



Foto: Sebastián Bogliacino

# SISTEMAS DE GESTIÓN DE CALIDAD ISO/IEC 17025 Y VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ANÁLISIS: beneficio para los usuarios

Lic. CTL Andrea Cartaya, MSc. Dr. Darío J. Hirigoyen,  
Ing. Alim. Irene Purtscher

Laboratorios, INIA La Estanzuela

“El laboratorio debe utilizar los métodos de ensayo o de calibración, incluidos los de muestreo, que satisfagan las necesidades del cliente y que sean apropiados para los ensayos o las calibraciones que realiza...” (Guía Eurachem, 2016).

## SISTEMAS DE GESTIÓN DE LA CALIDAD Y ACREDITACIÓN EN LOS LABORATORIOS

La tendencia a la implementación de Sistemas de Gestión de la Calidad (SGC) y la acreditación de los métodos de análisis (también denominados métodos de ensayo) en los laboratorios van en paralelo. Un SGC integra conceptos, principios, procesos y recursos fundamentales relativos a la calidad para ayudar a las organizaciones a alcanzar sus metas; con el objetivo de incrementar la conciencia de la organización sobre sus tareas y su compromiso para compensar las

necesidades y las expectativas de las partes interesadas y lograr la satisfacción con sus productos y servicios (ISO, 2015). La acreditación es el proceso por el cual un organismo de evaluación de la conformidad evalúa la capacidad técnica y humana que un laboratorio posee para la actividad establecida en el alcance.

La norma ISO/IEC 17025:2017 establece requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración, especifica los requisitos para la competencia, la imparcialidad y la operación coherente de los laboratorios.

En 2019, datos de la Cooperación Internacional de Acreditación de Laboratorios (ILAC) indicaban que había más de 65.000 laboratorios de análisis acreditados bajo la norma ISO/IEC 17025, en 104 economías del mundo, de cinco organismos regionales en todos los continentes. Estos datos reflejan la importancia de demostrar la competencia, si bien estas prácticas no son obligatorias en muchos países.

La implementación de un SGC y la acreditación de un laboratorio tiene entre otras ventajas:

- Reduce las incertidumbres asociadas con decisiones que afectan ensayos experimentales y publicaciones de investigadores.
- Aumenta la confianza de los grupos de interés.
- Asegura la competencia técnica del personal, validez e idoneidad de los métodos de análisis, trazabilidad de las mediciones y calibraciones a estándares nacionales.
- Establece mecanismos de auditoría independientes y sistemáticos.
- Favorece la aceptación en mercados internacionales y contribuye en la toma de decisiones públicas.

La validación de los métodos analíticos es la confirmación, mediante la aportación de evidencia objetiva, de que se han cumplido los requisitos establecidos para una utilización o aplicación específica

