

	OFICINA DE CENTROS DE DIAGNÓSTICO Y PRODUCCIÓN	Unidad del Centro de Control de Insumos y Residuos Tóxicos MET-UCCIRT/Res-16	
		Revisión: 06	Página 1 de 11

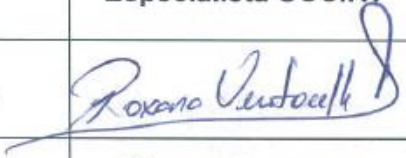
	Elaborado por:	Revisado por:	Aprobado por:
	Cristina Toro Vilchez Especialista UCCIRT	Orlando Lucas Director UCCIRT	César de la Cruz Lezcano. Director ODCP
FIRMA			
FECHA	29.8.2022.	01-09-2022	02-09-2022
	Roxana Ventocilla Reaño Especialista UCCIRT		
FIRMA			
FECHA	29-08-2022.		

TABLA DE CONTENIDO:

Introducción

1. Objetivo
2. Campo de aplicación
3. Referencias
4. Definiciones
5. Metodología
6. Antecedentes
7. Anexos



Esta versión está vigente, en tanto esté publicada en la Intranet. En caso de imprimir este documento con fines didácticos, una vez utilizado debe destruirlo, bajo responsabilidad.

	OFICINA DE CENTROS DE DIAGNÓSTICO Y PRODUCCIÓN		Unidad del Centro de Control de Insumos y Residuos Tóxicos	
			MET-UCCIRT/Res-16	
	MÉTODO DE ENSAYO: DETERMINACIÓN DE AFLATOXINAS EN ALIMENTOS POR CROMATOGRAFÍA LIQUIDA ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASA EN TANDEM (LC-MS/MS).		Revisión: 06	Página 2 de 11

INTRODUCCIÓN

Los frutos de p  prika (*Capsicum annuum*) son ampliamente utilizados como especias. La generación de Aflatoxinas en Paprika puede ocurrir en cualquier etapa de la producción, desde antes de la cosecha hasta el secado y almacenamiento. La legislación Europea (EC 1881/2006) ha establecido límites máximos en especias solamente para aflatoxinas (5 ug/kg para aflatoxina B1 y 10 ug/kg para aflatoxinas totales) y recientemente ha establecido el límite de 30 ug/kg para ocratoxina A en especias. En la misma normativa también podemos encontrar límites máximos para otras matrices.

Los métodos analíticos *más frecuentes* utilizados para la cuantificación de micotoxinas, incluye la cromatografía liquida con detector de fluorescencia y más recientemente el uso de detectores de masa para la cuantificación simultanea de varios tipos de micotoxinas, incluyendo aflatoxina.

El método de ensayo ha tomado de referencia la publicación del “ J. Chromatogr. A Ren Y, et al. “Simultaneous determination of multi-component mycotoxin contaminants in foods and feeds by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry” 1143 (2007) 48-64” el cual ha sido validado, correspondiéndole los siguientes informes de validación: IVA-004-10, IVA-004-13 y IVA-004-15.

1. OBJETIVO

Determinar y cuantificar simultáneamente las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 en alimentos por Cromatografía Liquida acoplada a Espectrometría de Masa en Tandem (MS/MS).

2. CAMPO DE APLICACIÓN

Aplica para la determinación de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 en muestras de p  prika en polvo, paprika entera, *nueces, castañas, cacao* y cereales en las concentraciones de 0.5 a 40 ug/kg (ppb), para Aflatoxinas B1 y G1 y en concentraciones de 0.2 a 12 ug/kg para aflatoxinas B2 y G2 para las concentración mayores se diluye la muestra.

Las actividades establecidas en el presente método de Ensayo aplican tanto a las colaboradoras como a los colaboradores en la UCCIRT, de la OCDP, sin distinción de género y promoviendo la interculturalidad.

