



WEC CONSULTORES

Analítica y Gestión de Calidad

Validación de metodologías analíticas

Bioq. Roberto Núñez

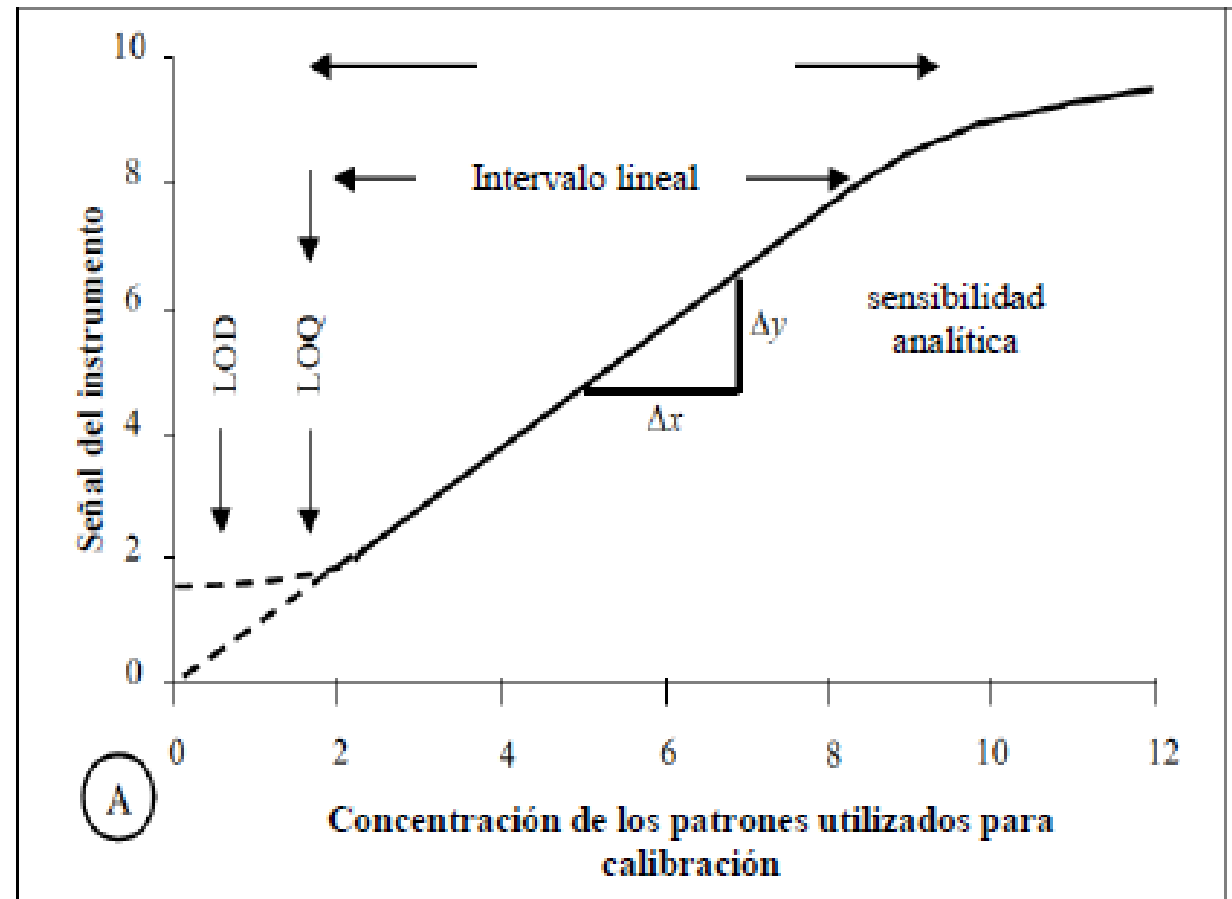
Intervalo de trabajo

- Corresponde al intervalo en el cual el método proporciona resultados con una incertidumbre aceptable

