser inferior al doble del de repetitividad. Los valores que se acepta es de 3,9 % para la repetitividad y 5,5 % para precisión intermedia^{6,7}.

$$t_{regresión} = \frac{|r|\sqrt{(n-2)}}{\sqrt{(1-r^2)}}$$

Donde:

r : Regresión

n : Número de pruebas.

- Exactitud:

➤ **Objetivo:**

Determinar la capacidad del ensayo para medir el valor previsto.

➤ **Definición:**

Es el grado de concordancia entre el valor real y el valor medido. La exactitud se expresa como el desvío o el error porcentual entre el valor observado y el valor verdadero (valor experimental / valor real x 100%).

➤ **Procedimiento:**

Use como mínimo tres concentraciones detectables conocidas.

Someta a prueba las tres concentraciones por triplicado en una corrida. Compare el valor esperado vs. promedio de valores obtenidos. Calcule el porcentaje de recuperación.

➤ **Criterios de aceptación:**

Test de t de student.

$$t_{\text{exp}} = \frac{[100 - r]\sqrt{n}}{C.V.} \quad \text{Para } p = 0,05$$
$$t_{\text{exp}} < t_{\text{tabla}}$$

Porcentaje de recuperación 98% - 102%.

- **Sensibilidad:**

➤ **Objetivos:**

- Determinar la menor concentración a la que el analito puede detectarse.
- Determinar la menor concentración en la que el analito puede ser detectado con exactitud y precisión.

➤ **Definición:**

Definida como la pendiente de la curva de calibrado a una concentración determinada de analito; esta acepción no se emplea en los procedimientos de validación; en su lugar se utilizan parámetros inversamente relacionados con ella, como el límite de detección (*LOD*) y de cuantificación (*LOQ*).

- Límite de detección, se define como la mínima cantidad/concentración detectable de analito, aunque no sea posible determinarla exactamente a ese nivel de concentración.
- Límite de cuantificación o determinación, es la cantidad mínima de analito que puede determinarse con un nivel aceptable de precisión y exactitud.

➤ **Procedimiento:**

Prepare 10 muestras blanco del reactivo.

Lea las concentraciones y calcular la desviación estándar.

Calcule el LOD mediante la siguiente operación: $(3 \times \text{desviación estándar del blanco}) / \text{pendiente de regresión}$.

➤ **Fórmula:**

$$LOD = \frac{3S_b}{b}$$

Donde:

LOD : Límite de Detección.

S_b : Desviación Estándar del Blanco.

b : Pendiente de la curva de calibración.

Calcule el *LOQ* mediante la siguiente operación: (10 x desviación estándar del blanco) / pendiente de regresión.

$$LOQ = \frac{10S_b}{b}$$

Donde:

LOQ : Límite de Cuantificación

S_b : Desviación Estándar del Blanco.

b : Pendiente de la curva de calibración

➤ **Criterios de Aceptación:**

No hay un límite de detección mínimo ni de cuantificación.

- **Selectividad (llamada también especificidad):**

➤ **Objetivo:**

Determinar si el método es selectivo, de acuerdo al error porcentual relativo.

➤ **Definición:**

Se define como la capacidad de un método analítico para medir exacta y específicamente el analito sin interferencias de impurezas, productos de degradación o excipientes que

pueden estar presentes en la muestra. La evaluación de este parámetro es especialmente importante en el caso de los métodos analíticos diseñados para la cuantificación de un analito. Aunque la especificidad y la selectividad se consideran términos equivalentes, algunos autores los diferencian, considerando la selectividad como la capacidad de detectar simultánea o separadamente sustancias químicas diferentes presentes en una misma muestra y a la especificidad como la capacidad de detectar el analito sin interferencias de otro compuesto. La selectividad (especificidad), de manera análoga a la exactitud, se expresa como el desvío o el error porcentual relativo entre el valor medido y el valor conocido.

➤ **Procedimiento:**

Prepare 3 soluciones de 80%, 100% y 120% de concentración, tomando como 100% la concentración de 1,6 mg/dL, ya que según el método es lineal solo hasta ese punto. Lea las muestras por triplicado.

Calcule el error Porcentual relativo.

➤ **Criterio de aceptación:**

El error Porcentual relativo debe ser menor de 2 %.

III. RESULTADOS:

	Parámetros Estudiados	Resultado	Especificaciones
LINEALIDAD DEL SISTEMA	- Coeficiente de correlación (r)	0,99783663	Mínimo 0,995
	- Coeficiente de determinación (r^2)	0,992677941	Mínimo 0,99
	- Test estadístico para el " r " $p = 0,05$; y $n - 2$ grados de libertad	$t_{regresión} =$ 42,9298	$t_{tabla} = 2,306$ $t_{regresión} > t_{tabla}$
	- Coeficiente de Variación	3,54 %	Máximo 5,0 %
	- Prueba de Linealidad de la pendiente $p = 0,05$; y $n - 2$ grados de libertad	$t_{exp} = 42,9298$	$t_{tabla} = 2,306$ $t_{exp} > t_{tabla}$
	- Prueba de proporcionalidad del Intercepto $p = 0,05$; y $n - 2$ grados de libertad	$t_{exp} = -$ 0,0161193	$t_{tabla} = 2,306$ $t_{exp} < t_{tabla}$
LINEALIDAD DEL MÉTODO	- Coeficiente de correlación (r)	$r = 0,99565248$	Mínimo 0,995
	- Coeficiente de determinación (r^2)	$r^2 = 0,9913286$	Mínimo 0,99
	- Test estadístico para el " r " $p = 0,05$; y $n - 2$ grados de libertad	$t_{regresión} =$ 28,2809	$t_{tabla} = 2,365$ $t_{regresión} > t_{tabla}$
	- Coeficiente de Variación	1,6117 %	Máximo 5,0 %
	- Prueba de Linealidad de la pendiente $p = 0,05$; y $n - 2$ grados de libertad	$t_{exp} = 28,2809$	$t_{tabla} = 2,365$ $t_{exp} > t_{tabla}$
	- Prueba de proporcionalidad del Intercepto $p = 0,05$; y $n - 2$ grados de libertad	$t_{exp} = 0,6730$	$t_{tabla} = 2,365$ $t_{exp} < t_{tabla}$
PRECISIÓN SISTEMA	- Coeficiente de Variación	1,9140 %	Máximo 3,9 %
PRECISIÓN MÉTODO	- Repetibilidad: Coeficiente de Variación	2,1459 %	Máximo 3,9 %
	- Precisión Intermedia: Coef. de Variación	2,4152 %	Máximo 5,5 %
EXACTITUD	- Porcentaje de recuperación	100,341 %	98% - 102%
	- Test de recuperación media y el 100% $p = 0,05$; y $n - 1 =$ Grados de libertad	$t_{exp} = 0,636$	$t_{tabla} = 2,306$ $t_{exp} < t_{tabla}$

Parámetros Estudiados		Resultado	Especificaciones
SEN	- Límite de detección (<i>LOD</i>)	0,0214 mg/dL	No hay un límite de detección mínimo
	- Límite de cuantificación (<i>LOQ</i>)	0,0715 mg/dL	No hay un límite de cuantificación mínimo
SEL	- Error relativo porcentual	1,244 %	≤ 2%

BIBLIOTECA DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

IV. DISCUSIÓN:

Linealidad del Sistema

Se analizaron las siguientes concentraciones: 0,4; 0,8; 1,2; 1,6 y 2,0 mg/dL, las cuales al ser evaluadas estadísticamente, se observó que para el rango, se obtiene un coeficiente de correlación $r = 0,9978$; siendo el valor mínimo de 0,995 y un coeficiente de determinación $r^2 = 0,9927$; siendo el valor mínimo de 0,99 lo que demuestra que existe regresión (relación lineal) entre las variables concentración y sus respuestas.

