



PUBLICACIÓN TÉCNICA
CNM-MRD-PT-030

MÉTODOS ANALÍTICOS ADECUADOS A SU PROPÓSITO

Guía de Laboratorio para la Validación de
Métodos y Temas Relacionados
Segunda Edición

Traducción de la obra original en inglés:

The Fitness for Purpose of Analytical Methods

A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.

Primera Edición 1998

Desarrollada por:



Los Cués, Qro., México
Noviembre de 2005

Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito

Guía de Laboratorio para la Validación de Métodos y Temas Relacionados



Este documento ha sido desarrollado por un Grupo de Trabajo de EURACHEM a partir de un anteproyecto producido originalmente por el LGC. Los miembros del grupo de EURACHEM son:

Prof P de Bievre	IRMM, Belgium
Dr D Böttger	Hoechst AG, Germany
Dr C Eastwood	Zeneca Specialties, UK
Prof J Hlavay	University of Veszprem, Hungary
Mr M Holmgren	SP, Sweden (Eurolab Secretariat)
Dr W Horwitz	Food and Drug Administration, USA
Dr M Lauwaars	AOAC International, The Netherlands
Dr B Lundgren	SP, Sweden
Prof L Massart	Vrije Universiteit Brussel, Belgium
Prof J Miller	University of Loughborough, UK
Dr J Morkowski	EMPA, Switzerland
Dr B te Nijenhuis	Working Party on Analytical Chemistry (Secretary), The Netherlands
Ms B Nyeland	National Environment Research Institute, Denmark
Dr R Philipp	BAM, Germany
Dr P Radvila	EMPA St Gallen, Switzerland
Prof J Smeyers-Verbeke	Vrije Universiteit Brussel, Belgium
Dr R Stephany	RIVM, The Netherlands
Dr M Suchanek	Prague Institute of Chemical Technology, Czech Republic
Ms C Vandervoort	Dr L Willems Instituut vzw, Belgium
Dr H Verplaetse	Ministry of Economic Affairs - Central Laboratory, Belgium
Ms H Wallien	VTT, Finland
Dr M Walsh	The State Laboratory, Ireland
Prof W Wegscheider	Leoben University of Mining & Metallurgy, Austria
Dr D Westwood	Environment Agency, UK
Mr H J van de Wiel	RIVM, The Netherlands

PREFACIO A LA EDICIÓN EN INGLÉS

El documento original en inglés fue desarrollado por un Grupo de Trabajo de EURACHEM a partir de un anteproyecto producido originalmente por el LGC. Los miembros del grupo de EURACHEM están listados en el Anexo C.

Los fondos del Reino Unido para la elaboración y publicación de la obra original fueron aportados en parte bajo contrato con el Departamento de Comercio e Industria del Reino Unido como parte del Programa de Validación de la Medición Analítica (VAM) del Sistema Nacional de Medición.

Los comentarios sobre este documento, favor de ser enviados a:

Sr. David Holcombe

Secretario del Anteproyecto para el Grupo de Trabajo de EURACHEM

LGC, Queens Rd, Teddington, Middlesex, TW11 OLY, Reino Unido

dgh@lgc.co.uk

Edición en Inglés 1.0 – 1998

ISBN: 0-948926-12-0

DERECHOS RESERVADOS

Los derechos sobre este documento son propiedad de las organizaciones representadas por los miembros del grupo de trabajo según se señalan en la lista del Anexo C. Todos los derechos están reservados. Esta guía puede ser obtenida para uso personal y no comercial, pero ninguna parte de esta guía puede ser distribuida, publicada o archivada en cualquier tipo de sistema por ninguna persona que no sean los miembros de la EURACHEM, sin el consentimiento por escrito del Secretariado de la EURACHEM. Así mismo, toda solicitud de información concerniente a la traducción, producción y distribución de nuevas ediciones de esta guía deberán ser dirigidas al Secretariado de la EURACHEM (<http://www.eurachem.ul.pt/>).

Derechos reservados "Copyright © LGC (Teddington) Ltd, 1998"

PREFACIO A LA EDICIÓN EN ESPAÑOL

El presente documento es una traducción de la obra original en inglés “The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics”, Primera Edición, de EURACHEM y fue realizada en el Área de Metrología de Materiales del CENAM, con la autorización del Secretariado de la EURACHEM, con el propósito de apoyar el trabajo de los laboratorios de ensayo y al público de habla hispana interesado sobre la validación de métodos.

Tal y como se indica en la obra original en inglés de este documento, la guía puede ser traducida a otros idiomas, pero si surgiese cualquier controversia sobre la interpretación del documento, la versión en inglés se tomará como la definitiva.

La versión original en inglés puede obtenerse en la siguiente dirección:
<http://www.eurachem.ul.pt/guides/valid.pdf>

La primera edición de la versión en español de esta obra fue realizada por:

Martha Elba Pedrero Izquierdo

Esta segunda edición estuvo a cargo de:

Juan A. Guardado Pérez
Flora E. Mercader Trejo

Contenido

1.	Prefacio	5
2.	Introducción	6
3.	¿Qué es la validación de un método?	7
4.	¿Por qué es necesaria la validación de un método?	8
	(a). Importancia de las mediciones analíticas	8
	(b). El deber profesional del químico analítico	8
5.	¿Cuándo deben validarse los métodos?	9
6.	¿Cómo deben validarse los métodos?	9
	(a) ¿Quién lleva a cabo la validación del método?	9
	(b) Decidiendo que grado de validación se requiere	11
	(c) Requisitos Analíticos	12
	(d) Desarrollo del Método	14
	(e) Los diferentes parámetros de desempeño de un método y lo que éstos muestran	15
	(f) Las herramientas de la validación:	30
7.	Uso de métodos validados	33
8.	Uso de los datos de validación para diseñar el control de calidad	34
9.	Documentación de los métodos validados	37
10.	Implicaciones de la validación de los datos para calcular resultados y para realizar informes.	39
11.	Referencias y Bibliografía	41
	ANEXO A - Definiciones	47
	ANEXO B - PROTOCOLO DE DOCUMENTACIÓN DE MÉTODOS	62
	ANEXO C - GRUPO DE TRABAJO DE EURACHEM	67