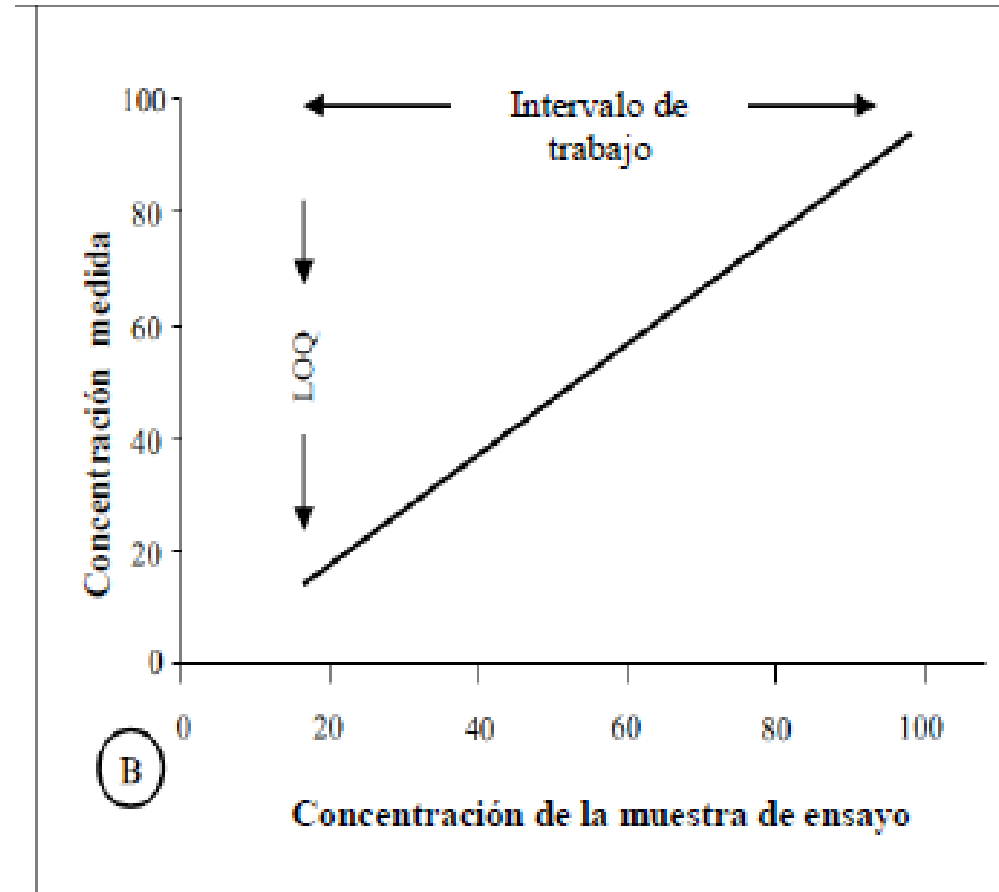
**Intervalo de
trabajo del
método**

**Intervalo de
trabajo del
instrumento**

Intervalo instrumental

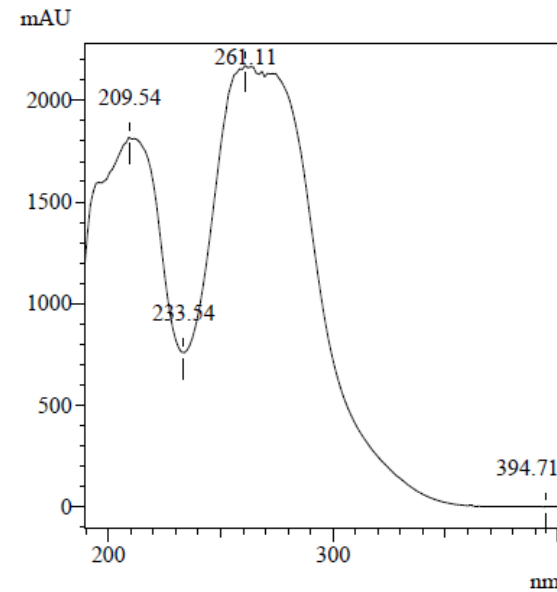
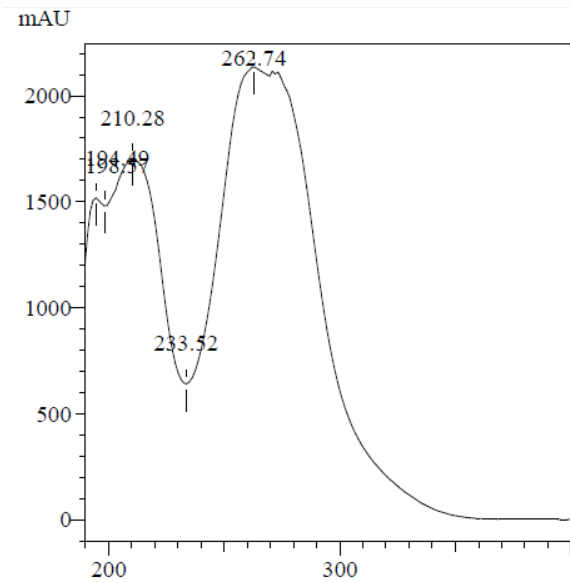