Para confirmar que dicha regresión es Lineal, se aplicó un test de regresión (test de Student), donde debe cumplirse: el valor de tregresión (42,9298) debe ser mayor al t_{tabla} (2,306), con una probabilidad de cometer error de $p = 0,05$ y $n - 2$ grados de libertad. Este resultado corrobora la linealidad del sistema instrumental.

Así mismo se determinó el coeficiente de variación de los factores de respuesta "f" el cual debe ser máximo 5%, obteniéndose 3,5445 %, lo que demuestra que cumple la condición de proporcionalidad y el error sistema es despreciable (ANEXO I-A).

Linealidad del Método:

Se analizaron las siguientes concentraciones: 80%, 100%, y 120%, las cuales al ser evaluadas estadísticamente, se obtiene un coeficiente de correlación $r = 0,99565$; siendo el valor mínimo de 0,995. El coeficiente de determinación $r^2 = 0,99132$, siendo el valor mínimo de 0,99 lo que demuestra que existe regresión (relación lineal) entre las variables: concentraciones y sus respuestas.

Para confirmar que dicha regresión es Lineal, se aplicó un test de regresión (test de Student), donde debe cumplirse: el valor de $t_{regresión}$ (28,2809) es mayor al t_{tabla} (2,365) con una probabilidad de cometer error de $p = 0,05$ y $n - 2$ grados de libertad. Este resultado corrobora la linealidad del método.

Así mismo se determino el coeficiente de variación de los factores de respuesta "r" el cual debe ser máximo 5 %, obteniéndose 1,6117 %, lo que demuestra que cumple la condición de proporcionalidad y el error sistemático del método es despreciable (ANEXO I-B).

Precisión

El estudio de precisión del sistema mostró una buena repetibilidad de los resultados, obteniéndose una desviación estándar relativa (RSD) de 1,9140 %, siendo el valor máximo de 3,9 %.

El estudio de precisión del método mostró una buena repetibilidad (2,1459 %) y precisión intermedia (2.4152 %), siendo los valores máximos de 3,9 % y 5,5%. respectivamente (ANEXO I-C).

Exactitud

Como se observa en la tabla, se obtuvieron valores de desviación estándar relativa (RSD) de 1,6089 % siendo el valor máximo 3,9% y porcentaje de recuperación fue de 100,341 %; que está dentro de los límites establecidos (98% a 102%).

Para demostrar que no hay diferencia significativa entre la recuperación media y el 100 %, se aplicó un test estadístico (test de Student), donde debe

cumplirse: el valor de $t_{experimental}$ (0,636) debe ser menor al t_{tabla} (2,306), con una probabilidad de cometer error de $p = 0,05$ y $n - 1$ grados de libertad. Este resultado corrobora que el método es exacto (ANEXO I-D).

Sensibilidad:

La sensibilidad, definida como la pendiente de la curva de calibrado a una concentración determinada de analito, no se emplea como tal en los procedimientos de validación. En su lugar se utilizan parámetros inversamente relacionados con ella, como el límite de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ) (16).

Para el método de determinación de creatinina, se obtuvo un LOD de 0,0214 mg/dL. y un LOQ de 0,0715 mg/dL (ANEXO I-E).

Selectividad:

Se obtuvo un error porcentual relativo de 1,24 %, el cual es aceptable hasta 2 % (ANEXO I-F).

Todos los resultados obtenidos en la validación del método analítico para la determinación de creatinina permiten asegurar que el método analítico es confiable. De esta manera se comprobó experimentalmente la utilidad del procedimiento establecido.

V. CONCLUSIONES:

1. El método es lineal en el intervalo de las concentraciones de concentraciones del 80 % hasta el 120 % de la muestra.
2. El método es preciso; porque se obtienen resultados repetitivos (C.V.: 2,1459%) y además con una buena precisión intermedia (C.V.: 2,4152%)
3. El método es exacto; debido a que no hay diferencia significativa entre la recuperación media (100,34%) y el 100 %.
4. El método es sensible siendo el LOD = 0,0214 mg/dL y el LOQ = 0,0715 mg/dL.
5. El método es selectivo; evaluado desde el punto de vista de error porcentual relativo.
6. Queda demostrado la aplicabilidad y la adaptabilidad del método analítico para la determinación de creatinina; llevado a cabo en el laboratorio Quintanilla S.R.L.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. OMS: “Curso de Gestión de Calidad para Laboratorios”, Modulo 1, EEUU, 2005, pp: 4-6.
www.paho.org/Spanish/ad/th/s/ev/labs-CGC.htm
2. TORRES, M Y COL: reporte “La validación, un camino inevitable”, 2005, pp:14,15.
www.uh.cu/infogral/areasuh/vri/archivos/Calidad/calidad03/Industria/valida
3. CASTELLUCCI, F.: “Recomendaciones Armonizadas para la Validación de Métodos de Análisis (informe técnico)”, Paris, 2005, pp: 5,6.
http://.news.reseau-concept.net/images/oiv_es/Client/Resolution_
4. MAROTO, A.: “Incertidumbre en Métodos Analíticos de Rutina”, Tesis Doctoral, Tarragona, 2002, pp: 7,8.
www.tdx.cesca.es/TESIS_URV/AVAILABLE/TDX-0602103-1331
5. OMS: “Curso de Gestión de Calidad para Laboratorios”, Modulo 7, EEUU, 2005, pp: 12-15.
www.paho.org/Spanish/AD/THS/EV/labs-CGC-Guia.pdf
6. VILLAMIL, J.: “Manual de Mantenimiento para equipo de Laboratorio”, OMS, Washington D.C., 2005, pp: 110 – 120.
www.paho.org/spanish/ad/th/s/ev/LAB_manual-mantenimiento.pdf
7. CAMELO, D.: “Verificación Jurídica Para El Proceso De Contratación Directa”, Colombia, 2006
[www.policia.gov.co/.\\$FILE/INFORME%20DE%20RESULTADOS%20Con](http://www.policia.gov.co/.$FILE/INFORME%20DE%20RESULTADOS%20Con)
8. Programa de capacitación para el monitoreo de material particulado, Perú, 2006.
http://www.swisscontact.org.pe/PRAL/Charla5_Equipos&servicios.pdf

9. OMS: "Curso de Gestión de Calidad para Servicios de Sangre: Equipos y Materiales", Washington D.C., 2005.
http://www.paho.org/Spanish/AD/THS/EV/blood_CGC.pdf
10. RODRIGUEZ, R.: "Validación de Procesos", OMS, Guatemala, 2004.
www.paho.org/Spanish/AD/THS/EV/bpm-validacion-procesos-fda
11. ANGELINI, N.: "Aseguramiento de la Calidad y Validación de Metodología para Análisis Químicos", FAO, 2004.
www.rlc.fao.org/prior/comagric/codex/rla3013/pdf/faovali.pps
12. SOTO, C.: "Validación de una técnica colorimétrica para la determinación de carbohidratos", Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria, Cuba, 2002.
<http://www.finlay.sld.cu/publicaciones/vaccimonitor/VM2002-3/vm2002-c3.pdf>
13. DÍAZ, M.: Revista Cubana de Farmacia, "Validación de técnicas analíticas utilizadas en el control de la calidad", Editorial Ciencias Médicas, Cuba, 1999.
<http://cielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75151998000200005&script=sc>
14. CASTILLO, B.: Revista Cubana de Farmacia, "Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos", Editorial Ciencias Médicas, Cuba, 1996.
<http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75151996000100009&script=>
15. CHALONER, G. Y COL: "Guía de la OMS sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación", Ginebra 1998, pp: 74-78.
www.who.int/vaccines-documents/DocsPDF/www9811.
16. REPORTE: Capitulo 2, "Métodos experimentales".
http://fondosdigitales.us.es/public_thesis/408/9401.pdf