MÉTODOS ANALÍTICOS ADECUADOS A SU PROPÓSITO

Guía del Laboratorio para la Validación de Métodos y Temas Relacionados

1. Prefacio

En el Reino Unido una iniciativa para promover la buena práctica de laboratorio en las mediciones analíticas, ha identificado seis principios de la práctica analítica los cuales, tomados en conjunto, se consideran para constituir la mejor práctica. Los seis principios, los cuales se describen con más detalle en otra guía ^[1], son:

1. "Las mediciones analíticas deben realizarse para satisfacer un requisito acordado" (es decir, con un objetivo definido).
2. "Las mediciones analíticas deben realizarse utilizando métodos y equipos que han sido probados para asegurar que son adecuados a su propósito".
3. "El personal que realiza las mediciones analíticas debe ser calificado y competente para emprender la tarea asignada" (y demostrar que pueden desempeñar el análisis apropiadamente).
4. "Deberá existir una evaluación periódica e independiente del desempeño técnico de un laboratorio".
5. "Las mediciones analíticas hechas en un laboratorio deben ser consistentes con aquéllas que se realicen en cualquier otro laboratorio".
6. Las organizaciones que hacen mediciones analíticas deben tener procedimientos bien definidos de control y de aseguramiento de calidad".

Estos principios son igualmente importantes para los laboratorios que trabajan aisladamente como para aquéllos que producen resultados que necesitan ser comparados con los de otros laboratorios.

La intención principal de este documento es apoyar a los laboratorios en la implementación del Principio 2, proporcionando una guía sobre la evaluación de métodos de prueba con el fin de demostrar que éstos son adecuados a su propósito.

2. Introducción

- 2.1 La validación de un método es un requisito importante en la práctica del análisis químico. Sin embargo, la percepción de su importancia, porqué debe hacerse y cuándo, y exactamente que necesita hacerse, parece ser deficiente entre los químicos analíticos. En la literatura técnica existe ya mucha información relacionada a la validación de métodos, especialmente en lo que concierne a métodos específicos, pero muy frecuentemente es subutilizada. Algunos analistas ven la validación de métodos como algo que sólo puede hacerse en colaboración con otros laboratorios y por consiguiente no la realizan.
- 2.2 El propósito de esta guía es discutir los aspectos relacionados a la validación de métodos e incrementar la comprensión de los lectores de lo que está involucrado, de porqué es importante y dar alguna idea de como puede lograrse.
- 2.3 Se espera que esta guía sea de gran utilidad para a) gerentes de laboratorio quienes son responsables de asegurar que los métodos bajo su responsabilidad están adecuadamente validados y b) los analistas responsables de llevar a cabo estudios sobre métodos con propósitos de validación. Algún otro miembro del personal puede encontrar la guía como fuente de información de soporte - personal experimentado, desde un punto de vista gerencial y personal nuevo, desde un punto de vista técnico.
- 2.4 La guía está dirigida a los laboratorios que necesitan validar métodos pero que trabajan aislados y no tienen la posibilidad inmediata de participar en ensayos de colaboración. La guía pretende dirigir al lector hacia los protocolos establecidos si éstos existen y cuando no, da una introducción sencilla al proceso involucrado en la validación y proporciona algunas ideas básicas que permitan al lector diseñar sus propias estrategias de validación. Esto incluye referencias a material bibliográfico adicional sobre aspectos técnicos específicos de la validación.
- 2.5 La guía evita con gran énfasis el uso de la estadística aunque indudablemente aquéllos con conocimientos prácticos de estadística básica encontrarán el proceso de validación de métodos más fácil de entender e implementar. Donde es apropiado, se han incluido las fórmulas en las definiciones del Anexo A.
- 2.6 La comprensión del analista sobre la validación del método se ve limitada por el hecho de que muchos términos técnicos utilizados en los procesos para evaluar métodos varían en los diferentes sectores de las mediciones analíticas, tanto en términos de su significado así como también en la forma en que son determinados. Esta guía no puede decir si un término es usado correcta o incorrectamente aunque pretende proporcionar algunas aclaraciones. El mejor consejo cuando se usa un término sujeto a mala interpretación, es establecer que acuerdo se ha usado, así se evita cualquier confusión de otros usuarios de los datos.

2.7 Notas sobre el uso de esta guía:

- 2.7.1 Los términos más importantes utilizados en la guía se definen en el Anexo A. Las definiciones de ISO e IUPAC se han proporcionado cuando ha sido posible. Los usuarios deben notar que no hay un acuerdo universal sobre la definición de algunos de los términos utilizados en validación de método.
- 2.7.2 En el capítulo 6, los cuadros sombreados proporcionan consejos claves de referencia para determinar cada parámetro de desempeño del método. Sin embargo, se reconoce que en muchos casos los laboratorios no tendrán el tiempo ni los recursos para realizar los experimentos con tal detalle. Llevando a cabo las operaciones descritas en los cuadros y utilizando menos réplicas que las sugeridas, aún así se obtendrá información útil y ciertamente esto es mejor que no hacer trabajo alguno. Sin embargo, la información obtenida será menos confiable que si se utiliza un número completo de réplicas.

3. ¿Qué es la validación de un método?