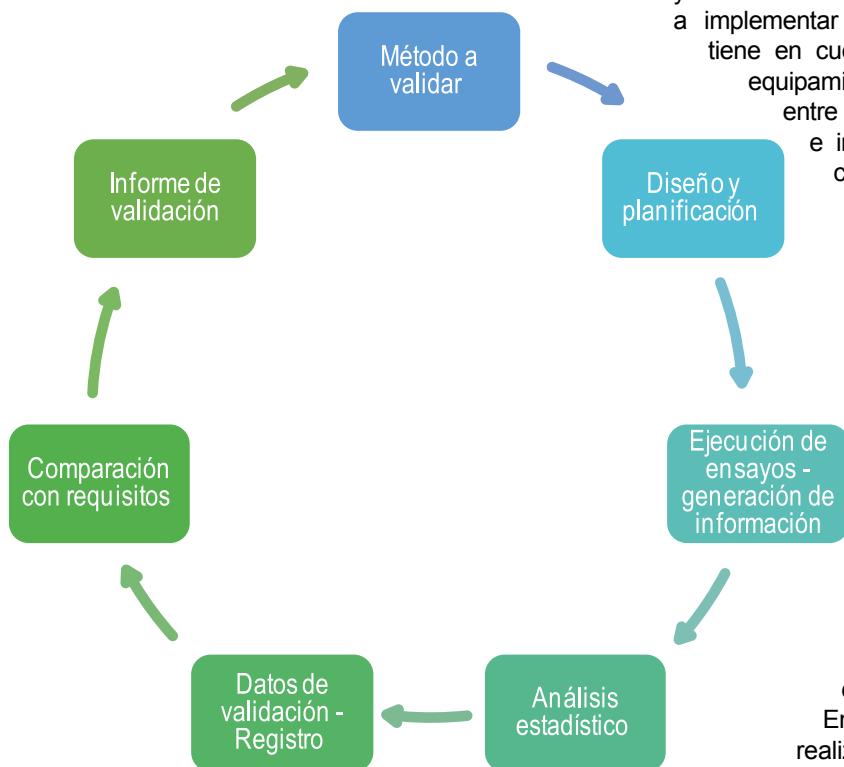


Figura 1 - Proceso de validación de un método de ensayo.

Un Sistema de Gestión de la Calidad se define en base a referencias e integra principios, procesos y recursos. Aplica a cualquier tipo de organización, independientemente del tamaño, complejidad o actividad.

prevista (ISO, 2015). Es la adecuación al uso de los métodos analíticos aplicados en la rutina. Los estudios de validación proporcionan datos sobre el desempeño global y sobre la influencia de factores individuales. En la Figura 1 se describen las principales etapas del proceso de validación.

## SISTEMAS DE GESTIÓN DE LA CALIDAD Y VALIDACIÓN EN ALGUNOS LABORATORIOS DE INIA

Centros de investigación en Europa, Oceanía y América están acreditados, esto lleva a que los investigadores utilicen el sistema generando productos tecnológicos y publicaciones científicas respaldadas en resultados comparables, adecuados al propósito, precisos y confiables. Los usuarios, para su investigación o mejora en su proceso productivo, deben tener la seguridad de que el método usado es apropiado para el análisis que se realiza y satisface sus necesidades. Al momento de comenzar a implementar un método de ensayo, el laboratorio tiene en cuenta las determinaciones requeridas, el equipamiento disponible, las normas disponibles, entre otras cosas. Solo con equipamientos e instrumentos de vanguardia no se logra confirmar la competencia del laboratorio, es preciso establecer y mantener un SGC maduro, instrumentos calificados y calibrados, métodos documentados, patrones de referencia confiables, analistas calificados e integridad de las muestras.

Varios de los laboratorios de INIA La Estanzuela (LE) y Las Brujas, han implantado un SGC a partir de 2017, que siguen requisitos de la Norma ISO/IEC 17025:2017. En el marco del SGC, en los laboratorios de LE, se han elaborado procedimientos internos de validación de métodos de ensayo y cálculo de incertidumbre que establecen lineamientos generales. En base a ello, los distintos laboratorios realizan el diseño de las validaciones según el método de ensayo específico y de acuerdo al grado de validación requerido.

**Cuadro 1** - Condiciones que llevan a establecer la validación de un método de ensayo analítico.

¿Cuándo validar un método de ensayo?
Cuando se realiza por primera vez en el laboratorio un método normalizado (publicados como normas internacionales o nacionales, o por organizaciones técnicas reconocidas).
Con métodos no normalizados (métodos normalizados modificados o usados fuera de su alcance, publicado en literatura científica sin información de desempeño).
Frente a nuevos métodos diseñados y/o desarrollados por el laboratorio.
Cuando se introducen mejoras en la operativa o se extiende el alcance, de un método ya establecido, frente a un nuevo problema.
Cuando el control de calidad indica que un método ya establecido está cambiando con el tiempo.
Cuando, frente a un método establecido, hay cambios en los analistas, los reactivos, el ambiente o se realiza con diferentes equipos o instrumentos.
Para demostrar la equivalencia entre dos métodos, por ejemplo, entre un método nuevo y uno de referencia.
Frente al uso de kits de ensayo comerciales, cuya información de desempeño no está disponible, es incompleta o no es aplicable.