17. ROMERO, M.: “Desarrollo de Nuevas Metodologías analíticas en el control de Calidad de la Industria Farmacéutica”, Universidad Autónoma de Barcelona, España, 2001, pp: 13 -18.
www.tdx.cbuc.es/TESIS_UAB/AVAILABLE/TDX-0712102-102928
18. CAÑADA, F.: Tesis Doctoral. “Nuevos métodos de determinación simultánea de principios activos coadministrados, en fármacos y fluidos biológicos”, Universidad de Extremadura, España, 2002, pp: 13, 61-77
<http://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=313>
19. DE LA RUBIA, J.: “Determinación de aluminio en líquidos concentrados de hemodiálisis por espectrofotometría de absorción atómica”, Universidad Complutense de Madrid, España 2001, pp. 129-145
www.ucm.es/eprints/4374/
20. BRITO, D.: “Simposio de Validación”, Asociación de Química y Farmacia, Uruguay, 1998.
http://www.aqfu.org.uy/revistas_1998/agosto/simposio.htm
21. REPORTE DE LA: “Red Panamericana para la Armonización de la Regulación Farmacéutica”, Guía de Verificación de BPM adoptada por la Red PARF en la IV Conferencia, 2004
<http://www.paho.org/spanish/ad/ths/ev/bpm-arbol-guia.pdf>



ANEXOS



ANEXO I

CÁLCULOS DE LOS PARÁMETROS VALIDADOS

Se realizaron los cálculos de los cinco parámetros evaluados: Linealidad, precisión, exactitud, sensibilidad y selectividad del método.

ANEXO I-A

CÁLCULOS DE LINEALIDAD DEL SISTEMA

a. Cálculo de la recta de regresión:

Determinar la curva de regresión, sobre los puntos individuales y sin promediar.

Para el caso de una recta la función toma la forma de la ecuación:

$$y = bx + a$$

Tabla N° 1: Linealidad del sistema

Muestra	Concentración en mg/dL del estándar "x"	Resultado en concentración mg/dL "y"	xy	x ²	y ²	F(y/x)
1	0,40	0,43	0,172	0,16	0,1849	1,075
	0,40	0,41	0,164	0,16	0,1681	1,025
2	0,80	0,78	0,624	0,64	0,6084	0,975
	0,80	0,78	0,624	0,64	0,6084	0,975
3	1,20	1,23	1,476	1,44	1,5129	1,025
	1,20	1,17	1,404	1,44	1,3689	0,975
4	1,60	1,65	2,640	2,56	2,7225	1,031
	1,60	1,56	2,496	2,56	2,4336	0,975
5	2,00	2,07	4,140	4,00	4,2849	1,035
	2,00	1,96	3,920	4,00	3,8416	0,980
Σ	12,00	12,04	17,660	17,6,	17,7342	10,071
PROMEDIO						1,007
DESVIACIÓN ESTANDAR						0,035697
RSD %						3,54451134

Donde:

x : Concentración o cantidad de analito (variable independiente).

y : Área (variable dependiente).

b : Ordenada de origen (termino independiente o intercepto). Prueba que la recta pasa por el origen y que cualquier desviación se debe a un error aleatorio.

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n}$$

$$b = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

De los datos obtenidos de la tabla N° 1 se obtienen los siguientes valores:

$$a = -0,0005$$

$$b = 1,00375$$

Ecuación de la recta:

$$y = 1,00375x + (-0,0005)$$

b. Cálculo del coeficiente de correlación (r) :

Se determina para evaluar el ajuste al modelo lineal propuesto: $y = bx + a$, y refleja el grado de relación o ligazón entre las concentraciones (x) y su respuesta (y).

$$r = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sqrt{\left(\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}\right) \left(\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n}\right)}}$$

El valor de:

$r = 1$ indica una recta perfectamente lineal.

$r = -1$ indica una recta perfectamente lineal negativa.

$r = 0$ indica que no hay correlación entre x e y.

Criterio de aceptación mínima: 0,995

Según datos de la tabla 1:

$$r = 0,99783663$$

c. Cálculo del coeficiente de determinación “r²”:

Determina el grado de ajuste de la ecuación.

Criterio de aceptación mínima: 0,99

$$r^2 = 0,995677941$$

Interpretación:

El 99.56% de las variaciones se debe a la influencia de la variable “x” (concentración del estándar). Sin embargo el mejor indicativo del modelo lineal no es “r”, sino un test estadístico.

d. Prueba t de student para el coeficiente de correlación “r”:

Calcula el valor de tregresión (test de regresión) con $n-2$ grados de libertad y un intervalo de confianza de 95 % ($\alpha=0,05$) y se compara con el valor de t_{tabla} (test tabulado) para el nivel de confianza requerido.

α = Probabilidad de cometer error (p)
 $1 - \alpha$ = Grado de confianza.

Fórmula: para hallar tr

$$t_{\text{regresión}} = \frac{|r| \sqrt{(n-2)}}{\sqrt{(1-r^2)}}$$

Donde:

$$n = 10$$

$$r = 0,99783663$$

Resultado:

$$t_{\text{regresión}} = 42,9298$$

$$t_{\text{tabla}} = 2,306 ; \text{ para } 10-2 = 8 \text{ grados de libertad y } p=0,05$$

Interpretación:

Como el valor de $t_{\text{regresión}}$ es mayor de t_{tabla} , indica que existe una correlación lineal significativa entre x e y, por tanto $r \sim 1$.

e. Intervalo de confianza (rango):

➤ **Intervalo de confianza de la pendiente, “b”**

$$Icb = b \pm t_{\text{tabla}} S_b$$

$$S_b = \sqrt{\frac{S_{xy}^2}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$S_{xy}^2 = \frac{\sum y^2 - a \sum y - b \sum xy}{n - 2}$$

Resultado:

Se obtiene los siguientes resultados según datos de la tabla 1:

$$S_{xy}^2 = 0,001749375$$

$$S_{xy} = 0,04182553$$

$$S_b^2 = 0,00054668$$

$$S_b = 0,023381182$$

(Desviación estándar de la pendiente "b")

$$S_{b,relativa}(\%) = \frac{S_b \cdot 100}{b}$$

$$S_{b,relativa}(\%) = 2,32938304\%$$

Entonces intervalo de confianza de la pendiente "b"

$$t_{tabla} = 2,306 ; \text{ para } 10-2 = 8 \text{ grados de libertad y } p=0,05$$

$$b = 1,00375$$

$$I_{cb} = 1,00375 \pm 2,306(0,023381182)$$

Interpretación:

El intervalo de confianza de la pendiente está entre los valores de: 0.949832994 hasta 1,057667006.

➤ **Prueba de linealidad de la pendiente (prueba t de Student):**

$$t_{exp} = \frac{|b|}{S_b}$$

Donde:

b : Pendiente (1,00375)

S_b : Desviación estándar de b (0,02338)

Resultados:

$$T_{exp} = 42,9298$$

$$t_{tabla} = 2,306 ; \text{ para } 10-2 = 8 \text{ grados de libertad y } p=0,05$$

Interpretación:

Como t_{exp} es mayor que t_{tabla} , existe una correlación lineal significativa; entonces la pendiente "b" es significativamente diferente de cero ($b \neq 0$).

➤ **Intervalo de confianza del intercepto "a":**

$$Ica = a \pm t_{tabla} \cdot S_a$$

$$S_a = \sqrt{S_b^2 \frac{\sum x^2}{n}}$$

Donde:

Ica : Intervalo de confianza del intercepto a .

a : Intercepto.

S_a : Desviación Estándar de a .

S_b^2 : Varianza de b .

n : Número de pruebas.