- 3.1 La definición ISO de **validación** se da en el Anexo A. Ésta se puede interpretar para la **validación de un método** como el proceso de definir una necesidad analítica y confirmar que el método en cuestión tiene capacidades de desempeño consistentes con las que requiere la aplicación. Está implícita la necesidad de evaluar las capacidades de desempeño del método. Esto concuerda con la interpretación de la definición ISO de Morkowski ^[2]. El criterio de la “conveniencia” del método es importante; en el pasado la validación del método tendía a concentrarse sobre el proceso de evaluación de los parámetros de desempeño.
- 3.2 En el proceso de validación del método está implícito que los estudios para determinar los parámetros de desempeño se realizan usando equipos dentro de especificaciones, que están trabajando correctamente y que están calibrados adecuadamente. Asimismo, el operador que realiza los estudios debe ser técnicamente competente en el campo de trabajo bajo estudio y debe poseer suficiente conocimiento sobre el trabajo a realizar con el fin de que sea capaz de tomar decisiones apropiadas a partir de las observaciones hechas mientras avanza el estudio.
- 3.3 Generalmente se considera que la validación del método está ligada estrechamente con el desarrollo del método. De hecho, no es posible determinar exactamente donde termina el desarrollo del método y donde empieza la validación. Por lo general, muchos de los parámetros de desempeño del método que están asociados a su validación son evaluados, por lo menos aproximadamente, como parte del desarrollo del método.

4. ¿Por qué es necesaria la validación de un método?

(a). Importancia de las mediciones analíticas

- 4.1 Millones de mediciones analíticas se realizan diariamente en miles de laboratorios alrededor del mundo. Hay innumerables razones para realizar esas mediciones, por ejemplo: como una forma de evaluar bienes para propósitos de comercio; como apoyo a la salud; para verificar la calidad del agua para consumo humano; el análisis de la composición elemental de una aleación para confirmar su conveniencia en la construcción de aeronaves; en análisis forenses de fluidos corporales en investigaciones criminales. Virtualmente, cada aspecto de la sociedad está apoyada de algún modo por mediciones analíticas.
- 4.2 El costo de realizar estas mediciones es elevado y surgen costos adicionales de las decisiones tomadas en base a los resultados. Por ejemplo, las pruebas que muestran que algún alimento no es adecuado para su consumo pueden resultar en demandas por compensación; pruebas que confirmen la presencia de drogas prohibidas podrían ocasionar multas, encarcelamiento o más aún, la ejecución en algunos países. Claramente es importante determinar el resultado correcto y ser capaz de demostrar que lo es.

(b). El deber profesional del químico analítico

- 4.3 Si el resultado de una prueba no es confiable entonces tiene poco valor y la prueba no debió haberse realizado así. Si un “cliente” encarga un trabajo analítico a un laboratorio, se supone que el laboratorio tiene un nivel de conocimiento experto que el cliente no tiene por sí mismo. El cliente espera poder confiar en los resultados reportados y por lo general sólo los cuestiona cuando surge una controversia. De este modo, el laboratorio y su personal tienen una clara responsabilidad de corresponder a la confianza del cliente proporcionando la respuesta correcta a la parte analítica del problema, en otras palabras, proporcionando resultados que han demostrado ser “adecuados a su propósito”. Esto lleva implícito que las pruebas realizadas son apropiadas para la parte analítica del problema que el cliente desea resolver y que el informe final presenta los datos analíticos de tal manera que el cliente pueda entenderlos fácilmente y sacar conclusiones apropiadas. La validación del método permite a los químicos demostrar que el método es “adecuado para su propósito”.
- 4.4 Para que un resultado analítico concuerde con el propósito requerido, debe ser lo suficientemente confiable para que cualquier decisión basada en éste pueda tomarse con confianza. Así, el desempeño del método debe validarse y debe estimarse la incertidumbre del resultado a un nivel de confianza dado. La incertidumbre deberá ser evaluada y establecida de una forma que sea ampliamente reconocida, consistente de forma interna y fácil de interpretar. La mayor parte de la información requerida para evaluar la incertidumbre se puede obtener durante la validación del método. Este tema se estudia brevemente en la sección 6; en la bibliografía se dan referencias adicionales.

4.5 A pesar de lo bueno que es un método y de lo bien que se ha usado, un problema analítico puede resolverse mediante el análisis de muestras sólo si éstas son apropiadas al problema. La toma adecuada de las muestras es un trabajo de gran habilidad que requiere entender el problema con su química asociada. Un laboratorio, como parte de la atención al cliente, deberá, siempre que sea posible, aconsejarlo sobre la forma de tomar las muestras. Obviamente, habrá ocasiones en que el laboratorio no podrá ni influir ni tomar él mismo las muestras. En estas ocasiones los resultados de análisis tendrán que ser reportados en base a como se recibieron las muestras y el informe debe indicar esta distinción claramente.

5. ¿Cuándo deben validarse los métodos?

5.1. Un método debe validarse cuando sea necesario verificar que sus parámetros de desempeño son adecuados para el uso en un problema analítico específico. Por ejemplo:

- un nuevo método desarrollado para un problema específico;
- un método ya establecido revisado para incorporar mejoras o extenderlo a un nuevo problema;
- cuando el control de calidad indica que un método ya establecido está cambiando con el tiempo;
- un método establecido usado en un laboratorio diferente o con diferentes analistas o con diferente instrumentación;
- para demostrar la equivalencia entre dos métodos, por ejemplo, entre un método nuevo y uno de referencia.

5.2. El alcance de la validación o la revalidación requerida dependerá de la naturaleza de los cambios hechos al aplicar un método a diferentes laboratorios, instrumentación, operadores y circunstancias en las cuales el método va a ser utilizado. Siempre es apropiado algún grado de validación, aun cuando se usan métodos aparentemente bien caracterizados ya sean de referencia o publicados. Este aspecto se trata con más detalle en la sección 7.

6. ¿Cómo deben validarse los métodos?

(a) ¿Quién lleva a cabo la validación del método?

6.1 El laboratorio que utiliza un método es responsable de asegurar que el método esté validado adecuadamente y, si es necesario, de llevar a cabo trabajo adicional para complementar los datos ya existentes. Como ejemplo, cuando un método ha sido validado por una organización de aprobación de normas, como la AOAC Internacional, por lo general, el usuario necesitará únicamente establecer los datos de desempeño del método para su propio uso.