	OFICINA DE CENTROS DE DIAGNÓSTICO Y PRODUCCIÓN	Unidad del Centro de Control de Insumos y Residuos Tóxicos	
		MET-UCCIRT/Res-16	
	MÉTODO DE ENSAYO: DETERMINACIÓN DE AFLATOXINAS EN ALIMENTOS POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASA EN TANDEM (LC-MS/MS).	Revisión: 06	Página 3 de 11

3. REFERENCIAS

- 3.1 Ren Y, et al. "Simultaneous determination of multi-component mycotoxin contaminants in foods and feeds by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry" J. Chromatogr. A 1143 (2007) 48-64.
- 3.2 AOAC OFFICIAL METHOD OF ANALYSIS (2207). AOAC Official Method 994.08. "Aflatoxin in Corn, Almonds, Brazil Nuts, Peanuts and Pistachio Nuts". Multifuncional Column (Mycosep) Method.
- 3.3 REGLAMENTO (CE) No 1881/2006 DE LA COMISIÓN de 19 de diciembre de 2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios.
- 3.4 ITR -UCCIRT/Res-17 Manejo del Sistema de Cromatografía Líquida de Ultra performance Acquity UPLC/Xevo TQ-S
- 3.5 ITR-UCCIRT/Lab-07 Lavado de material de vidrio UCCIRT.
- 3.6 ITR-UCCIRT/Lab-06 Manejo del Sistema de Gases y de la Unidad de Vacío de la UCCIRT.
- 3.7 REG-UCCIRT/Lab-29 Registro de materiales de referencia.
- 3.8 REG-UCCIRT/Lab-30 Registro de verificación de la balanza.
- 3.9 REG-UCCIRT/Lab-61 Hoja de trabajo de ensayo
- 3.10 REG-UCCIRT/Res-10 Registro de toma de muestra.

4. DEFINICIONES

4.1 Aflatoxinas

Micotoxinas producidas naturalmente bajo ciertas condiciones por hongos del género *Penicillium*.

5. METODOLOGÍA

El método es ejecutado por especialista o técnico autorizado en el registro Listado de Personal Autorizado para Realizar Ensayos REG-UCCIRT/Cal-11.

5.1. Principio del método

La porción de muestra homogenizada es extraída con una solución acuosa de acetonitrilo al 84 % (v/v). El extracto es filtrado con papel filtro rápido, y luego una limpieza con cartuchos de Micosep Aflazon, y finalmente cuantificadas por cromatografía líquida con espectrometría de masa en tandem usando electrospray positivo (+)

5.2. Precauciones de seguridad

5.2.1 Se requieren mandil, guantes y anteojos de protección.

5.2.2 Las aflatoxinas son sustancias altamente tóxicas y deben manipularse con extremo cuidado.

	OFICINA DE CENTROS DE DIAGNÓSTICO Y PRODUCCIÓN	Unidad del Centro de Control de Insumos y Residuos Tóxicos	
		MET-UCCIRT/Res-16	
	MÉTODO DE ENSAYO: DETERMINACIÓN DE AFLATOXINAS EN ALIMENTOS POR CROMATOGRAFÍA LIQUIDA ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASA EN TANDEM (LC-MS/MS).	Revisión: 06	Página 4 de 11

5.3. Precauciones Analíticas

5.3.1 Es muy importante la limpieza del material de vidrio utilizado en este procedimiento para evitar interferencias durante el análisis. Todo material es descontaminado manteniéndolo toda la noche en solución de hipoclorito de sodio al 2%. Luego se prosigue con el procedimiento de lavado del instructivo ITR-UCCIRT/Lab-07. Finalmente se enjuaga con metanol.

5.3.2 Se debe utilizar reactivos de grado analítico o de grado plaguicida que cumplan con las normas internacionales de calidad (ACS, ISO).

5.4. Equipos y materiales

5.4.1 Equipos

- Homogenizadores (Robot Coupe de Blixer 45).
- Agitador Horizontal.
- Micropipeta monocal con volumen variable de 10-100 µl.
- Micropipeta monocal con volumen variable de 100-1000 µl.
- Balanza analítica.
- Vortex mixer.
- Columna LC: C-18 – 150 x 2.1 mm id, 5 µm
- Cromatógrafo líquido de Alta performance (HPLC): Alliance 2695 (Waters Corporations).
- Espectrómetro de masa en tándem con sonda ESI, en modo de operación positiva. Modelo Quattro Premier XE (Waters Corporations).
- Cromatógrafo Líquido de Ultra performance (UPLC). Marca Waters , Modelo: Acquity.
- Espectrómetro de masas en tandem con sonda ESI en modo de operación positivo Marca: Micromass Xevo TQS.
- Columna cromatográfica Fase reversa C18, 100 mm x 2,1 mm, 1,7 µm.
- Software del LC-MSMS :Masslynx 4.1
- Equipo de filtración con bomba de vacío, para filtrar fase móvil.

