

Validación de métodos de ensayo

Introducción

La validación de un método de ensayo es un requisito primordial cuando deseamos obtener resultados técnicamente válidos, exactos y confiables. Sin embargo, el conocimiento de la importancia de la validación, de porqué debe hacerse, cuándo debe hacerse, y saber exactamente lo que necesita realizarse, parece ser insuficiente.

Muchas orientaciones relacionadas con los métodos de validación son ofrecidas en la literatura científica, especialmente sobre métodos particulares de análisis y medición, pero la mayoría de las veces éstas no son utilizadas adecuadamente. Algunos analistas ven el proceso de validación del método como algo que sólo puede hacerse de una forma externa al laboratorio, en colaboración con otros laboratorios. Por consiguiente, no desarrollan protocolos internos de validación que son de gran ayuda en numerosas situaciones, además de ser técnicamente factibles.

La validación del método es necesaria ya que permite conocer los parámetros de desempeño del método y proporcionar un alto grado de confianza y seguridad en el método y en los resultados que se obtienen al aplicarlo.

La Norma COVENIN-ISO 9000:2000 define a la validación como:

“La confirmación por examen y el suministro de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos particulares para una utilización o aplicación específica prevista”.

Aplicando el concepto de validación al ensayo podemos definir que la validación de un método de ensayo es el proceso que establece, mediante amplios estudios de laboratorio, que los parámetros de

desempeño del método de ensayo cumplen las especificaciones relacionadas con el uso previsto de los resultados del ensayo.

La calificación de “adecuado para el uso”, aplicada a un método de ensayo o calibración, es una garantía de que la influencia del método sobre el resultado de la medición está bajo control, al realizar el análisis del proceso de medición como sistema, único enfoque que evalúa integralmente el proceso de medición.

¿Qué es la validación del método de ensayo?

Se puede interpretar la validación del método de ensayo como el proceso de definir un requisito (por ejemplo un requisito analítico) y confirmar que el método de ensayo bajo consideración tiene capacidades de desempeño consistentes con lo que la aplicación requiere. Por consiguiente, como algo implícito, es necesario evaluar la capacidad de desempeño del método. El juicio de la conveniencia del método es importante; en el pasado la validación del método se tendió a concentrar en el proceso de evaluación de los parámetros de desempeño.

También, está implícito en el proceso de validación del método que los estudios para determinar los parámetros de desempeño del método son llevados a cabo utilizando equipos que están trabajando correctamente dentro su especificación y adecuadamente calibrados. Igualmente, el analista que lleva a cabo los estudios debe ser competente y tener conocimiento suficiente en el campo de trabajo, lo que le facilita poder tomar decisiones apropiadas a partir de las observaciones realizadas o de los progresos del estudio.

La validación se considera muy cercana al desarrollo del método, de hecho no es a

menudo posible determinar exactamente donde finaliza el desarrollo de método y comienza la validación. Es por ello que muchos de los parámetros de desempeño del método que están asociados con la validación del método son evaluados como parte del desarrollo del método.

La validación como requisito de la Norma COVENIN 2534:2000.

Entre los requisitos técnicos establecidos en la norma COVENIN 2534:2000 (ISO/IEC 17025:1999) se encuentra la validación de métodos (apartado 5.4.5), con ello se garantiza que el laboratorio analice y tenga bajo control uno de los factores que incide en la confiabilidad y exactitud de los resultados que informa.

En el alcance del requisito, para confirmar que los métodos que utiliza el laboratorio se ajustan al uso propuesto, se establece la validación de:

- Métodos no normalizados.
- Métodos diseñados o desarrollados por el laboratorio.
- Métodos normalizados usados fuera de su alcance proyectado.
- Métodos normalizados que han sido ampliados o modificados.

El requisito establece de forma obligatoria que:

- El laboratorio debe registrar los resultados obtenidos, el procedimiento utilizado para la validación y declarar la conformidad acerca de lo apropiado del método de ensayo para el uso previsto.
- El rango y la exactitud de los valores (parámetros de desempeño) que se obtienen con los métodos validados (incertidumbre de la medición, límite de detección, selectividad, linealidad, repetibilidad, reproducibilidad, robustez, etc.) tal como fueron evaluados para el uso previsto, deben

ser pertinentes a las necesidades del cliente.