6.2 Mucho se ha publicado en la literatura sobre el tema de la validación de métodos mediante estudios de colaboración. Existe un gran número de protocolos relacionados con este tipo de validación ^[3-7]. Si un método en proceso de desarrollo tendrá un amplio uso, quizá como un procedimiento de referencia publicado, entonces el estudio de colaboración, involucrando un grupo de laboratorios, es probablemente la forma más conveniente de llevar a cabo la validación. Sin embargo, esto no es siempre una opción adecuada para los laboratorios industriales. La aplicación para la cual se requiere el método puede ser tal especial que ningún otro laboratorio estaría interesado en colaborar. Aquéllos que pudieran estar interesados podrían ser competidores. Cuando sea imposible o inconveniente para un laboratorio entrar a un estudio de colaboración, surgen preguntas tales como:

- ¿Pueden los laboratorios por ellos mismos validar los métodos? ¿Y si así fuera, cómo?
- ¿Los métodos validados de esta forma serán reconocidos por otros laboratorios?
- ¿Qué clase de reconocimiento puede esperarse para métodos internos utilizados en un ambiente de normalización?

6.3 Al trabajar aisladamente se reduce inevitablemente la cantidad de datos de validación que pueden obtenerse para un método. Principalmente, se restringe el tipo de información sobre la comparabilidad entre laboratorios. Esta información no siempre se requiere, así que esto puede no ser un problema. De ser necesario, es posible obtener una idea de la comparabilidad de los resultados de las mediciones de cualquier método dado con los obtenidos en otro lugar mediante la medición de materiales de referencia certificados o comparando el método contra uno para el cual la validación se ha realizado.

6.4 La aceptación o no, de los métodos validados por un solo laboratorio con propósitos de normalización dependerá de los lineamientos que cubren el área de medición concerniente. Normalmente sería posible obtener una declaración precisa de la política del organismo de normalización adecuado. El siguiente ejemplo ha sido tomado de las guías de la Inspección de Agua Potable del Reino Unido ^[8].

“Un laboratorio que emplea un método analítico que no está referenciado a un método autorizado validado totalmente, deberá demostrar que su método ha sido totalmente documentado y probado contra el patrón actualmente recomendado por el método de referencia autorizado. Deberá demostrar que se han establecido:

- a. las tolerancias requeridas para todas las mediciones realizadas dentro del método (volumen, temperatura, masas etc.);
- b. las formas del analito medido, incluyendo la especiación;
- c. el efecto de las interferencias ha sido ampliamente identificado y cuantificado;
- d. se han identificado las fuentes significativas de error y los medios adecuados para controlarlas.”

6.5 La AOAC International (Association of Official Analytical Chemists) siempre ha sido partidaria de las pruebas interlaboratorio como la forma adecuada para la validación de métodos. Recientemente, ha introducido su “Programa de Verificación de Métodos por Pares” (Peer Verified Method Program) ^[9] para la validación de métodos por medio de laboratorios que trabajan en grupos de dos o tres.

(b) Decidiendo que grado de validación se requiere

6.6 El laboratorio tiene que decidir cuáles de los parámetros de desempeño del método necesitan caracterizarse con el fin de validar el método. La caracterización del desempeño del método es un proceso costoso pero puede restringirse inevitablemente por consideraciones de tiempo y costo. Al empezar con una especificación analítica considerada cuidadosamente, se tiene una buena base sobre la cual planear el proceso de validación, pero se sabe que en la práctica esto no siempre es posible. El laboratorio deberá hacer lo mejor que pueda con las restricciones impuestas, tomando en cuenta las necesidades del cliente, la experiencia existente sobre el método y la necesidad de compatibilidad con otros métodos similares que ya estén en uso dentro del laboratorio o en otros laboratorios. Algunos de los parámetros pudieron haber sido determinados aproximadamente durante la etapa de desarrollo del método. A menudo una serie específica de experimentos proporcionará información sobre varios parámetros, así que, con una planeación cuidadosa puede minimizarse el esfuerzo requerido para obtener la información necesaria.

6.7 Las implicaciones de las restricciones discutidas anteriormente son particularmente críticas cuando el método no va a ser usado rutinariamente. La validación de los métodos que serán usados rutinariamente es un proceso comparativamente sencillo. ¿Sin embargo, deberá aplicarse el mismo proceso de validación a un análisis “ad-hoc”? Claramente aplican los mismos principios de las pruebas de rutina. Se debe alcanzar un nivel adecuado de confianza en los resultados producidos, de otra forma, el trabajo no tendría ningún valor. Es difícil establecer el balance entre las limitantes de costo y tiempo, y la necesidad de validar el método. En algunas circunstancias será más adecuado destinar el trabajo a otro laboratorio donde la validación del método pueda realizarse en base a un trabajo de rutina.

6.8 Los requisitos de validación pueden ser especificados en guías dentro de un sector particular de mediciones concernientes al método y es recomendable que, si se tienen disponibles, sean seguidas. Por ejemplo, la validación de un método para análisis de alimentos debe ser consistente con la estrategia de validación usada por la AOAC. Esto asegurará que la terminología particular de validación junto con la estadística empleada se interpretarán de una manera consistente dentro del sector concerniente. El reconocimiento oficial de un método puede requerir la caracterización empleando un estudio de colaboración. Los requisitos de normalización pueden requerir que un método en particular sea seguido al pie de la letra aun cuando el laboratorio lo considere inexacto o inapropiado. Una

validación adicional será necesaria para confirmar el desempeño satisfactorio del analista.

(c) Requisitos Analíticos

6.9 Frente a un problema analítico particular, idealmente, el laboratorio debería primeramente acordar con el cliente una necesidad analítica la cual define los requisitos de desempeño que un método debe tener para ser adecuado para resolver el problema analítico. En respuesta a esta necesidad, el laboratorio puede evaluar si los métodos existentes son adecuados o si es necesario desarrollar un nuevo método. Este proceso iterativo de desarrollo y evaluación continúa hasta que el método se estime capaz de cumplir con las exigencias; en este caso, sería innecesario un desarrollo adicional y el trabajo analítico puede proceder. Este proceso de evaluación del criterio de desempeño y la confirmación de que el método es adecuado, ilustrado en la figura 1, es la validación del método. La tabla 1 muestra la clase de preguntas que pueden presentarse al formalizar un servicio analítico (columna 1), y los correspondientes parámetros de desempeño del método los cuales pueden necesitar ser caracterizados (columna 2).