5.4.2 Materiales:

- Cartuchos Mycosep 226 AflaZon+.
- Guantes de nitrilo.
- Pipetas Pasteur.
- Matraz erlenmeyer 250 ml.
- Gradilla para tubos de 50 ml.
- Pipetas volumétricas de 5, 10 y 15 ml.
- Embudo de vidrio
- Filtros de jeringa de PTFE de 0.22 µm de diámetro de poro.

Esta versión está vigente, en tanto esté publicada en la Intranet. En caso de imprimir este documento con fines didácticos, una vez utilizado debe destruirlo, bajo responsabilidad.

	OFICINA DE CENTROS DE DIAGNÓSTICO Y PRODUCCIÓN		Unidad del Centro de Control de Insumos y Residuos Tóxicos	
			MET-UCCIRT/Res-16	
	MÉTODO DE ENSAYO: DETERMINACIÓN DE AFLATOXINAS EN ALIMENTOS POR CROMATOGRAFÍA LIQUIDA ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASA EN TANDEM (LC-MS/MS).		Revisión: 06	Página 5 de 11

- Viales de 1.5 ml para autosampler HPLC.
- Tubos de ensayo de borosilicato de 15x85 mm.
- Papel de filtro cualitativo whatman 4 o 1.
- Insertos de 300 µl.
- Filtro de membrana 47mm de diámetro 0.45 µm de tamaño de poro.

5.5. Reactivos

Por lo general el tiempo de preservación de los reactivos es un año como máximo, salvo que se indique lo contrario. Todos los reactivos se deben almacenar en recipientes adecuados, provistos de etiquetas con el nombre del reactivo, concentración, medio, fecha de preparación, fecha de vencimiento e iniciales del analista.

En caso de preparar un reactivo, se debe llenar el registro correspondiente, asimismo mantener un registro de la temperatura del refrigerador donde se almacenan los reactivos estándares.

5.5.1 Sustancias químicas:

- Acetonitrilo grado HPLC.
- Agua grado HPLC.
- Metanol grado HPLC.
- Acetato de amonio ACS.
- Hidróxido de amonio grado analítico o equivalente.
- Ácido fórmico grado analítico o equivalente.
- Aflatoxinas G1 (Estándar primario).
- Aflatoxinas G2 (Estándar primario).
- Aflatoxinas B1 (Estándar primario).
- Aflatoxinas B2 (Estándar primario).
- Mix de aflatoxinas.

5.5.2 Soluciones:

a) Acetato de Amonio 10 mmolL⁻¹ (Fase Móvil A para ESI⁺)

Agregar 0,7708 g de acetato de amonio en un matraz aforado de 1 L y completar a volumen con agua. Filtrar con filtro de membrana 0.45 µm de tamaño de poro.

b) Solución de Extracción Acetonitrilo 84%.

Agregar 840 mL de acetonitrilo en un matraz aforado de 1 L y completar a volumen con agua.

	OFICINA DE CENTROS DE DIAGNÓSTICO Y PRODUCCIÓN		Unidad del Centro de Control de Insumos y Residuos Tóxicos	
			MET-UCCI/RT/Res-16	
	MÉTODO DE ENSAYO: DETERMINACIÓN DE AFLATOXINAS EN ALIMENTOS POR CROMATOGRFIA LIQUIDA ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASA EN TANDEM (LC-MS/MS).		Revisión: 06	Página 6 de 11

5.5.3 Soluciones de Estándares:

a) Soluciones Stock de 1.0 – 0.3 mg/mL

Pesar exactamente una cantidad de cada estándar de micotoxina (Aflatoxina B1, Aflatoxina B2, Aflatoxina G1, Aflatoxina G2, para preparar una solución de 0.1 mg/ml en metanol, o adquirir mix preparados de concentraciones de 1.0 a 0.3 µg/ml que incluya certificado de análisis.

b) Curva de Calibración en solventes

Diluir paso a paso la solución stock de 0.1 mg/mL en acetonitrilo: agua 86:14 para preparar una secuencia de soluciones estándar, con la concentración de acuerdo a la Tabla N°1.