Intervalo del Método

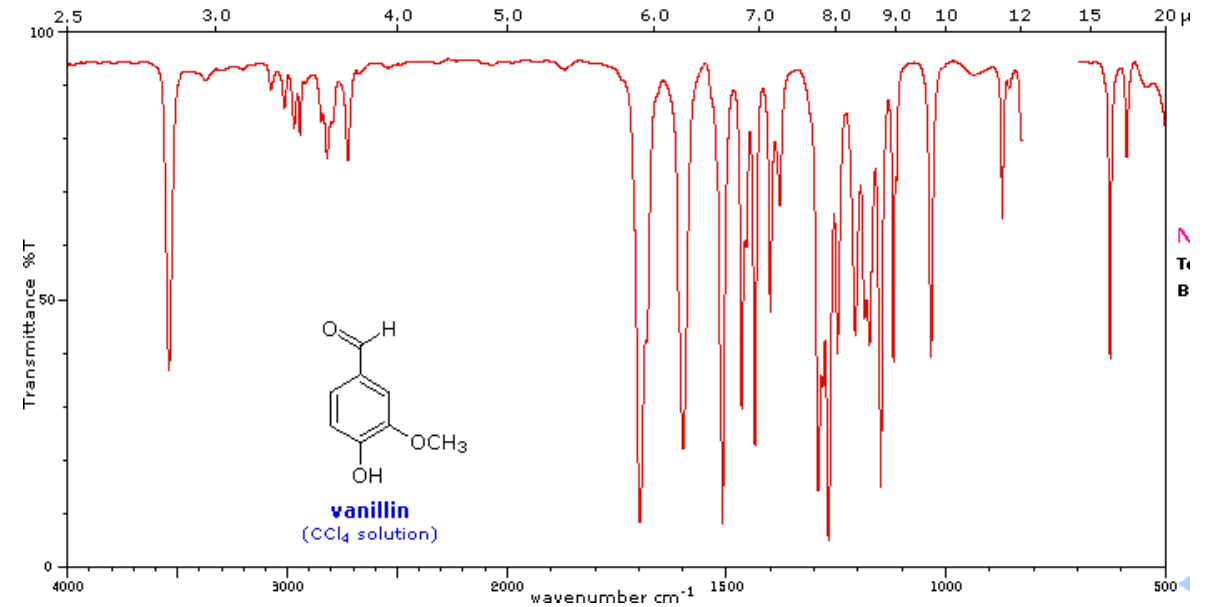
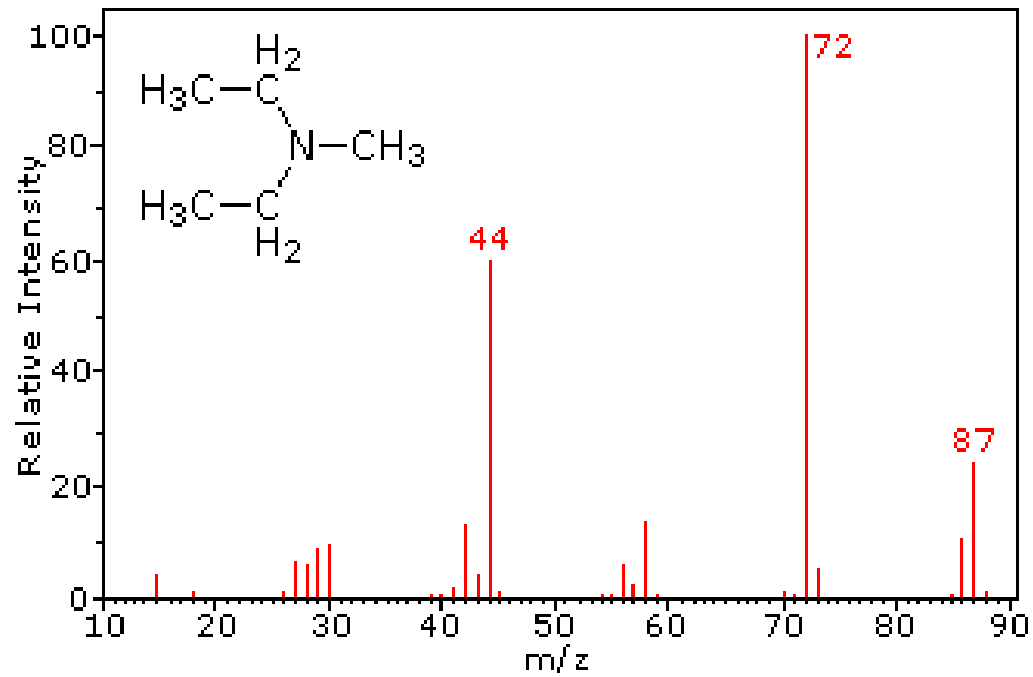