Resultados:

Se obtiene los siguientes resultados a partir de datos de la tabla 1:

$$S_a^2 = 0.000962156$$

$$S_a = 0.03101864 \text{ (Desviación estándar del intercepto } a)$$

$$S_a \text{ relativa} = \frac{S_a \cdot 100}{a}$$

$$S_a \text{ relativa}(\%) = -6203,7287\%$$

$$t_{tabla} = 2,306 ; \text{ para } 10-2 = 8 \text{ grados de libertad y } p=0,05$$

$$a = -0,0005$$

$$Ica = -0,0005 \pm 2,306(0,03101864)$$

Interpretación:

Entonces el intervalo de confianza del intercepto "a" está entre:
0,072028992 a 0,071028992.

➤ **Prueba de linealidad del intercepto (prueba t de Student):**

$$t_{\text{exp}} = \frac{|a|}{S_a}$$

Donde:

$$a = -0,0005$$

$$S_a = 0,03101864$$

Resultado:

$$t_{\text{exp}} = -0,016119338$$

$$t_{\text{tabla}} = 2,306 ; \text{ para } 10-2 = 8 \text{ grados de libertad y } p=0,05$$

Interpretación:

Como t_{exp} es menor que t_{tabla} , Si existe una correlación lineal significativa, y el valor de "a" es aceptable.

f. Cálculo del coeficiente de variación (C.V.) de los factores de respuesta:

$$f = \frac{y}{x}$$

Donde:

x : Concentración o cantidad de analito (variable independiente)

y : Área (variable dependiente)

$$C.V. = \frac{\text{Desviación Estándar "f"}}{\text{Promedio "f"}} \cdot 100$$

Promedio de "f"	:	1,007
Desviación estándar "f"	:	0,03569766

Resultado:

Coeficiente de variación : 3,5445%

Interpretación:

Como se permite un máximo de 5 % de Coeficiente de variación, el valor obtenido (3,54 %) es aceptable.

ANEXO I-B

CÁLCULOS DE LINEALIDAD DEL MÉTODO

a. Cálculo de la recta de regresión:

Determinar la curva de regresión, sobre los puntos individuales y sin promediar. Para el caso de una recta la función toma la forma de la ecuación:

$$y = bx + a$$

Tabla Nº 2: Linealidad del Método

Muestra	Concentración en mg/dL del estándar "x"	Concentración Nominal (%)	Resultado en concentración n mg/dL "y"	xy	x ²	y ²	F(y/x)
1	1,28	80%	1,29	1,6512	1,6384	1,6641	0,99224806
	1,28	80%	1,28	1,6384	1,6384	1,6384	1,0000
	1,28	80%	1,30	1,6640	1,6384	1,6900	0,98461539
2	1,60	100%	1,65	2,6400	2,5600	2,7225	0,96969697
	1,60	100%	1,56	2,4960	2,5600	2,4336	1,02564103
	1,60	100%	1,61	2,5760	2,5600	2,5921	0,99378882
3	1,92	120%	1,94	3,7248	3,6864	3,7636	0,98969072
	1,92	120%	1,91	3,6672	3,6864	3,6481	1,0052356
	1,92	120%	1,90	3,6480	3,6864	3,6100	1,01052632
Σ	14,40		14,44	23,705	23,6544	23,762	8,9714429
				PROMEDIO			0,99682698
				DESVIACIÓN ESTÁNDAR			0,01606618
				RSD %			1,61173224

Donde:

x : Concentración o cantidad de analito (variable independiente).

y : Área (variable dependiente).

b : Ordenada de origen (termino independiente o intercepto). Prueba que la recta pasa por el origen y que cualquier desviación se debe a un error aleatorio.

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n}$$

$$b = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

De los datos obtenidos de la tabla N° 2 se obtienen los siguientes valores:

$$a = 0,0377778$$

$$b = 0,9791667$$

Ecuación de la recta:

$$y = 0,97916667 x + 0,0377778$$

b. Cálculo del coeficiente de correlación (r) :

Se determina para evaluar el ajuste al modelo lineal $y = bx + a$ el cual refleja el grado de relación o ligazón entre las concentraciones (x) y su respuesta (y).

$$r = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sqrt{\left(\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}\right) \left(\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n}\right)}}$$

El valor de:

$r = 1$ indica una recta perfectamente lineal.

$r = -1$ indica una recta perfectamente lineal negativa.

$r = 0$ indica que no hay correlación entre “ x ”, “ y ”.

Criterio de aceptación mínima: 0,995

Según datos de la tabla 2:

$$r = 0,99565248$$

c. Cálculo del coeficiente de determinación “ r^2 ”:

Determina el grado de ajuste de la ecuación.

Criterio de aceptación mínima: 0,99

$$r^2 = 0,99132386$$

Interpretación:

El 99.13% de las variaciones se debe a la influencia de la variable “ x ” (concentración del estándar). Sin embargo el mejor indicativo del modelo lineal no es “ r ”, sino un test estadístico.

d. Prueba t de student para el coeficiente de correlación “r”:

Calcula el valor de tregresión (test de regresión) con $n-2$ grados de libertad y un intervalo de confianza de 95 % ($\alpha=0,05$) y se compara con el valor de t_{tabla} (test tabulado) para el nivel de confianza requerido.

α = Probabilidad de cometer error (p)

$1 - \alpha$ = Grado de confianza.

Fórmula: para hallar $t_{\text{regresión}}$

$$t_{\text{regresión}} = \frac{|r| \sqrt{(n-2)}}{\sqrt{(1-r^2)}}$$

Donde:

$$n = 9$$

$$r = 0,99565248$$

Resultado:

$$t_{\text{regresión}} = 28,2809$$

$$t_{\text{tabla}} = 2,365 ; \text{ para } 9-2 = 7 \text{ grados de libertad y } p=0,05$$

Interpretación:

Como el valor de $t_{\text{regresión}}$ es mayor de t_{tabla} , indica que existe una correlación lineal significativa entre x e y , por tanto ($r \neq 0$).

e. Intervalo de confianza (rango):➤ **Intervalo de confianza de la pendiente, “b”**

$$Icb = b \pm t_{\text{tabla}} S_b$$

$$S_b = \sqrt{\frac{S_{xy}^2}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$S_{xy}^2 = \frac{\sum y^2 - a \sum y - b \sum xy}{n-2}$$

Resultado:

Se obtiene los siguientes resultados según datos de la tabla N° 2:

$$S_{xy}^2 = 0,000736508$$

$$S_{xy} = 0,02713868$$

$$S_b^2 = 0,001198743$$

$$S_b = 0,034622874$$

(Desviación estándar de la pendiente "b")

$$S_{b,relativa}(\%) = \frac{S_b \cdot 100}{b}$$

$$S_{b,relativa}(\%) = 3.5359\%$$

Entonces intervalo de confianza de la pendiente "b"

$$t_{tabla} = 2,365 ; \text{ para } 9-2 = 7 \text{ grados de libertad y } p=0,05$$

$$b = 0,9791667$$

$$lcb = 0,9791667 \pm 2.365(0,034622874)$$

Interpretación:

El intervalo de confianza de la pendiente está entre los valores de: 0,89728357 hasta 1,06104976.

➤ **Prueba de linealidad de la pendiente (prueba t de Student):**

$$t_{exp} = \frac{|b|}{S_b}$$

Donde:

$$b : 0,9791667$$

$$S_b : 0,034622874$$

Resultados:

$$t_{exp} = 28.2809$$

$$t_{tabla} = 2,365 ; \text{ para } 9-2 = 7 \text{ grados de libertad y } p=0,05$$

Interpretación:

Como t_{exp} es mayor que t_{tabla} , existe una correlación lineal significativa; entonces la pendiente "b" es significativamente diferente de cero ($b \neq 0$).

➤ **Intervalo de confianza del intercepto "a":**

Fórmulas:

$$Ica = a \pm t_{\text{tabla}} \cdot S_a$$

$$S_a = \sqrt{S_b^2 \frac{\sum x^2}{n}}$$

Donde:

Ica : Intervalo de confianza del intercepto a .

a : Intercepto.

S_a : Desviación Estándar de a .