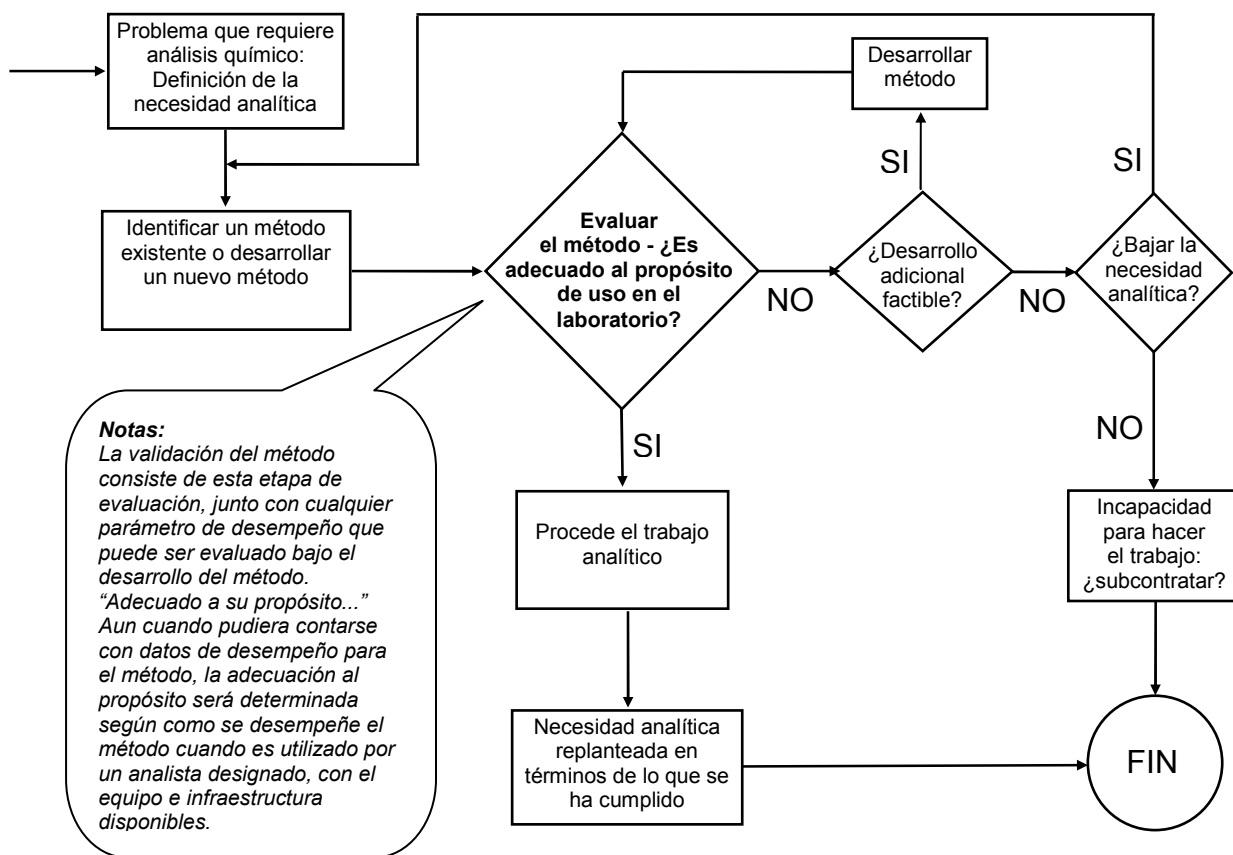


Figura 1: Elección, desarrollo y evaluación de métodos.

Tabla 1: Elementos de las necesidades analíticas y características de desempeño relacionadas

Elementos de las necesidades analíticas	Características de desempeño relacionadas	Ver sección	Nota
¿Qué clase de respuesta se requiere - cuantitativa o cualitativa?	Confirmación de la identidad, selectividad/especificidad Límite de detección Límite de cuantificación	6.13-6.19 6.20-6.23 6.24-6.25	
¿El analito está disperso o localizado?			a)
¿El analito está presente en más de una forma? ¿Se tiene interés en el analito extraíble, libre o total?	Confirmación de identidad Recuperación	6.13-6.19 6.46-6.47	
¿Cuáles son los analitos de interés y en que niveles probables están presentes (% , $\mu\text{g g}^{-1}$, ng g^{-1} , etc.)?	Confirmación de identidad Límite de detección Límite de cuantificación Intervalos de trabajo y lineal	6.13-6.19 6.20-6.23 6.24-6.25 6.26-6.29	
¿Qué tan precisa y exacta debe ser la respuesta? / ¿Qué grado de incertidumbre se permite y como debe expresarse?	Recuperación Exactitud/veracidad Precisión de repetibilidad Precisión de reproducibilidad	6.45-6.46 6.30-6.36 6.37-6.39 6.37-6.38, 6.40	b)
¿Cuál es la naturaleza química, física y biológica de la matriz?			a)
¿Cuáles son las interferencias probables con los analitos?	Selectividad/especificidad	6.13-6.19	
¿Se requiere de muestreo y submuestreo (y esto será realizado por el laboratorio)?			a)
¿Si existen, cuáles son las restricciones de tamaño/ disponibilidad de la muestra?			a)
¿Aplican, y cómo, limitaciones de recursos - personal, tiempo, dinero, equipo y reactivos, infraestructura del laboratorio?			a)
¿Los resultados necesitan compararse con los de otros laboratorios?	Robustez Precisión de reproducibilidad	6.45 6.37-6.38, 6.40	
¿Los resultados necesitan compararse con especificaciones externas?	Exactitud Precisión de reproducibilidad	6.30-6.36 6.37-6.38, 6.40	

Notas:

- a) No todos los elementos de las necesidades analíticas están relacionados directamente a las necesidades de validación del método. Algunos de ellos dictarán más generalmente en cuanto a si hay técnicas específicas aplicables. Por ejemplo, diferentes técnicas serán aplicables según si el analito está disperso a través de la muestra o aislado en la superficie.
- b) Un elemento esencial de las necesidades analíticas es que debe ser posible juzgar si un método es adecuado o no para su propósito pretendido y por consiguiente debe incluir la incertidumbre requerida expresada ya sea como incertidumbre estándar o bien como incertidumbre expandida.