El requisito sugiere que:

- La validación sea tan extensiva como el propio método de ensayo lo requiera y pueda incluir los procesos relacionados con el muestreo, el manejo y el transporte de la muestra.
- Entre las técnicas disponibles para determinar los parámetros de desempeño del método de ensayo se aplique la calibración mediante patrones de referencia o materiales de referencia, la comparación de los resultados con otros métodos de ensayo, las comparaciones interlaboratorios y la evaluación de la incertidumbre.
- La validación incluya la especificación de los requisitos, la determinación de las características de los métodos, la verificación de que los requisitos pueden cumplirse por el método usado, y una declaración sobre la validez.
- La validación sea siempre, desde el punto de vista práctico, un equilibrio entre costos, riesgos y posibilidades técnicas.

Estrategia para la validación de métodos de ensayo.

La validez de un método específico debe demostrarse con experimentos de laboratorio utilizando muestras o patrones que sean similares a las muestras desconocidas analizadas rutinariamente. La preparación y ejecución debe seguir un protocolo de validación, preferiblemente escrito en un procedimiento paso a paso. Los posibles pasos para una validación completa del método de ensayo se enumeran a continuación:

1. Desarrollar un procedimiento de validación.

2. Definir la aplicación, propósito y alcance del método.
3. Definir los parámetros de desempeño y criterios de aceptación.
4. Definir los experimentos de validación.
5. Verificar las características pertinentes de los equipos.
6. Cualificar materiales; por ejemplo patrones y reactivos.
7. Realizar experimentos de prevalidación.
8. Ajustar los parámetros del método y criterios de aceptación, si es necesario.
9. Realizar completamente los experimentos internos (y externos) de validación.
10. Desarrollar un procedimiento normalizado de operación para ejecutar el método rutinariamente.
11. Definir los criterios para la revalidación.
12. Definir el tipo y la frecuencia de las pruebas apropiadas del sistema y las comprobaciones del control de la calidad para la rutina.
13. Documentar los experimentos de validación y los resultados en un informe de validación.

¿Quién es el responsable de que el método que utiliza el laboratorio se encuentre validado?

El laboratorio que utiliza un método de ensayo determinado es el responsable por asegurar que el método haya sido validado. En ciertos casos el laboratorio debe llevar cabo trabajo adicional para complementar los datos existentes sobre la validación. Por ejemplo, cuando un método ha sido validado por organizaciones que publican normas, tales como la AOAC (Association of Official Analytical Chemists) y la ASTM (American

Society for Testing and Materials), el usuario sólo necesita establecer los datos de desempeño para su propio uso del método. En esta situación el laboratorio debe confirmar que su desempeño se ajusta al previsto por el método.

Mucho se ha publicado en la literatura acerca de la validación de métodos de ensayo mediante comparaciones interlaboratorio. Hay numerosos documentos que relacionan este tipo de validación. Si se desarrolla un método de ensayo con amplias perspectivas de uso, quizás como un procedimiento normalizado publicado, entonces, una comparación que involucre un grupo de laboratorios es probablemente la manera preferida de llevar a cabo la validación. Sin embargo, no siempre es una opción conveniente para los laboratorios de ensayo industriales. La aplicación para la que el método se requiere puede ser secreta, en tal magnitud que ningún otro laboratorio estaría interesado en colaborar. Aquellos que podrían estar interesados serían los competidores. Cuando para un laboratorio no es conveniente o posible participar en un comparación, se originan varias interrogantes:

- ¿Pueden los laboratorios validar sus métodos de ensayo?, en caso afirmativo, ¿cómo?
- ¿Serían reconocidos los métodos de ensayo validados de esta manera por otros laboratorios?
- ¿Qué nivel de reconocimiento puede esperarse para los métodos desarrollados internamente?