S_b^2 : Varianza de b .

n : Número de pruebas.

Resultados:

Se obtiene los siguientes resultados a partir de datos de la tabla 2:

$$S_a^2 = 0,00315062$$

$$S_a = 0,05613036 \quad (\text{Desviación estándar del intercepto } a)$$

$$S_{a \text{ relativa}} = \frac{S_a \cdot 100}{a}$$

$$S_{a \text{ relativa}}(\%) = 148.58\%$$

$$t_{\text{tabla}} = 2,365 ; \text{ para } 9-2 = 7 \text{ grados de libertad y } p=0,05$$

$$a = 0,03778$$

$$Ica = 0,9791667 \pm 2,365(0,05613036)$$

Interpretación:

Entonces el intervalo de confianza del intercepto "a" está entre:

-0,09497052 a 0,24265359.

➤ **Prueba de linealidad del intercepto (prueba t de Student):**

$$t_{\text{exp}} = \frac{|a|}{S_a}$$

Donde:

$$a = 0,03778$$

$$Sa = 0,0561$$

Resultado:

$$t_{exp} = 0,6730$$

$$t_{tabla} = 2,365 ; \text{ para } 9-2 = 7 \text{ grados de libertad y } p=0,05$$

Interpretación:

Como t_{exp} es menor que t_{tabla} , Si existe una correlación lineal significativa, y el valor de "a" es aceptable.

f. Cálculo del coeficiente de variación (C.V.) de los factores de respuesta:

$$f = \frac{y}{x}$$

Donde:

x : Concentración o cantidad de analito (variable independiente)

y : Área (variable dependiente)

$$C.V. = \frac{\text{Desviación Estándar "f"}}{\text{Promedio "f"}} \cdot 100$$

Promedio de "f" : 0,996826989

Desviación estándar "f" : 0,016066182

Resultado:

Coefficiente de variación : 1,6117%

Interpretación:

Como el coeficiente de variación o RSD, se encuentra por debajo de 5 %, se puede decir que el resultado es aceptable.

ANEXO I-C

CÁLCULOS DE PRECISIÓN

a. Precisión del Sistema:

La precisión se expresa matemáticamente, calculando la dispersión de los datos respecto a la media.

Tabla 4: Precisión del sistema

Ensayo N°	Concentración del estándar al 100%
1	104%
2	98%
3	100%
4	101%
5	102%
6	100%

Análisis Estadístico	
Número de análisis (<i>n</i>)	6
Media (<i>x</i>)	100,5 %
Desviación Estándar (<i>S</i>)	0,0192
Coef. de Variación (C.V.)	1,9140 %

➤ Cálculo del límite de confianza individual:

Fórmula:

$$L.C.I. = \bar{x} \pm t_{\text{tabla}} \cdot S$$

Donde:

L.C.I. : Límite de confianza individual.

*t*_{tabla} : 2,571; para 6-1 = 5 grados de libertad y *p* = 0,05

Resultado:

Intervalo de Confianza:

100,50 % ± 2,571 x 0,0192

L.C.I. = 100,45 % hasta 100,55 %

Interpretación:

El intervalo de confianza de los resultados individuales indica que el 95% de los valores están entre 100,45 % a 100,55% de la concentración verdadera del estándar.

➤ **Límite de confianza de la media (μ)****Fòrmula:**

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{t_{\text{tabla}} \cdot S}{n}$$

Donde:

μ : Intervalo de confianza de la media.

\bar{x} : Promedio de las muestras.

t_{tabla} : es el valor en la tabla de la distribución de "t" student con las siguientes condiciones:

- $n - 1$ grados de libertad
- Probabilidad de cometer error (p) de 0,05, es decir un grado de confianza del 95 %

Resultado:

$t_{\text{tabla}} = 2,571$; para $6-1 = 5$ grados de libertad y $p = 0,05$

Intervalo de confianza:

$$\mu = 100,50 \pm \frac{2,571(0,0192)}{6}$$

$$\mu = 99,68 \% \text{ a } 101,32 \%$$

Interpretación:

Existe un 95 % de probabilidad de que el valor de la media se ubique dentro de 99,68% a 101,32%.

b. Precisión del Método:

Datos de repetitividad y precisión intermedia

Tabla 5: Precisión del método

Ensayo N°	Concentración n mg/dL	Analista 1 10/02/07	Porcentaje de recuperación	Analista 2 11/02/07	Porcentaje de recuperación
1	1,00	1,04	104,00%	1,05	105,00%
2	1,00	0,98	98,00%	1,03	103,00%
3	1,00	1,00	100,00%	0,98	98,00%
4	1,00	1,02	102,00%	1,00	100,00%
5	1,00	1,01	101,00%	0,99	99,00%
6	1,00	0,99	99,00%	0,98	98,00%

Análisis Estadístico	Repetitividad	Precisión Intermedia
Número de análisis (<i>n</i>)	6	12
Media (<i>x</i>)	1,0067	1,0058
Desviación Estándar (<i>S</i>)	0,0216	0,0243
Coefficiente de Variación (<i>C.V.</i>)	2,1459 %	2,4152 %

$$C.V. = \frac{\text{Desviación Estándar}(S)}{\text{Media}(\bar{x})} \cdot 100$$

Resultado:Repetitividad *C.V.* = 2,1459 %Precisión intermedia *C.V.* = 2,4152 %**Interpretación:**

El máximo permitido de *C.V.* es de 3,9 % y 5,5 % para repetitividad y precisión intermedia respectivamente, por lo que el método está dentro de un rango aceptable.

Test F (Snedecor)

Este test fue realizado con el objetivo de comparar la semejanza del comportamiento entre los dos analistas a través de sus varianzas obtenidas por el tratamiento de los datos individuales:

Analista	Desv. Estándar (S)	Varianza (S ²)
1	0,0216	0,00047
2	0,0288	0,00083

Comparación de varianzas entre el analista 2 y analista 1:

Fórmula:

$$F_{\text{calculado}} = \frac{S^2_{\text{analista 2}}}{S^2_{\text{analista 1}}}$$

Donde:

$$F_{\text{calculado}} = 1,78$$

$$F(5,5)_{\text{tabla}} = 5,050 \quad \text{según tabla (para } n-1 \text{ grados de libertad = 5}$$

y 95 % de confianza)

Interpretación:

Como $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabla}}$, no hay diferencia significativa entre las varianzas obtenidas a través de los datos de los dos analistas, por esto se considera que las varianzas son estadísticamente homogéneas.

ANEXO I-D

CÁLCULOS DE EXACTITUD

Determinar los siguientes parámetros estadísticos:

- Cálculo del porcentaje de recuperación de cada concentración.
- Cálculo de la Desviación estándar (S)
- Cálculo de la Desviación estándar relativa (RSD) o coeficiente de variación (C.V).
- También se calcula el "t" de Student

a. Cálculo del porcentaje de recuperación:

Tabla 6: Exactitud del método

Muestra	Concentración en mg/dL	Concentración Nominal (%)	Cantidad Recuperada	Cantidad Recuperada (%)
1	1,28	80%	1,29	100.78%
	1,28	80%	1,28	100.00%
	1,28	80%	1,30	101.56%
2	1,60	100%	1,65	103.13%
	1,60	100%	1,56	97.50%
	1,60	100%	1,61	100.63%
3	1,92	120%	1,94	101.04%
	1,92	120%	1,91	99.48%
	1,92	120%	1,90	98.96%
			PROMEDIO	100,34%
			DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0,01614397
			RSD %	1,60890328

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{\text{Cantidad Recuperada}}{\text{Concentración}} \cdot 100$$

$$C.V. \text{ ó } RSD = \frac{\text{Desviación Estándar}}{\text{Media (\%) Recuperación}} \cdot 100$$

b. Cálculo del porcentaje de t de Student:

Para confirmar que el valor medio no difiere significativamente del aceptado como referencia.