Selectividad

- El grado en el que un método puede ser utilizado para determinar analitos particulares en mezclas o matrices sin interferencias de otros componentes de comportamiento similar



Selectividad



Limites – LOD/LOQ

- **Limite de detección (LOD):** La menor cantidad de un analito en una muestra la cual puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada con un valor exacto

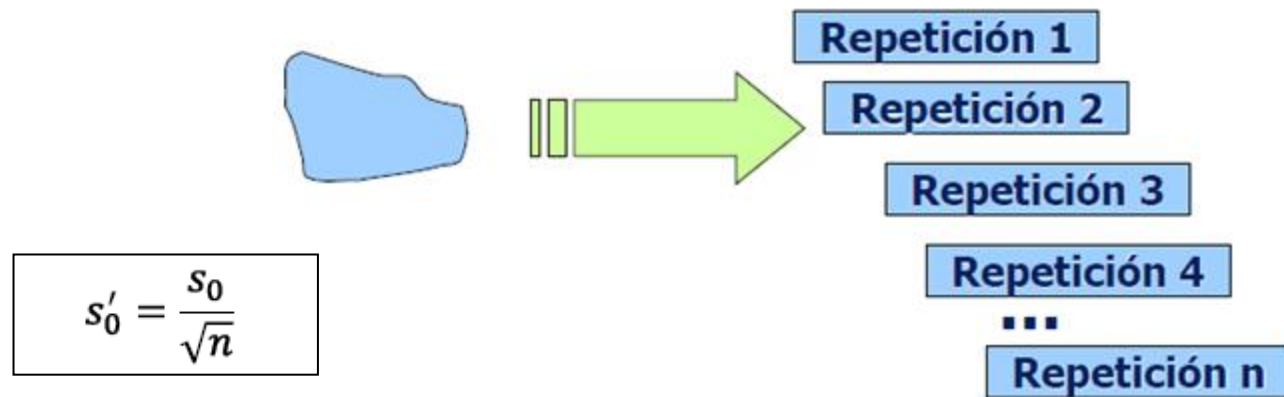
LOD del
Método

LOD del
Instrumento

- **Limite de cuantificación (LOQ):** La concentración mínima que puede determinarse con un nivel aceptable de exactitud

Calculo de LOD y LOQ - Método

- Medidas replicadas de muestras blanco o muestra de ensayo con una baja concentración del analito.



$$LOD = 3 \times s'_0$$

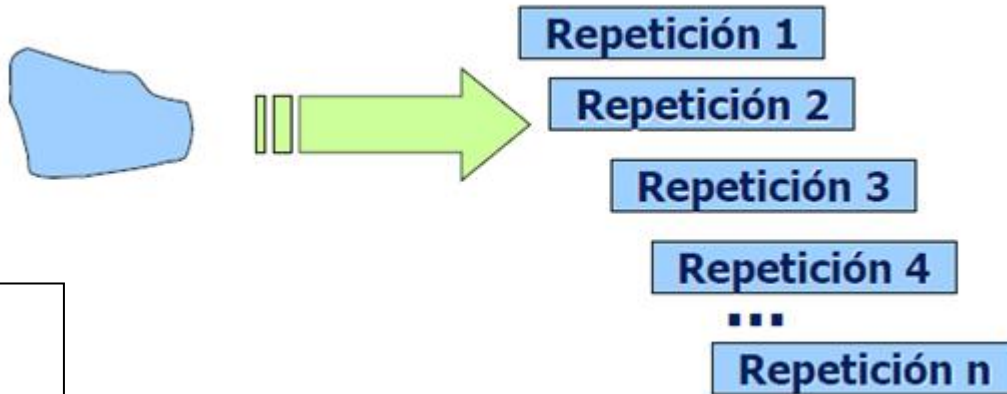
$$LOQ = 10 \times s'_0$$

$$s'_0 = \frac{s_0}{\sqrt{n}}$$

$$s'_0 = s_0 \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}}$$

Calculo de LOD y LOQ - Instrumento

- Medidas replicadas de muestras blanco de reactivo o blancos de reactivo fortificados con una baja concentración del analito.