Trabajar aisladamente reduce inevitablemente la cantidad de datos de validación que pueden recolectarse para un método de ensayo. Si es necesario trabajar de esa manera, es posible obtener una idea de la equivalencia de los resultados de cualquier método de ensayo con otros resultados obtenidos en otra parte, mediante la utilización de

materiales de referencia certificados o la comparación del método de ensayo contra uno validado.

La aceptación o no de los métodos de ensayo validados en un sólo laboratorio, para propósitos de regulación, depende de cualquier directiva que cubra el área concerniente a la medición. Normalmente es posible obtener una declaración clara de la política del cuerpo regulador apropiado. Varios organismos reguladores establecen que cuando un laboratorio utiliza un método sin referencia a un método validado por una autoridad, el laboratorio debe demostrar que el método ha sido totalmente documentado y probado tomando como referencia la norma apropiada correspondiente a un método de referencia, emitida por una autoridad. El laboratorio debe demostrar que se ha establecido lo siguiente:

- a) Las tolerancias requeridas de todas las mediciones realizadas dentro del método;
- b) Las formas de determinación del mensurando, incluyendo su especificación;
- c) El efecto de las posibles interferencias se ha investigado ampliamente y se ha cuantificado;
- d) Una identificación de las fuentes significativas de error y los medios adecuados de controlarlos;
- e) Un estimado de la incertidumbre de la medición, siempre que sea posible.

Organizaciones como la AOAC y la ASTM han sido siempre partidarias de las comparaciones interlaboratorios como la manera preferida de validar métodos de ensayo.

¿Qué grado de validación se requiere?

El laboratorio tiene que decidir cuáles parámetros de desempeño del método necesitan caracterizarse para validar el método. La caracterización del desempeño

del método es un proceso caro e inevitablemente puede ser acortado por el tiempo y consideraciones del costo.

Comenzar con una especificación cuidadosamente considerada proporciona una buena base sobre la cual planificar el proceso de validación, pero se reconoce que en la práctica esto no es siempre posible. El laboratorio debe hacerlo mejor que pueda dentro de la restricción impuesta, tomando en cuenta los requisitos del cliente, la experiencia existente del método y la necesidad de compatibilidad con otros métodos similares ya en uso dentro del laboratorio o utilizados por otros laboratorios.

Algunos de los parámetros pueden haberse determinados aproximadamente durante la fase de desarrollo del método. A menudo un conjunto particular de experimentos puede suministrar información sobre varios parámetros; de esta forma, el esfuerzo requerido para conseguir la información necesaria puede ser minimizado con una esmerada planificación.

Las implicaciones de las restricciones discutidas anteriormente son particularmente críticas cuando el método no va ser usado en una base rutinaria. La validación de los métodos que van a ser usados en una base rutinaria es comparativamente un proceso más simple. Sin embargo, ¿debe el mismo proceso de validación ser aplicado a los análisis ad-hoc? Claramente, los mismos principios aplican en cuanto a la rutina de ensayo. Es necesario tener un nivel adecuado de confianza en los resultados producidos; de lo contrario, el trabajo que se está haciendo no tiene valía. Es llamativo que el balance de las restricciones entre tiempo y costos y la necesidad de validar el método es difícil, y en algunas circunstancias puede ser más apropiado subcontratar el trabajo a otro laboratorio donde puede ser realizado el análisis rutinariamente.

Los requisitos de la validación pueden especificarse a través de directrices dentro de un sector particular de medición pertinente al método y se recomienda que donde estén disponibles la directrices éstas sean seguidas. Por ejemplo, la validación de un método para el análisis de alimentos debe ser consistente con la estrategia de validación utilizada por la AOAC. Esto asegura que la terminología particular de validación junto con la estadística usada sean interpretadas de una manera consistente dentro del sector pertinente. El reconocimiento oficial de un método puede requerir su caracterización utilizando un estudio de colaboración. Los requisitos regulatorios pueden exigir que un método particular sea seguido al pie de la letra, aunque el laboratorio considere que es anticuado o inexacto. En este caso se necesita una validación adicional para confirmar el desempeño satisfactorio del analista.

Los parámetros de desempeño del método.