**PASOS A SEGUIR EN LA VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS DE ENSAYO**

Son varias las condiciones que establecen la necesidad de la validación (Cuadro 1) y para dicho proceso los laboratorios deben disponer de equipos e instrumentos que funcionan correctamente, calibrados y con los controles de calidad necesarios. Los estudios de validación implican beneficios para el laboratorio, proporcionando un conocimiento sólido y experiencia en los detalles prácticos para llevar a cabo el método, incluyendo el conocimiento de las etapas críticas del proceso (EURACHEM, 2016).

Las pruebas de validación se hacen con muestras provenientes de material de referencia certificado (con documentos que establecen la trazabilidad y expresan los valores con la incertidumbre y el nivel de confianza), o muestras con valor conocido de procedencia confiable, o resultados obtenidos en la participación en comparaciones interlaboratorios, o resultados obtenidos con otros métodos en laboratorios acreditados. En cada método de ensayo, dependiendo del tipo de método y origen del mismo (por ejemplo, si es normalizado o no), durante la planificación de la validación, se definen los parámetros a evaluar y la cifra de mérito que permite evaluar el desempeño (Cuadro 2).

**ALGUNOS EJEMPLOS DE LOS ENSAYOS VALIDADOS EN LA ESTANZUELA**

**Recuento de células somáticas en leche (Laboratorio de Calidad de Leche)**

El recuento de células somáticas por citometría de flujo es uno de los métodos de ensayo más practicados en el laboratorio.

Los resultados de este análisis se usan como indicador de sanidad de ubre y para la evaluación genética. Este método analítico se hace según el método internacional (ISO 13366/2 / IDF 148-2:2006 – Milk – Enumeration



**Figura 2** - Recuento de células somáticas en leche. Laboratorio Calidad de Leche, INIA La Estanzuela.

**Cuadro 2** - Parámetros de validación.

Parámetro	Descripción
Linealidad	Capacidad de obtener resultados proporcionales a la concentración del analito en un intervalo determinado.
Especificidad	Cuánto es afectada una determinación por otros componentes de la muestra.
Límite de detección	Valor mínimo que puede ser medido, con un nivel de confianza especificado.
Límite de cuantificación	Valor mínimo que se puede cuantificar en una muestra con niveles aceptables de exactitud y precisión.
Sensibilidad	Cociente entre la variación de una indicación de un sistema de medida y la variación correspondiente del valor de la magnitud de medida.
Exactitud	Proximidad entre un valor medido y un valor verdadero de un mensurando.
Repetibilidad	Precisión de medida bajo un conjunto de condiciones que incluyen el mismo procedimiento de medida, los mismos operadores, el mismo sistema de medida, las mismas condiciones de operación y el mismo lugar, así como mediciones repetidas en el mismo objeto o de un objeto similar en un corto período de tiempo.
Reproducibilidad	Precisión de medida bajo un conjunto de condiciones que incluyen diferentes lugares, operadores, sistemas de medida y mediciones repetidas de los mismos objetos u objetos similares.
Robustez	Capacidad de un método de ensayo de mantenerse sin cambio frente a pequeñas pero deliberadas variaciones.
Recuperación	Fracción conocida de analito agregado a la muestra incógnita (fortificada) previo al análisis; se realiza cuando no se puede separar el analito de la matriz.
Precisión	Proximidad entre valores medidos obtenidos en mediciones repetidas de un mismo objeto, o de objetos similares, bajo condiciones especificadas. La precisión se utiliza para definir la repetibilidad de la medida, la precisión intermedia y la reproducibilidad.
Rango de trabajo	Intervalo en el cual el método proporciona resultados con una incertidumbre aceptable. El extremo inferior está determinado por el límite de cuantificación y el superior definido por las concentraciones a las que se observan anomalías significativas en la sensibilidad analítica.
Incertidumbre	Parámetro asociado al resultado de una medida, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mensurando.

of somatic cells – Part 2: Guidance on the operation of fluoro-opto-electronic counters) que ya fue validado y probado al momento de elaborar la norma. Al adoptar el procedimiento, sin modificaciones, se realizaron verificaciones que aseguran el correcto funcionamiento del método (conocido como validación secundaria).