Tabla N°1. Concentraciones para la curva solvente

Micotoxina	ng/ ml					
	C1	C2	C3	C4	C5	C6
Aflatoxina B1	0.49	0.98	4.89	9.78	14.67	19.56
Aflatoxina B2	0.15	0.30	1.50	3.00	4.50	6.00
Aflatoxina G1	0.50	1.00	5.00	10.00	15.00	20.00
Aflatoxina G2	0.16	0.31	1.56	3.11	4.67	6.22

c) Curva de Calibración en matriz

Se prepara curva matriz en paprika, en cereales y nueces no es necesario porque no existe interferencia de matriz, y se preparara en aquellas matrices que lo requieran.

En 4 viales de 2 ml colocar 1 ml de extracto blanco, a continuación adicionar 250µl del st C3, C4, C5, C5 de la Tabla N°1, respectivamente a cada vial, con concentraciones finales de acuerdo a la Tabla N° 2.

Tabla N°2 Concentraciones para la curva matriz

	C3 (ng/ml)	C4 (ng/ml)	C5 (ng/ml)	C6 (ng/ml)
Aflatoxina B1	0.40	1.00	2.00	4.00
Aflatoxina B2	0.12	0.30	0.60	1.20
Aflatoxina G1	0.38	0.96	1.92	3.84
Aflatoxina G2	0.12	0.29	0.58	1.16

	OFICINA DE CENTROS DE DIAGNÓSTICO Y PRODUCCIÓN	Unidad del Centro de Control de Insumos y Residuos Tóxicos	
		MET-UCCIRT/Res-16	
	MÉTODO DE ENSAYO: DETERMINACIÓN DE AFLATOXINAS EN ALIMENTOS POR CROMATOGRFIA LIQUIDA ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASA EN TANDEM (LC-MS/MS).	Revisión: 06	Página 7 de 11

5.6. Procedimiento

5.6.1 Preparación de muestra.

1. Pesar 12,5 g de muestra homogenizada dentro de un matraz erlenmeyer de 250 mL. (o 25 g para el caso de cereales)
2. Agregar 50 mL de la solución de extracción Acetonitrilo:agua al 84:16 (o 100 ml para el caso de cereales), agitar en un homogenizador a alta velocidad por 3 minutos o por agitador horizontal durante 30 minutos.
3. Filtrar a través de papel de filtro cualitativo y recolectar el extracto.
4. Tapar y agitar suavemente en Vortex por aproximadamente 30 segundos para mezclar el contenido de los tubos.
5. Transferir 8 ml del extracto hacia tubos de vidrio y purificarlo pasándolo a través de los Cartuchos Mycosep 226 AflaZon+. Mantener el cartucho Mycosep en una mano y el tubo de ensayo conteniendo los 8 ml del extracto en la otra. Presionar suavemente el cartucho (el extremo con el reborde de caucho) dentro del tubo de ensayo. De acuerdo a como el cartucho es presionado dentro del tubo, el extracto es forzado a pasar a través de la frita, a través de una válvula de una vía, y a través del material del empaque (Nota. No colocar el dedo sobre la parte superior del reservorio del cartucho).
6. Pasar la solución obtenida a través de filtros de jeringa de PTFE de 0.22 µm.
7. Inyectar en el cromatógrafo líquido con detector Ms-MS el modo ESI⁺ para las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2

5.6.2 Condiciones del Cromatógrafo Líquido:

Para el Sistema Cromatográfico UPLC

Columna cromatográfica	Fase reversa C18, 100 mm x 2,1 mm, 1,7 µm
Fase Móvil	Fase Móvil A: Acetato de amonio 10 mmol/ Fase Móvil B: Metanol 95 : 5
Condición de flujo :	Gradiente(*)
Flujo:	0.3 ml/min
Volumen de inyección	2 µL
Temperatura	40°C±10°C

Condiciones del gradiente de elución*

Tiempo (min)	A	B	Flujo (mL/min)	Curva
0	95	5	0.3	6

Esta versión está vigente, en tanto esté publicada en la Intranet. En caso de imprimir este documento con fines didácticos, una vez utilizado debe destruirlo, bajo responsabilidad.