6.10 En realidad, un servicio analítico raramente se pacta formalmente con anticipación. Más aún, si éste ya se ha especificado totalmente, se hará retrospectivamente. Por lo general, los clientes definen sus necesidades en términos de costo y/o tiempo y raramente conocen que tan bien necesitan ejecutarse los métodos, aunque los requisitos de desempeño de los métodos pueden especificarse si los métodos soportan un requisito normativo o el cumplimiento de una especificación. Comúnmente, se deja al criterio del analista el decidir qué desempeño se requiere del método y muy a menudo esto significará establecer una necesidad analítica a la par con la capacidad conocida del método. Limitaciones financieras pueden imponer que el desarrollo de un método, que satisface una necesidad analítica en particular, no sea económicamente viable; en tal caso, debe tomarse una decisión ya sea de bajar la exigencia de la necesidad analítica a un nivel más asequible, o bien, de retomar la justificación del análisis.

(d) Desarrollo del Método

- 6.11 El desarrollo de un método puede tomar varias formas. Desde un extremo, el desarrollo de un método puede involucrar el adaptar un método existente realizando cambios menores de tal manera que sea adecuado a su nueva aplicación. Por ejemplo, un método requerido para determinar tolueno en agua puede ser adaptado de un método establecido para benceno en agua. La matriz es la misma y los dos analitos tienen propiedades similares en lo general. Es probable que los mismos principios de aislamiento, identificación y cuantificación que se aplican al benceno, también puedan aplicarse al tolueno. Por otro lado, si se requiere un método para determinar benceno en suelo, la adaptación del método de benceno en agua puede no ser la mejor opción. La adaptación de algunos otros métodos para determinar compuestos orgánicos en suelo puede ser un mejor punto de partida.
- 6.12 Al otro extremo, el químico analítico puede iniciar con algunas ideas burdas y aplicar su experiencia y su pericia para diseñar un método adecuado. Esto puede involucrar una innovación importante basada en una explotación novedosa de las propiedades conocidas del analito o mensurando. Claramente, esto involucra un excelente manejo de más trabajo y, al menos inicialmente, un cierto grado de duda de si el método final será exitoso. No es poco frecuente que para el desarrollo de un método se deba trabajar con diferentes ideas simultáneamente y eventualmente escoger la mejor.

(e) Los diferentes parámetros de desempeño de un método y lo que éstos muestran**Confirmación de la identidad y la selectividad/especificidad (Ver anexo A para definiciones)**

- 6.13 En general, se dice que los métodos analíticos consisten de una etapa de medición la cual puede o no ser precedida de una etapa de separación. Es necesario establecer que la señal producida en la etapa de medición o alguna otra propiedad medida, la cual se atribuye al analito, se debe únicamente al analito y no a la presencia de algo química o físicamente similar o que surja como una coincidencia. Esta es la confirmación de la identidad. La interferencia de otros compuestos en la medición del analito, dependerá de la efectividad de la etapa de separación y de la selectividad/especificidad de la etapa de medición. La selectividad y la especificidad son medidas que garantizan la confiabilidad de las mediciones en presencia de interferencias. La especificidad se considera generalmente que es el 100 % de la selectividad pero el acuerdo no es universal. Si la etapa de medición no es específica, es posible declarar que ciertos analitos no interfieren, habiendo primero verificado que éste es el caso. Es bastante difícil establecer que nada interfiere ya que siempre existe la posibilidad de encontrar alguna interferencia no reconocida hasta el momento. Habrá casos en que ciertas interferencias químicas podrían ser identificadas por un método en particular pero que la oportunidad de encontrarlas en la vida real sea improbable. El analista debe decidir en qué punto es razonable terminar de buscar interferencias. Estos parámetros se aplican a los análisis tanto cualitativo como cuantitativo.
- 6.14 Si hay interferencias presentes y no pueden separarse del analito de interés o si el analista no está consciente de su presencia, entonces esas interferencias tendrán varios efectos. Dependiendo de como se establece la identidad del analito, las interferencias pueden inhibir la confirmación, por ejemplo, al distorsionar la señal que surge del analito. Las interferencias también pueden tener el efecto de incrementar aparentemente la concentración del analito al contribuir a la señal atribuida a él, (o contrariamente, disminuir la concentración del analito si contribuyen con una señal negativa). Por lo general, las interferencias afectarán la pendiente de la curva de calibración de una forma diferente a la que lo haría el analito de interés, así, la pendiente de la curva de calibración en el método de adiciones puede afectar la linealidad de la curva. Este efecto tiene el potencial para indicar la posible presencia de una interferencia oculta, pero no es útil si la curva de recuperación es inherentemente no lineal.
- 6.15 Usualmente, la selectividad de un método se investiga mediante el estudio de su capacidad para medir el analito de interés en porciones de prueba a las cuales deliberadamente se han introducido interferencias específicas (aquellas que se cree probable estén presentes en las muestras). Si no se está seguro de que las interferencias están presentes, la selectividad de un método se puede investigar estudiando su capacidad de medir el analito comparado con otros métodos o técnicas independientes.