Para demostrar que un método es adecuado para la aplicación que se pretende es preciso determinar mediante estudios de laboratorio sus parámetros de desempeño, que pueden incluir:

- a. Selectividad / Especificidad.
- b. Límite de detección.
- c. Límite de cuantificación.
- d. Linealidad / Función respuesta.
- e. Sesgo.
- f. Precisión.
- g. Incertidumbre de la medición.
- h. Sensibilidad.
- i. Robustez.
- j. Intervalo de trabajo / rango.

Evaluación de los parámetros de desempeño.

Los parámetros de desempeño que son necesarios determinar difieren según el alcance del método de ensayo a validar (ver la tabla 1).

Pueden ser considerados los tipos de ensayos siguientes:

- a. Métodos de identificación.
- b. Determinación cuantitativa de un componente.
- c. Determinación cualitativa de un componente.

Tabla 1. Relación entre los tipos de ensayos y los parámetros de desempeño.

Tipo de Ensayo	Parámetro de Desempeño
Identificación	Selectividad / Especificidad
Determinación cuantitativa de un componente	Intervalo de trabajo Linealidad / Función respuesta / Sensibilidad Selectividad / Especificidad Precisión Exactitud Límite de cuantificación Incertidumbre Robustez
Determinación cualitativa	Selectividad / Especificidad Límite de detección

Utilización de métodos validados.

Cuando utilizamos un método que ya ha sido previamente validado, hay dos aspectos que necesitan considerarse:

En primer lugar, ¿son los datos existentes de la validación adecuados para los propósitos requeridos, o es necesario llevar a cabo estudios complementarios de validación?

En segundo lugar, ¿si los datos existentes de la validación son adecuados, es el laboratorio capaz de lograr el nivel

de desempeño exigido en el método?, en otras palabras:

- ¿Es el analista suficientemente competente?
- ¿Son los equipos disponibles y las instalaciones del laboratorio adecuadas?

Si el método ha sido validado por un ensayo extensivo bajo todas las condiciones de operación extremas, entonces un analista competente probablemente operará satisfactoriamente dentro del desempeño de los datos existentes, aunque realmente es más pertinente verificar el desempeño del analista contra lo que es requerido por la especificación, en lugar de contra los datos existentes publicados. Sin embargo, siempre se debe por lo menos comprobar que el analista es capaz de alcanzar el desempeño requerido por el laboratorio. El nivel de desempeño que el analista puede lograr con el método es importante, no lo que otros analistas han logrado en el pasado.

Utilización de los datos de la validación para diseñar el control de la calidad.

La validación del método da una idea de los parámetros de desempeño y las limitaciones que pueden ser experimentadas con el uso rutinario del método. Cuando el laboratorio utiliza el método, es necesario aplicar controles específicos para verificar que el método permanece en control, es decir, está actuando en la manera esperada.

Durante la etapa de validación el método es aplicado a muestras de contenido y valor conocido. Una vez que el método es aplicado por el laboratorio de forma rutinaria, éste es utilizado para muestras de contenido desconocido permitiéndole al analista determinar el valor de la muestra que es ensayada. Para decidir si la variedad de respuestas obtenidas reflejan

verdaderamente la diversidad de muestras analizadas, o si ocurren cambios inesperados o no deseados en el desempeño del método, debemos analizar muestras de valor conocido (muestras de control de la calidad). En la práctica, las muestras de control de la calidad deben medirse en cada lote de muestras que es analizado por el laboratorio, como parte del proceso de control de calidad.

Las características de las actividades de control de la calidad llevadas a cabo por el laboratorio dependerán de la naturaleza, criticidad y frecuencia del análisis, tamaño del lote, grado de automatización y complejidad del ensayo, y también de las lecciones aprendidas durante el proceso de desarrollo y validación del método. Las actividades de control de la calidad pueden abarcar el control interno de la calidad y el control externo de la calidad.

Documentación de métodos validados.