	OFICINA DE CENTROS DE DIAGNÓSTICO Y PRODUCCIÓN		Unidad del Centro de Control de Insumos y Residuos Tóxicos	
			MET-UCCIRT/Res-16	
	MÉTODO DE ENSAYO: DETERMINACIÓN DE AFLATOXINAS EN ALIMENTOS POR CROMATOGRAFÍA LIQUIDA ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASA EN TANDEM (LC-MS/MS).		Revisión: 06	Página 8 de 11

3.0	5	95	0.3	6
3.5	5	95	0.3	6
3.6	95	5	0.3	6
4.2	95	5	0.3	6

5.6.3 Condiciones del Espectrómetro de Masa en Tandem (MS/MS):

Micromass Xevo TQS

Fuente de Ionización	Electrospray (ESI)
Modo de Ionización	Positivo $[M+H]^+$
Temperatura de la fuente (°C)	150
Voltaje del Capilar (kV):	3.50
Voltaje de Cono (V)	30
Source offset	50
Temperatura de solvatación (°C)	500
Flujo del gas de solvatación (L/Hr)	600
Flujo de gas de cono ((L/Hr):	150
Nebulizador	7
Resolución LM1	3.06
Resolución HM1	14.4
Ion energy 1	0.5
Resolución LM2	3.0
Resolución HM2	14.45
Ion energy 2	0.5
Flujo de gas de colisión (mL/min)	0.16
collision	4

Condiciones MRM:

Para cada micotoxina se utiliza dos transiciones MRM, uno para cuantificación y otro para confirmación:

Esta versión está vigente, en tanto esté publicada en la Intranet. En caso de imprimir este documento con fines didácticos, una vez utilizado debe destruirlo, bajo responsabilidad.

	OFICINA DE CENTROS DE DIAGNÓSTICO Y PRODUCCIÓN		Unidad del Centro de Control de Insumos y Residuos Tóxicos	
			MET-UCCIRT/Res-16	
	MÉTODO DE ENSAYO: DETERMINACIÓN DE AFLATOXINAS EN ALIMENTOS POR CROMATOGRAFÍA LIQUIDA ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASA EN TANDEM (LC-MS/MS).		Revisión: 06	Página 9 de 11

Tabla N°4. Condiciones MRM

Compuesto	Transición MS/MS	Dwell Time (s)	Voltaje de cono (V)	Energía de colisión (eV)	Modo de ionización
Aflatoxina B ₁	313 > 241.11 (1)	0.08	54	34	ESI ⁺
	313 > 284.92 (2)	0.08	54	22	ESI ⁺
Aflatoxina B ₂	315.01 > 259.11 (1)	0.08	20	26	ESI ⁺
	315.01 > 287.11 (2)	0.08	20	24	ESI ⁺
Aflatoxina G ₁	329.1 > 243.1 (1)	0.08	90	22	ESI ⁺
	329.1 > 311.1 (2)	0.08	90	18	ESI ⁺
Aflatoxina G ₂	331.10 > 245.06 (1)	0.08	60	26	ESI ⁺
	331.10 > 313.1 (2)	0.08	60	20	ESI ⁺

(1) Transición principal MRM utilizada para la cuantificación

(2) Transición secundaria MRM utilizada para la confirmación.

Nota: las condiciones del equipo pueden variar de acuerdo a las calibraciones realizadas al equipo

Secuencia de inyección:

- 1- Bco. solventes
- 2- Estándar 1
- 3- Estándar 2
- 4- Estándar 3
- 5- Estándar 4
- 6- Estándar 5
- 7- Estándar 6
- 8- Bco. de matriz
- 9- Control o Recuperación
- 10- Bco. solventes
- 11- muestras

5.7. Cálculo y expresión de resultados

5.7.1 Cuantificación del resultado

La cuantificación de los resultados se realiza interpolando las áreas de las muestras analizadas en la curva de calibración utilizando el método del *estándar externo*.

El método cuantitativo MS/MS es el MRM (Monitoreo de Reacción Múltiple). El procesamiento de datos de las muestras, blancos, y estándares se realiza con el software MassLynx 4.1 con la aplicación TargetLynx 4.1.