Se usaron muestras de ensayos interlaboratorio organizados por Redelac (INTI - Argentina) y Cecalait (Actalia - Francia). De los parámetros ya descriptos se seleccionaron para la evaluación: linealidad, repetibilidad, precisión y reproducibilidad.

Por las características de los equipos de citometría de flujo que se usan en este método, también se evaluaron dos parámetros específicos: chequeo del blanco (verifica que no haya contaminación con residuos dentro del sistema de medición) y acarreo (verifica que una porción de muestra no influya en el resultado de la siguiente).

### **Contenido de proteína cruda (Laboratorio de Nutrición Animal)**

Conocer el contenido de proteína cruda, junto a otros nutrientes mayoritarios de los alimentos para consumo animal, es fundamental para establecer la calidad nutricional y efectuar los ajustes de dieta. La Determinación de Nitrógeno y Proteína por Kjeldahl es uno de los análisis más requeridos por investigadores, productores y empresas en el laboratorio.

Este método analítico incluye diversas etapas que deben ser correctamente diseñadas y ejecutadas. Inicialmente la materia orgánica presente en la muestra es digerida con ácido sulfúrico en presencia de un catalizador, luego el producto de reacción se alcaliniza, se destila el amoníaco liberado y, finalmente, se titula. La etapa final implica cálculos y correlación entre porcentaje de nitrógeno y proteína.



Dado que este método de ensayo, tal cual se realiza en el laboratorio, no se encuentra normalizado, fue necesario realizar una validación completa. Los parámetros de desempeño que se evaluaron fueron: límite de detección, límite de cuantificación, linealidad, repetibilidad, precisión intermedia, rango de trabajo, veracidad e incertidumbre combinada y expandida; para cada uno de ellos se establecieron los criterios de aceptación.

Para la ejecución de la validación se usaron resultados de ensayos interlaboratorio provistos por Bipea (Francia), muestras de dichos programas de interlaboratorio, sustancias de referencia y muestras de rutina del laboratorio.

### CONSIDERACIONES FINALES

Trabajar bajo Sistemas de Gestión de la Calidad, validando los métodos en los laboratorios, asegura la generación de datos precisos, reproducibles y veraces que sustentan la producción científica y son insumos para la toma de decisiones en el sector productivo. Es una oportunidad de mejora que los laboratorios de INIA sigan los lineamientos de la ISO/IEC 17025:2015.

La validación de los métodos analíticos implica obtener resultados robustos y confiables en los cuales basar la toma de decisiones.

### BIBLIOGRAFÍA

Eurolab España. P.P. Morillas y colaboradores. Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos - Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados (1a ed. 2016).

JCGM 200:2012, Vocabulario Internacional de Metrología - Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados (VIM), 3ª Edición en español 2012, Traducción de la 3ª edición del VIM 2008, con inclusión de pequeñas correcciones.

Guía CG4 EURACHEM/CITAC Cuantificación de la Incertidumbre en Medidas Analíticas. Tercera Edición Inglesa, Primera Edición Española. EURACHEM/CITAC Guide Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. Third Edition, Editors S L R Ellison (LGC, UK) A Williams (UK).

International Organization for Standardization (2015). ISO 9000:2015 - Sistemas de gestión de la calidad - Fundamentos y vocabulario.



Figura 3 - Contenido de proteína cruda. Laboratorio de Nutrición Animal, INIA La Estanzuela.