Fórmula:

$$t_{\text{exp}} = \frac{[100 - r] \sqrt{n}}{C.V.}$$

Donde:

t_{exp} : “t” experimental.

r : % de recuperación (100,341%)

n : Número de ensayos (9)

C.V. : Coeficiente de variación (1,6089)

Resultado:

$$t_{\text{exp}} = 0,636$$

$t_{\text{tabla}} = 2,306$; para n-1 grados de libertad y una probabilidad de cometer error de $p=0.05$; es decir un intervalo de confianza de 95%.

Interpretación:

Como t_{exp} es menor que t_{tabla} , no existe diferencia significativa entre la recuperación media y el 100%. Por lo tanto, se puede decir que la exactitud es apropiada

ANEXO I-E**SENSIBILIDAD:****LÍMITE DE DETECCIÓN Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN**

Datos de límites de detección y de cuantificación:

➤ **Límite de Detección:**

Tabla 7: Cálculo del LOD y LOQ

Nº de ensayo	Muestra	Lectura
1	Blanco	0.03
2	Blanco	0.04
3	Blanco	0.03
4	Blanco	0.02
5	Blanco	0.04
6	Blanco	0.03
7	Blanco	0.03
8	Blanco	0.02
9	Blanco	0.03
10	Blanco	0.02
	Promedio	0.0290
	D.S.	0.0070
	Pendiente	0.97916667

Fórmula:

$$LOD = \frac{3S_b}{b}$$

Donde:

LOD : Límite de Detección.

S_b : Desviación Estándar del Blanco.

b : Pendiente de la curva de calibración.

Resultado:

$$LOD = 0,0214468$$

Interpretación:

El límite de detección es de 0,0214468 mg/dL en el cual se puede detectar a la creatinina, pero no necesariamente cuantificarse.

➤ **Límite de Cuantificación:**

Fórmula:

$$LOQ = \frac{10S_b}{b}$$

Donde:

LOQ : Límite de Cuantificación

S_b : Desviación Estándar del Blanco.

b : Pendiente de la curva de calibración

Resultado:

$$LOQ = 0,071489$$

Interpretación:

El límite de cuantificación es de 0,071489 mg/dL en el cual se puede detectar y cuantificar la creatinina con exactitud y precisión.

ANEXO I-F

SELECTIVIDAD

Se evaluará la selectividad en base al Error relativo, por lo que también se determinó los siguientes parámetros estadísticos:

- Cálculo del porcentaje de recuperación de cada concentración.
- Cálculo del Error absoluto (Ea)
- Cálculo del Error relativo (Er)

Tabla 8: Cálculo de la selectividad del método.

Muestra	Concentración % (X)	Cantidad Recuperada (X')	Error Absoluto	Error Relativo (%)
1	80.00	80.63	0.625	0.781
	80.00	80.00	0.000	0.000
	80.00	81.25	1.250	1.563
2	100.00	103.13	3.125	3.125
	100.00	97.50	2.500	2.500
	100.00	100.63	0.625	0.625
3	120.00	121.25	1.250	1.042
	120.00	119.38	0.625	0.521
	120.00	118.75	1.250	1.042
			Error Relativo	1.244 %

Fórmulas:

$$Ea = X - X'$$

$$Er = \frac{Ea}{X}$$

Donde:

Ea: Error absoluto.

Er: Error relativo.

X: Concentración original del estándar.

X': Concentración hallada encontrada del estándar.

Resultado:

$E_r = 1.24 \%$

Interpretación:

Como nuestro método tiene menos de 2% de error relativo porcentual, entonces podemos decir que es selectivo.

BIBLIOTECA DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

ANEXO II

CALIFICACIÓN DEL FOTÓMETRO

Los parámetros a evaluar en un fotómetro, se detallan en las siguientes tablas que se muestran a continuación.

1. CALIFICACIÓN DE INSTALACION (IQ)

Es la verificación documentada de que todos los aspectos claves de la instalación están de acuerdo con las recomendaciones del fabricante y corresponden a las especificaciones aprobadas en el diseño. Las cuales se muestran en la tabla siguiente:

Tabla 1: Criterios para evaluar la calificación de la instalación:

Parámetros	Descripción
Nombre del equipo.	Fotómetro BPC BioSed
Fabricación	Italia
Modelo o tipo	Prime
Número de serie.	22346
Rango de voltaje	85 264
Frecuencia	47 63 Hz
Fecha en la que fue recibido	01/12/00
Condiciones en las que fue recibido (nuevo o usado)	Nuevo
Aspectos verificados para su aceptación de recepción.	Precisión y exactitud con uso de estándares
Localización del equipo en el laboratorio.	Área de Bioquímica
Instructivo de mantenimiento.	Anexo II A
Instructivo de operación.	Anexo II B

2. CALIFICACION OPERACIONAL (OQ)

Es la verificación de que los equipos funcionan en la forma esperada y son capaces de operar satisfactoriamente, sobre todo en el rango de los parámetros operacionales para los que han sido diseñados. Es realizado por un técnico calificado.

Mediante la calificación operacional (llamada OQ) se verifica y documenta el funcionamiento del equipo, conforme a las especificaciones y rangos de operación. Esa rutina debe efectuarse por lo menos una vez al año, si no ha habido cambios en el proceso o reparaciones en los equipos, y cada vez que se realicen cambios en el proceso o reparaciones o reemplazos en los equipos. La calificación operacional comprende las verificaciones siguientes:

- Capacitación del personal para operar el equipo.
- Documentación completa para operar (manuales de operación, POEs, calibraciones de instrumental).
- Operatividad del equipo (energía eléctrica, agua, aperturas, cierres).
- Ausencia de vibraciones.
- Buen funcionamiento de los controles de operación (alarmas, termostatos, instrumentos).
- Ambiente adecuado.
- Secuencia de operaciones, incluidas las automáticas.

Tabla: Parámetros a evaluar en un Fotómetro.

Parámetro	Evaluación
Longitud de onda	Exactitud
Absorbancia	Precisión
Relación señal/ruido	Adecuada