$$LOD = 3 \times s'_0$$

$$LOQ = 10 \times s'_0$$

$$s'_0 = \frac{s_0}{\sqrt{n}}$$

$$s'_0 = s_0 \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}}$$

Robustez

- Es una medida de la capacidad del método para permanecer no afectado por pequeñas variaciones premeditadas de los parámetros del método.

Fiabilidad



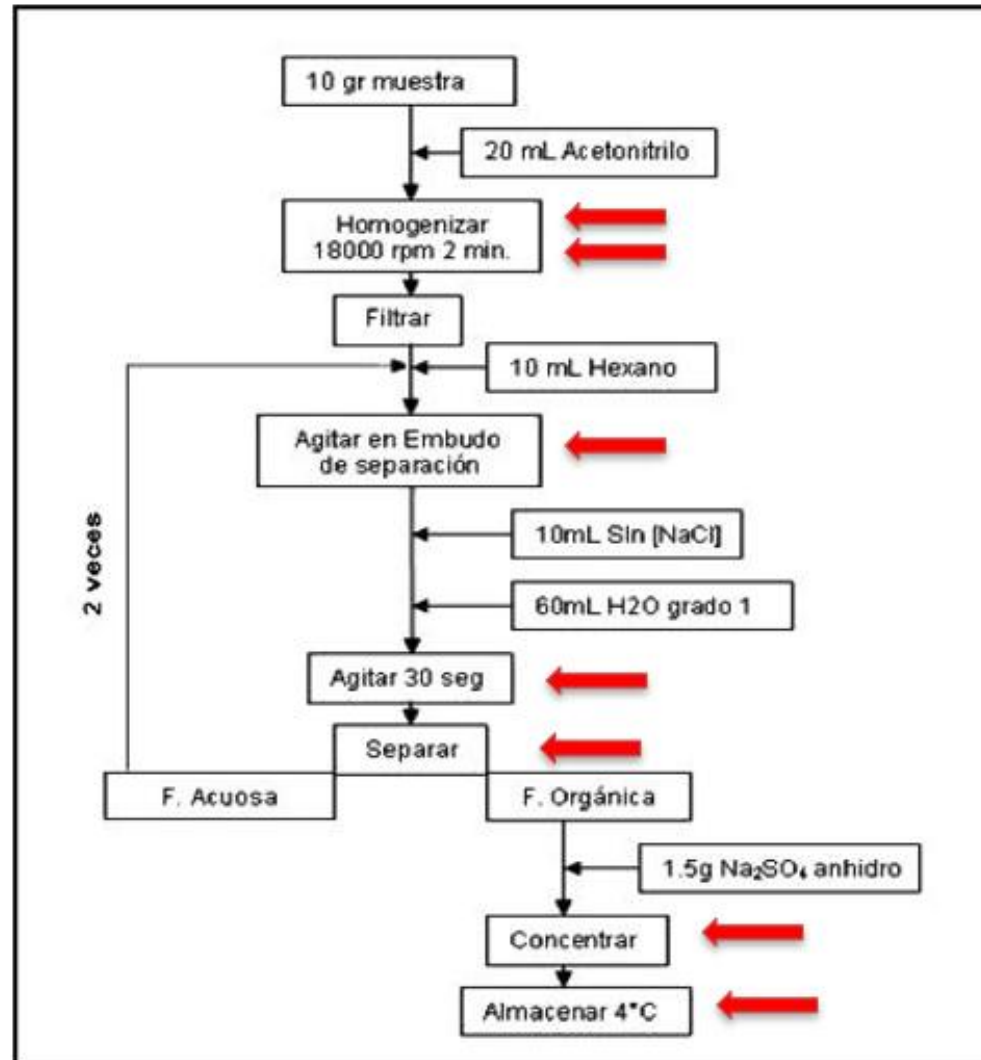
Robustez

Identificar las variables que podrían tener un efecto significativo en el desempeño del método.