6.16 Ejemplos:

- 6.16.1 Un pico en un cromatograma puede identificarse como proveniente del analito de interés en base a que un material de referencia que contiene el analito genera una señal en el mismo punto del cromatograma. Pero ¿La señal se debe al analito o a algo más que coincidentemente co-eluye? Puede ser una cosa u otra o ambas. La identificación del analito por este único medio no es confiable y se hace necesaria alguna forma de soportar la evidencia. Por ejemplo, la cromatografía puede repetirse utilizando una columna de diferente polaridad para ver si la señal de la muestra y la señal generada por el material de referencia aún aparece al mismo tiempo. Si el pico se debe a más de un compuesto, una columna de diferente polaridad será un buen medio de separar los compuestos. Si se tiene disponible, un cromatógrafo de gases con detección por espectrometría de masas podría usarse para confirmar la identidad del analito o mostrar la mezcla presente. Algunos detectores pueden controlar la pureza del pico.
- 6.16.2 En espectrometría de infrarrojo, la identificación de compuestos desconocidos puede realizarse comparando las absorbancias (es decir, “los picos”) en el espectro del analito con aquellos espectros de referencia almacenados en una biblioteca espectral. Una vez que se cree que la identificación correcta se ha realizado, deberá registrarse un espectro de un material de referencia del analito exactamente bajo las mismas condiciones que para la muestra de prueba. Cuanto más exacta se requiere que sea la semejanza (es decir, se requiere que más absorbancias coincidan entre el analito y el material de referencia) más alta será la confianza que puede otorgarse a que la identificación es correcta. Para asegurar una buena coincidencia, los espectros del analito y del material de referencia, requerirían registrarse bajo condiciones similares y también valdría la pena examinar qué tan dependiente fue la forma del espectro con respecto a que tan cuidadosamente el analito fue separado y preparado para el análisis de Infrarrojo (I. R.). Por ejemplo, si el espectro fue registrado a partir de un disco de sal, la distribución del tamaño de partícula de la porción de prueba en el disco puede influir en la forma del espectro.
- 6.17 El uso de técnicas confirmatorias puede ser útil como un medio de verificar identidades y cantidades del analito. Es mejor cuanto más evidencia se pueda obtener. Inevitablemente existe una relación entre los costos y el tiempo invertido para la identificación del analito y la confianza con la cual se puede decidir que la identificación se ha hecho correctamente.
- 6.18 Algunos protocolos de validación confunden la confirmación de identidad con la repetibilidad. Mientras que la evaluación de la repetibilidad requiere que la medición se realice varias veces por una técnica, la confirmación (de la identidad del analito) requiere que la medición se realice por varias técnicas, de preferencia independientes. La confirmación aumenta la confianza en la técnica bajo estudio y es especialmente útil cuando las técnicas de confirmación operan con principios significativamente diferentes. En algunas aplicaciones, por ejemplo el análisis de

compuestos orgánicos desconocidos por cromatografía de gases, el uso de técnicas de confirmación es esencial. Cuando la técnica bajo evaluación es específica, puede no ser necesario el uso de otras técnicas de confirmación.

- 6.19 Otro aspecto de la selectividad que debe considerarse es si el analito puede existir en la muestra en más de una forma tal como: ligado o libre; inorgánico u organometálico o en diferentes estados de oxidación.

Confirmación de la identidad y selectividad/especificidad - Referencia Rápida			
Qué hacer	Cuántas veces	Calcule / determine	Comentarios
Analice muestras y materiales de referencia mediante un método candidato y otros métodos independientes	1	Use los resultados de las técnicas confirmatorias para asegurar la capacidad del método para confirmar la identidad del analito y la capacidad para medirlo libre de otras interferencias.	Decidir que tanta evidencia de soporte se requiere razonablemente para dar suficiente confiabilidad.
Analice muestras que contengan varias interferencias sospechadas en presencia del analito de interés	1	Examine el efecto de las interferencias -¿La presencia de las interferencias incrementa o inhibe la detección o cuantificación del mensurando?	Si la detección o cuantificación se inhibe por las interferencias, se requerirá un desarrollo complementario del método.

Límite de Detección (Ver anexo A para definiciones)

- 6.20 Cuando se realizan mediciones a niveles bajos del analito o de la propiedad relacionada, como en el análisis de trazas, es importante saber cual es la concentración más baja del analito o el valor de su propiedad relacionada, que puede detectarse confiablemente por el método. La importancia de determinar esto y los problemas implícitos, surgen del hecho que la probabilidad de detección no cambia repentinamente de cero a la unidad cuando se cruza un umbral. Los problemas han sido investigados estadísticamente con detalle y se ha propuesto una gama de criterios de decisión. Surgen confusiones adicionales debido a que no existe actualmente un acuerdo universal sobre la terminología aplicada. El término "límite de detección" no es aceptado ampliamente aunque se usa en varios documentos sectoriales ^[9, 10]. La ISO utiliza como un término general "valor mínimo detectable de la variable de estado definida" el cual en química se traduce como la "concentración neta mínima detectable" ^[11]. La IUPAC es cautelosa en el uso de "límite de detección" prefiriendo "valor (verdadero) mínimo detectable" ^[12].

6.21 Normalmente, para propósitos de validación es suficiente proporcionar un indicativo del nivel al cual la detección resulta problemática. Para este propósito la aproximación “blanco + 3s” usualmente será suficiente. Cuando el trabajo es para soportar la conformidad con una norma o especificación, probablemente será necesaria una aproximación más exacta tal como la que describe la IUPAC [12] y otras varias [13-14]. Se recomienda a los usuarios citar cualquier convención que hayan utilizado al momento de establecer el límite de detección.