Tabla de Solución de Problemas

Espectrofotómetro Automatizado

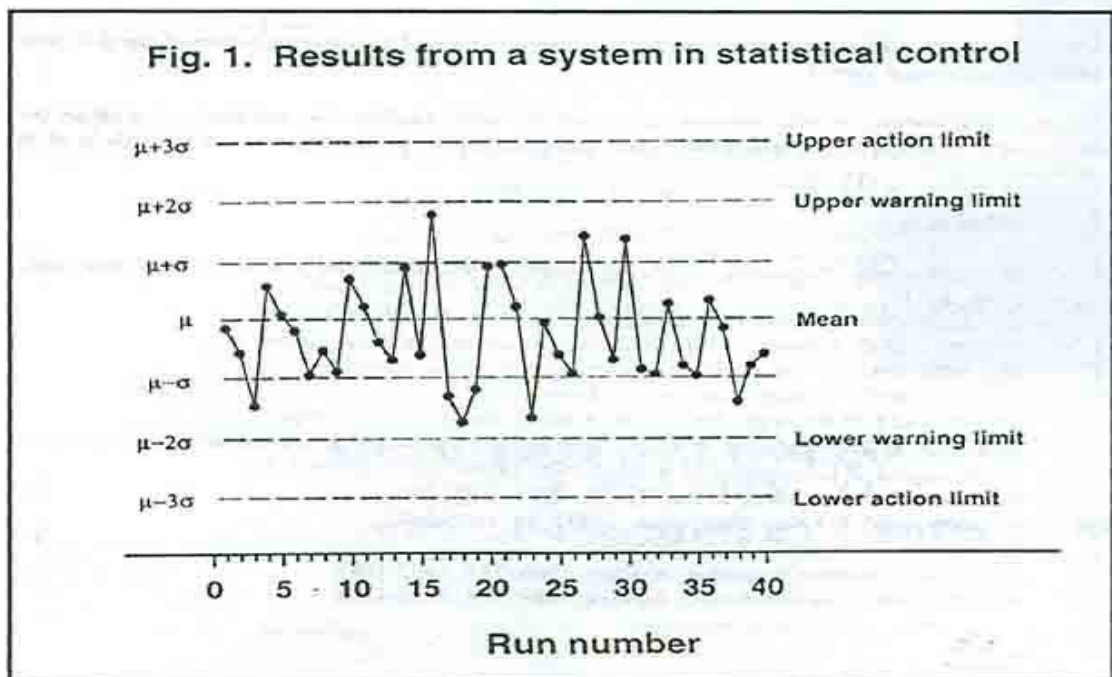
PROBLEMA	CAUSA PROBABLE	REMEDIO
El espectrofotómetro no se energiza	Interruptor de encendido/apagado está en posición apagado.	Mover el interruptor a la posición encendido.
	No hay energía eléctrica en la toma de alimentación.	Verificar alimentación eléctrica general. Comprobar que no se haya disparado alguna seguridad.
	Mal conectado el cable de alimentación eléctrica.	Conectar firmemente el cable de alimentación.
Los botones del teclado no responden.	Inicialización incompleta del equipo durante el arranque.	Apagar el equipo y encenderlo nuevamente.
	Activación de un comando equivocado durante el arranque.	
Pantalla LCD difícil de leer.	Control de contraste desajustado.	Ajustar contraste.
	Sistema de iluminación de fondo quemado.	Llamar al representante.
Impresora atascada.	Papel término arrugado entre la cabeza de impresión y la placa térmica al momento de rasgar/cortar el papel.	Apagar el equipo, retirar el papel y reinstalar nuevamente.
		Remover el exceso de papel con unas pinzas de punta fina.
El papel de la impresora no se autoalimenta o avanza.	Papel de la impresora instalado erróneamente.	Apagar el equipo, reinstala rollo de papel.
	Borde delantero del papel no alineado o doblado.	Apagar equipo. Reinstalar rollo de papel. Cortar borde delantero y alinear nuevamente en el sistema de alimentación.
	Control de alimentación de papel no responde.	Llamar al representante.
La lectura presenta fluctuaciones.	Hay interferencias en el recorrido de la luz.	Verificar que la cubeta no presente rayones.
		Verificar que no hay partículas flotando en la cubeta.
		Frotar las paredes de la cubeta con una pieza de tela limpia.
		Verificar que el rango seleccionado de trabajo es adecuado para la muestra bajo análisis.
La lectura presenta valores negativos. No hay lectura de absorbancia.	No hay muestra.	Añadir una muestra a la solución.
	Colocación incorrecta de la cubeta.	Verificar la orientación de la ventana de la cubeta.
	Selección errónea de la longitud de onda.	Ajustar la longitud de onda al rango compatible con el análisis.
	Equipo calibrado erróneamente con una muestra en lugar de una solución estándar.	Calibrar con una solución estándar o con agua destilada.

3. CALIFICACION DE PERFORMACE O DESEMPEÑO (PQ)

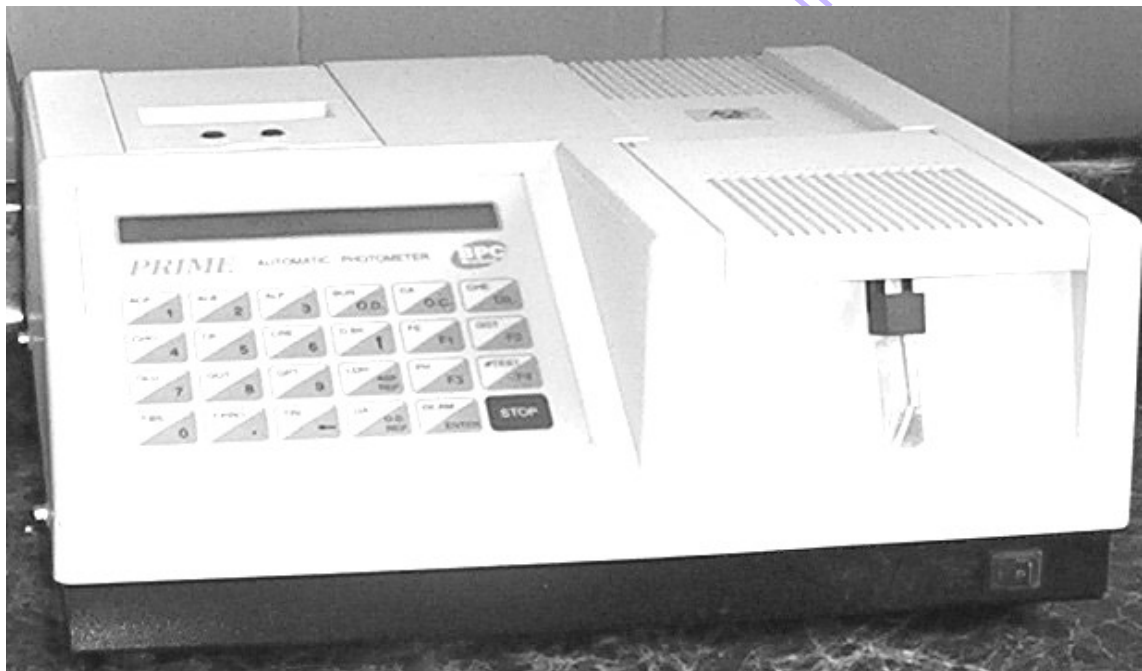
Se realiza para demostrar la efectividad y reproducibilidad del proceso, bajo condiciones normales de operación, y bajo condiciones limites de operación. Es verificado por el usuario, trabajando con estándares certificado: por ejemplo el estándar de creatinina.

El proceso en donde se demuestra que un instrumento se desempeña de acuerdo a la especificación adecuada para su uso rutinario.

Conocer la variación normal del proceso es importante para determinar si está operando en un estado de control y si es capaz de producir el resultado específico de manera consistente. Se puede hacer a través de cartas de control. Por ejemplo el siguiente gráfico:



PRIME/G PHOTOMETER



MANUAL DE MANTENIMIENTO

MANUAL DE MANTENIMIENTO

Los espectrofotómetros, en general, son equipos muy especializados y costosos. Su conservación depende en gran medida de la forma de instalación y utilización. El medio ambiente que los rodea y la calidad de los servicios de electricidad constituyen factores de primordial importancia, para que los equipos puedan prestar los servicios de acuerdo con las especificaciones para los que fueron fabricados. Las rutinas de mantenimiento que pueden llegar a requerir varían en complejidad, van desde la limpieza cuidadosa de sus componentes hasta procedimientos especializados, que solo deben realizar técnicos o ingenieros que hayan recibido la capacitación correspondiente y dispongan de la información técnica desarrollada por los fabricantes y que se ajustan a los distintos modelos y diseños disponibles, La utilización, siguiendo las instrucciones del fabricante y el uso cuidadoso garantizarán una vida útil prolongada y muchos años de servicio.

En este documento se presentan recomendaciones generales de mantenimiento, aplicables a una amplia gama de espectrofotómetros, se destaca que las rutinas especializadas sólo es posible realizarlas siguiendo las recomendaciones específicas de los fabricantes para cada modelo de equipo. Las Rutinas generales de mantenimiento para el espectrofotómetro en buen estado junto con las frecuencias de revisión estimadas son:

Inspección del entorno:

Frecuencia: Anual

El entorno donde se instala el espectrofotómetro debe inspeccionarse visualmente y probarse eléctricamente para garantizar la seguridad del operador. La inspección cubre la instalación eléctrica y el espacio de instalación (infraestructura física relacionada con el espectrofotómetro).

a) Instalación eléctrica

Debe revisarse y probarse para asegurar lo siguiente:

1. Existe una toma eléctrica o receptáculo con polo a tierra.

2. El receptáculo está en buen estado y no se encuentra a una distancia superior a los 1,5 m del espectrofotómetro.
3. El voltaje es de nivel adecuado y no debe variar más del 5 % del voltaje especificado en la placa del equipo.
4. La polaridad del receptáculo es correcta.