La concentración de aflatoxina en la muestra se calcula de la siguiente ecuación:

Esta versión está vigente, en tanto esté publicada en la Intranet. En caso de imprimir este documento con fines didácticos, una vez utilizado debe destruirlo, bajo responsabilidad.

	OFICINA DE CENTROS DE DIAGNÓSTICO Y PRODUCCIÓN		Unidad del Centro de Control de Insumos y Residuos Tóxicos	
	MÉTODO DE ENSAYO: DETERMINACIÓN DE AFLATOXINAS EN ALIMENTOS POR CROMATOGRFÍA LIQUIDA ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASA EN TANDEM (LC-MS/MS).		MET-UCCIRT/Res-16	
			Revisión: 06	Página 10 de 11

$$C(\mu\text{g/Kg}) = C_i(\text{ng/ml}) \frac{F_d}{R} \qquad F_d = \frac{V_f}{W_m}$$

Donde:

C_i = concentración derivada de la curva de calibración en $\mu\text{g/ml}$.

V_f = volumen final de extracto (ml).

W_m = Peso de muestra (g)

R = %recuperación/100 obtenida en la data de validación en la matriz similar y la concentración más cercana.

Nota: a todas las muestras se realiza corrección por recuperación obtenida del control si la recuperación es menor de 100%, si la recuperación es mayor de 100% no se realiza corrección.

Si no se tiene validación en matriz similar colocar una observación que se encuentra fuera del alcance de la acreditación y no realizar corrección por recuperación.

5.7.2 Cálculo de confirmación, se realiza en el software Maslyn con las transiciones elegidas.

Los resultados se expresan en μg de aflatoxina/Kg de muestra. Los cuales son registrados en la hoja de trabajo correspondiente. (REG-UCCIR/Lab-61), disponible PRO-UCCIRT/Lab-06 "Control de Datos".

5.8 Control de Calidad

parámetro de calidad Interno	Frecuencia	Criterio de aceptación	Acción inmediata	Acciones en casos reiterativos *
Blanco reactivo	En cada lote de muestras analizadas	$< \text{LoD}$	Corroborar la lectura, inyectando nuevamente, y verificar blanco matriz	Verificar solventes usados. Repetir lote analizado, tres o más casos consecutivos, generan un SACP.
Blanco matriz	En cada lote de muestras analizadas	$< \text{LoQ}$	Cuando no se encuentre disponible, utilizar como adición estándar,	
Calibración mínimo 3 puntos	En cada lote de muestras analizadas	$r^2 > 0.95$	Calibrar nuevamente	Verificar mantenimiento del equipo. Repetir la curva de calibración y las inyecciones de las muestras
Duplicados	Cada 20 muestra analizadas	$\text{RSD} < 20\%$	Repetir la muestra analizada	Verificar la homogeneidad de la muestra y repetir el análisis de los duplicados.

Esta versión está vigente, en tanto esté publicada en la Intranet. En caso de imprimir este documento con fines didácticos, una vez utilizado debe destruirlo, bajo responsabilidad.

	OFICINA DE CENTROS DE DIAGNÓSTICO Y PRODUCCIÓN		Unidad del Centro de Control de Insumos y Residuos Tóxicos	
			MET-UCCIRT/Res-16	
	MÉTODO DE ENSAYO: DETERMINACIÓN DE AFLATOXINAS EN ALIMENTOS POR CROMATOGRAFÍA LIQUIDA ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASA EN TANDEM (LC-MS/MS).		Revisión: 06	Página 11 de 11

Muestra o blancos fortificados	En cada lote de muestras analizadas o después de 30 muestras	Recuperación según cartas control (aprox.60-120)	Repetir la muestra analizada	Verificar la homogeneidad de la muestra y repetir análisis de la muestra fortificada..
Estándar de verificación de calibración	Cada 20 muestras	RSD < 20% respecto a la calibración inicial	Calibrar nuevamente	Verificar estándares y fechas de vencimiento, calibrar nuevamente y repetir las inyecciones del lote analizado

* tres o más casos consecutivos generan una SACP

LoD = Límite de detección del método

LoQ= Límite de cuantificación del método

6. ANTECEDENTES

No aplica.

7. ANEXOS

No aplica.