Evaluar las variables identificadas mediante experimentación

Determinar el efecto de cada cambio de condición en los resultados de la medida.

Robustez



Robustez

•Prueba de Youden - Steiner.

	Factores							
Repeticiones	A	B	C	D	E	F	G	Resultados
1	+	+	+	+	+	+	+	Y_1
2	+	+	-	+	-	-	-	Y_2
3	+	-	+	-	+	-	-	Y_3
4	+	-	-	-	-	+	+	Y_4
5	-	+	+	-	-	+	-	Y_5
6	-	+	-	-	+	-	+	Y_6
7	-	-	+	+	-	-	+	Y_7
8	-	-	-	+	+	+	-	Y_8

Robustez

Los efectos de los factores se calculan de la siguiente manera:

$$Efecto_A = \left| \frac{\sum Y_{A+} - \sum Y_{A-}}{4} \right|$$

Donde :

$$\sum Y_{A+} = Y_1 + Y_2 + Y_3 + Y_4$$

$$\sum Y_{A-} = Y_5 + Y_6 + Y_7 + Y_8$$

El efecto es significativo si :

$$Efecto_{\bar{A}} > \sqrt{2} \cdot s_p.$$

Robustez

CONDICIÓN VARIABLE				ANALISIS							
Tipo	Clave	Valor Alto X	Valor Bajo x	1	2	3	4	5	6	7	8
Temperatura, °C	A,a	22	15	22	22	22	22	15	15	15	15
Cubeta, tipo	B,b	1	2	1	1	2	2	1	1	2	2
Tiempo Agitación, seg	C,c	60	30	60	30	60	30	60	30	60	30
Tiempo Lectura, seg	D,d	30	0	30	30	0	0	0	0	30	30
Siliconado	E,e	si	no	si	no	si	no	no	si	no	si
Volumen, mL	F,f	30	25	30	25	25	30	30	25	25	30
Estabilización equipo, h	G,g	1	0	1	0	0	1	0	1	1	0
				s	t	u	v	w	x	y	z
RESULTADOS (NTU)				20,1	20,7	22,0	21,3	22,3	22,2	20,6	21,1

Robustez

Para las variables A y a :

Donde el promedio de A se calcula: $\frac{20,1 + 20,7 + 22,0 + 21,3}{4} = 21,0$

Donde el promedio de a se calcula: $\frac{22,3 + 22,2 + 20,6 + 21,1}{4} = 21,6$

Para las variables B y b :

Donde el promedio de B se calcula: $\frac{20,1 + 20,7 + 22,3 + 22,2}{4} = 21,3$

Donde el promedio de b se calcula: $\frac{22,0 + 21,3 + 20,6 + 21,1}{4} = 21,3$

Robustez

S: 0,813

$\sqrt{2} S$: 1,150

Tipo	Clave
Temperatura, °C	A,a
Cubeta, tipo	B,b
Tiempo Agitación, seg	C,c
Tiempo Lectura, seg	D,d
Siliconado	E,e
Volumen, mL	F,f
Estabilización equipo, h	G,g

Condición Variable		Resultados		Diferencia	Comparación
Valor Alto X	Valor Bajo x	Promedio X	Promedio x	$\Delta(X-x)$	$\Delta < \sqrt{2} DS$
A	a	21,0	21,6	0,525	No Sensible a Variable
B	b	21,3	21,3	0,075	No Sensible a Variable
C	c	21,3	21,3	0,075	No Sensible a Variable
D	d	20,6	22,0	1,325	Sensible a Variable
E	e	21,4	21,2	0,125	No Sensible a Variable
F	f	21,2	21,4	0,175	No Sensible a Variable
G	g	21,1	21,5	0,475	No Sensible a Variable

Documentación requerida

- **Protocolo de validación**

- Información necesaria para realizar el estudio de los parámetros. Basado en Guías o Normas

- **Informe de Validación**

- Resultados de las experimentaciones realizadas con la evaluación de los resultados en base a los criterios predefinidos

- **Declaración de la aplicabilidad del método**

- Certificado de validación



WEC CONSULTORES

Analítica y Gestión de Calidad

Gracias por la atención

WEC Consultores

www.weconsultores.com.py

asistencia@weconsultores.com.py

San Lorenzo - Paraguay