Estas pruebas debe realizarlas un técnico electricista o un ingeniero y sus resultados consignarlos en formatos que permitan efectuar el seguimiento de su estado en el tiempo.

b) Lugar de instalación

1. Revisar que el lugar de instalación disponga de espacio libre alrededor del espectrofotómetro con dos propósitos: Primero, para pasar sin inconvenientes los cables de conexión y ubicar los elementos o equipos de apoyo (Ej. Estabilizador de voltaje). Segundo, permitir una adecuada ventilación del equipo cuando este en operación.
2. Comprobar la integridad del mesón, su estado y limpieza.
3. Verificar que en la proximidad del espectrofotómetro no se encuentren instalados equipos que pudieran transmitir vibraciones durante su operación (Ej. Centrífuga).
4. Examinar que el entorno no esté afectado por condiciones de humedad excesiva, polvo, o alta temperatura. Se estima que la temperatura ambiente adecuada para la operación del espectrofotómetro oscila entre 10 y 35 °C.
5. Evitar que el equipo este ubicado en un lugar donde reciba radiación solar directa.
6. No instalar el equipo donde existan campos magnéticos o radiación electromagnética intensa.
7. Controlar que el área de instalación este libre de influencia de gases o sustancias corrosivas.

Inspección visual del equipo

Frecuencia: cada seis meses

El espectrofotómetro debe inspeccionarse visualmente, para verificar que el estado de integridad de sus componentes se mantienen de acuerdo con las especificaciones del fabricante. Los aspectos más importantes se citan a continuación:

1. Revisar que la estructura de la mesa de trabajo, donde se encuentra instalado el espectrofotómetro, esté en buen estado.
2. Comprobar la estructura general del espectrofotómetro. Verificar que los botones o interruptores de control, los cierres mecánicos, estén montados firmemente y su señalación o identificación sea clara.
3. Controlar que los accesorios estén limpios, no presenten grietas y su estado funcional sea óptimo.
4. Confirmar que los elementos mecánicos de ajuste –tuercas, tornillos, abrazaderas, etc. – se encuentren ajustados y en buen estado.
5. Revisar que los conectores eléctricos no presenten grietas o rupturas. Comprobar que están unidos correctamente a la línea.
6. Verificar que los cables no presenten empalmes ni aislantes raídos o gastados.
7. Revisar que los cables, abrazaderas y terminales estén libres de polvo, suciedad o corrosión. Tampoco deben presentar desgastes y señales de mal estado.
8. Examinar que el sistema de puesta a tierra – interno y externo– sea estandarizado, de un tipo aprobado, sea funcional y esté instalado correctamente.
9. Controlar que los conmutadores o interruptores de circuito, los portafusibles y los indicadores, se encuentren libres de polvo, suciedad o corrosión.
10. Comprobar que los componentes eléctricos externos funcionen sin sobrecalentamientos.

Mantenimiento general

Limpieza de derrames. En caso de que se produzca un derrame en el sistema portamuestras, debe limpiarse el derrame mediante el siguiente procedimiento:

1. Apagar el espectrofotómetro y desconectar el cable de alimentación eléctrica.
2. Usar una jeringa para limpiar el portamuestras. Absorber la mayor cantidad de líquido que pueda extraerse.
3. Secar el portamuestras con un hisopo de algodón tipo medicinal.
4. Utilizar papel especial para la limpieza de lentes o un trozo de tela limpia de textura suave, libre de hilazas, para limpiar la ventana de la fotocelda.
5. Limpiar el exterior del instrumento con una pieza de tela humedecida con agua destilada. Incluir la pantalla, los controles y el teclado.

Cambio de bombillo/lámpara. El bombillo es un elemento de consumo, por tanto su vida útil es limitada y debe preverse que en algún momento será necesario sustituirlo, bien porque se quemó, o porque ha sufrido procesos de evaporación y metalización interna, y la luz emitida ya no cumple con las especificaciones requeridas para ser utilizada en procesos de espectrofotometría. El proceso de cada modelo difiere y deben siempre seguirse las indicaciones del fabricante del equipo.

Los procesos comunes a seguir se presentan a continuación.

1. Verificar que el bombillo no funciona o existe alguna señal o indicación de que tiene una falla. En equipos modernos aparecerá una señal en la pantalla o un código de error. En equipos antiguos se verá que el bombillo no encendió.
2. Apagar el espectrofotómetro.
3. Desconectar el cable de alimentación.
4. Desajustar los tornillos que aseguran la tapa del compartimiento de la lámpara.
5. Desajustar los tornillos que fijan el mecanismo que sujeta la lámpara.

6. Desajustar los tornillos que fijan los cables de la conexión eléctrica a la lámpara (En algunos equipos podría no ser necesario, pues la base de montaje dispone de mecanismos de contacto directos a los terminales de contacto de la lámpara).
7. Instalar una lámpara nueva con las mismas características de la original. Usar guantes para evitar impregnar con huellas digitales la superficie de la lámpara.
8. Reconectar los cables de alimentación eléctrica a la lámpara.
9. Ajustar nuevamente los tornillos que sujetan la lámpara.
10. Ajustar nuevamente los tornillos que aseguran la tapa del compartimiento de la lámpara.
11. Reconectar el espectrofotómetro.
12. Encender el equipo y realizar el procedimiento de recalibración del equipo estipulado por el fabricante.

Mantenimiento preventivo

El mantenimiento preventivo del espectrofotómetro debe responder a las rutinas y frecuencias recomendadas por el fabricante. A continuación, se presenta un grupo de rutinas básicas que puede ser realizada en el laboratorio.

1. Limpiar externamente el espectrofotómetro, incluyendo los controles, pantallas o metros de medición. Esto se puede realizar con una pieza de tela fina –similar a la textura de los pañuelos– humedecida con agua destilada.
2. Inspeccionar y limpiar el cable de alimentación eléctrica.
3. Verificar que la lámpara esté limpia y en buen estado. Si no funciona, instalar una nueva, con las mismas especificaciones de la original. En los espectrofotómetros modernos, el estado de la lámpara es detectado automáticamente mediante el *software* que controla el estado y el funcionamiento del equipo, por lo que es fácil determinar en qué momento es necesario cambiar la lámpara. Efectuar el cambio de la lámpara y realizar el ajuste posterior siguiendo el

- procedimiento recomendado por el fabricante.
4. Revisar el fusible de protección. Antes de abrir el alojamiento del fusible, comprobar que el espectrofotómetro esté apagado y que sus contactos se encuentren limpios y en buen estado. Si es necesario reemplazarlo, colocar uno nuevo con las mismas características del recomendado por el fabricante.
 5. Colocar el instrumento en la configuración operacional.
 6. Accionar el interruptor de encendido para permitir un funcionamiento por cinco (5) minutos. Verificar lo siguiente:
 - a) Si las lámparas o indicadores piloto funcionan.
 - b) Si el indicador de lectura permanece en cero (0).
 - c) Si la luz de la fuente funciona.
 7. Realizar una prueba de corriente de fuga en las posiciones de encendido y apagado.
 - a) Verificar el polo a tierra y la polaridad correcta.
 - b) Verificar la polaridad correcta sin polo a tierra.
 - c) Verificar la polaridad inversa sin polo a tierra.
 8. Calibrar el panel frontal del espectrofotómetro siguiendo las instrucciones del fabricante.
 9. Medir la sensibilidad del equipo.
 10. Realizar una prueba siguiendo la ley de Beer.
 11. Regresar el espectrofotómetro a la configuración inicial, si la calibración se ha efectuado con éxito.