Una vez que el proceso de validación es completado, es importante documentar los procedimientos para que el método pueda ser claramente e inequívocamente implementado. Hay varias razones para hacer esto. Las diferentes valoraciones del método llevadas a cabo durante el proceso de validación asumen que, en uso, el método se utilizará de la misma manera cada vez. Si no es así, entonces el desempeño real del método no corresponderá al desempeño real predicho por los resultados de la validación. Por consiguiente, la documentación debe limitar su alcance para que no se introduzcan variaciones accidentales al método. Además, es necesaria la documentación apropiada para propósitos de evaluación y auditorías y también puede ser requerida para propósitos contractuales o regulatorios.

La documentación apropiada del método ayudará a asegurar que la aplicación del método en una ocasión sea consistente con la próxima.

Como la calidad de la documentación de un método tiene un efecto directo en la aplicación consistente del mismo, la documentación influye, por consiguiente, en la reproducibilidad y en la estimación de la incertidumbre asociada. De hecho, la contribución de incertidumbre asociada con la documentación inadecuada podría ser tan grande que el método sería eficazmente inútil. Cualquiera anomalía en la documentación debe solucionarse.

No es fácil documentar un método adecuadamente. La información debe aparecer aproximadamente en el orden que se espera que el usuario la necesite. Un problema común es asumir que todos comprenden la mecánica del método descrito, en la misma magnitud que la persona que ha desarrollado y documentado el método. Esta suposición puede ser peligrosa. Una manera útil de probar la documentación, por medio de un colega competente, es llevar a cabo el trabajo exactamente en la forma descrita, a través de la documentación. Si la aplicación del método corresponde con lo que fue deseado, el método documentado entonces puede ser usado por una variedad de analistas y entregar resultados consistentes. Si no es así, entonces es necesario volver a escribir los procedimientos con más detalle y disminuir la ambigüedad.

Un laboratorio que documenta sus propios métodos se puede beneficiar bien desarrollando su propio estilo. Además, puede presentar la información pertinente en una forma lógica, fácil de usar, e incluso escrita por varios autores.

Los métodos documentados forman una parte importante del sistema de gestión de la calidad de un laboratorio y deben ser sujetos a los requisitos establecidos para el control de la documentación del sistema de gestión de la calidad del laboratorio. El propósito es asegurar que son utilizados

realmente los métodos y procedimientos que fueron aprobados como apropiados para el uso. Por consiguiente, como parte del proceso de gestión de la documentación, los métodos deben llevar la información que posibilite al usuario juzgar si el método ha sido aprobado para el uso y si está completo. Otra información que debe estar disponible es la relacionada con el número de la versión, la fecha de aprobación del método; las personas que participan en la elaboración, revisión y aprobación del método; cuántas copias del método existen; y cualquier restricción sobre el copiado.

Referencias

1. LGC/VAM: Development and harmonisation of measurement uncertainty principles. Part (d): Protocol for uncertainty evaluation from validation data. 2000.
2. EURACHEM/CITAC Guide. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. 1998.
3. COVENIN 2534:2000 (ISO/IEC 17025:1999). Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración.
4. COVENIN 2552:1999 (OIML V2:1993) Vocabulario internacional de términos básicos y generales en metrología.
5. COVENIN-ISO 9000:2000. Sistemas de Gestión de la Calidad. Fundamentos y Vocabulario.

Preguntas y comentarios

Dirigirlas por correo electrónico a la siguiente dirección:
laboratorio@lysconsultores.com.



NOTAS TÉCNICAS PUBLICADAS

- NT 001/03** Organización de Comparaciones Interlaboratorio para Laboratorios de Calibración.
<http://www.lysconsultores.com/nt001.htm>
- NT 002/03** Trazabilidad de las Mediciones.
<http://www.lysconsultores.com/nt002.htm>
- NT 003/03** La Acreditación de Laboratorios un Reconocimiento de Competencia Técnica.
<http://www.lysconsultores.com/nt003.htm>

Temas de las próximas notas técnicas...

Verificación y Calibración.

Validación de Software.

Errores de los Procesos de Medición.

Utilización de Gráficos de Control en el Laboratorio.

Cálculo de la Incertidumbre de la Medición en el Laboratorio de Ensayo.

¿Cuáles temas le gustaría que analicemos en las próximas NOTAS TÉCNICAS?



Contáctenos