Límite de Detección (LoD)- Referencia Rápida	
Qué analizar	Qué calcular a partir de los datos
<p>a) 10 blancos de muestra independientes medidos una vez cada uno</p> <p>o</p> <p>b) 10 blancos de muestra independientes fortificados a la menor concentración aceptable, medidos una vez cada uno</p>	<p><i>Desviación estándar de la muestra “s” de a) valores de los blancos de muestra o b) valores de los blancos de muestra fortificados.</i></p> <p>Expresar LoD como la concentración del analito correspondiente a: a) el valor promedio de los blancos de muestra + 3s o b) 0 + 3s</p>
<p>Esta propuesta supone que una señal de más de 3s arriba del valor del blanco de muestra podría surgir del blanco en mucho menos que 1% de las veces y por lo tanto es probable que dicha señal sea el resultado de otro efecto, tal como el mensurando. La propuesta a) es útil sólo cuando el blanco de muestra da una desviación estándar diferente de cero. Obtener un blanco “verdadero” puede ser difícil.</p>	
<p>c) 10 blancos de muestra independientes fortificados a la concentración más baja aceptable, medidos una vez cada uno.</p>	<p><i>Desviación estándar de la muestra “s” de los valores de los blancos de muestra fortificados</i></p> <p>Expresar LoD como la concentración del analito correspondiente al valor del blanco de muestra +4,65s (derivado de la prueba de hipótesis)</p>
<p>La concentración más baja aceptable se toma como la mínima concentración a la cual se puede alcanzar un grado aceptable de incertidumbre.</p> <p>Supone una práctica normal de evaluar la muestra y el blanco por separado y corregir por el blanco mediante la sustracción de la concentración del analito correspondiente a la señal del blanco, de la concentración correspondiente a la señal de la muestra.</p> <p>Si las mediciones se realizan bajo condiciones de repetibilidad, esto también da una medida de la precisión de repetibilidad. (Anexo A, A20)</p>	

6.22 Nótese que la media y la desviación estándar del blanco de muestra son dependientes de la matriz del blanco de muestra. Consecuentemente, el límite de

detección será dependiente de la matriz. Similarmente, cuando este criterio se use para tomar decisiones críticas, los valores de precisión relevantes necesitarán determinarse con regularidad a la par con la ejecución operativa real.

- 6.23 Para mediciones cualitativas, hay posiblemente un umbral de concentración por debajo del cual la especificidad se vuelve poco confiable. El umbral puede variar si el experimento se repite en otro tiempo con diferentes reactivos, fortificaciones, materiales adicionados (“spiking”), etc. En el ejemplo mostrado en la Tabla 2, la identificación positiva del analito deja de ser 100 % confiable por debajo de 100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Límite de Detección (LoD) - Mediciones Cualitativas - Referencia Rápida	
Qué analizar	Qué calcular a partir de los datos
Blancos de muestra con adición del analito en una gama de niveles de concentración. A cada nivel de concentración, será necesario medir aproximadamente 10 réplicas independientes. La medición de las réplicas a los diferentes niveles debe ser aleatoria.	Deberá construirse una curva de respuesta de % de resultados positivos (o negativos) contra la concentración a partir de la cual será posible determinar mediante inspección la concentración del umbral a la cual la prueba no es confiable

Tabla 2: Análisis Cualitativo. Ilustración de cómo se determina la concentración límite (umbral)

Concentración/ $\mu\text{g g}^{-1}$	No. de réplicas	Resultados positivos/negativos
200	10	10/0
100	10	10/0
75	10	5/5
50	10	1/9
25	10	0/10

Límite de Cuantificación (ver anexo A para definiciones)

- 6.24 El “límite de cuantificación” (LoQ) estrictamente es la concentración más baja del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión de repetibilidad y veracidad. También se define por diversas convenciones como la concentración del analito correspondiente al valor del blanco de muestra más 5, 6 ó 10 desviaciones estándar de la media del blanco. Algunas veces también se conoce como “límite de determinación”. LoQ es un valor indicativo y no deberá usarse en la toma de decisiones.

6.25 Observe que ni el LoD o el LoQ representan niveles a los cuales la cuantificación es imposible. Es simplemente, que el tamaño de las incertidumbres asociadas se hace comparable con el resultado real en la región del LoD.

Limite de Cuantificación (LoQ) - Referencia Rápida

Qué se analiza

Qué calcular a partir de los datos

a) 10 blancos de muestra independientes medidos una vez cada uno

Desviación estándar de la muestra "s" de los blancos de muestra

expresar LoD como la concentración del analito correspondiente a los valores del blanco de muestra más:
i)5s, ii)6s, iii)10s

Obtener un blanco de muestra verdadero puede ser difícil.

b) Fortificar alícuotas de un blanco de muestra a varias concentraciones del analito cercanas al LoD.

Calcular la desviación estándar "s" de los valores del analito a cada concentración. Graficar s contra concentración y asignar un valor al LoQ por inspección.

Medir, una vez cada una, 10 réplicas independientes a cada nivel de concentración.

Expresar LoQ como la concentración mínima del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de incertidumbre.

Normalmente LoQ forma parte del estudio para determinar el intervalo de trabajo. Éste no deberá determinarse por extrapolación debajo de la concentración más baja del blanco fortificado.

Si las mediciones se realizan bajo condiciones de repetibilidad, también se obtiene una medida de la precisión de repetibilidad a esta concentración.

Intervalo de trabajo e intervalo lineal (Ver anexo A para definiciones)

6.26 Para cualquier método cuantitativo es necesario determinar el intervalo de concentraciones del analito o los valores de la propiedad relacionada, sobre los cuales el método puede aplicarse. Note que esto se refiere al intervalo de concentraciones o a los valores de la propiedad relacionada, de las disoluciones medidas realmente más que de las muestras originales. En el extremo inferior del intervalo de concentración, los factores limitantes son los valores del límite de detección y/o cuantificación. En el extremo superior del intervalo de concentración, las limitaciones serán impuestas por varios efectos que dependen del sistema de respuesta del instrumento.

6.27 Dentro del intervalo de trabajo puede existir un intervalo de respuesta lineal. Dentro del intervalo lineal la señal de respuesta tendrá una relación lineal con la concentración del analito o del valor de la propiedad relacionada. La extensión de este intervalo puede establecerse durante la evaluación del intervalo de trabajo. Note que los cálculos de regresión por ellos mismos, son insuficientes para establecer la linealidad. Para hacer esto, puede ser suficiente una inspección visual de la línea y de los residuales. Existen pruebas objetivas tales como las pruebas de bondad de ajuste que continúan siendo las mejores ^[15-17]. En general, las revisiones de linealidad requieren de al menos 10 puntos a diferentes concentraciones o valores de la propiedad relacionada.

Intervalo de trabajo e intervalo lineal. Referencia Rápida			
Análisis	Repeticiones	Qué calcular a partir de los datos	Comentarios
1. Blanco más materiales de referencia o blancos de muestra fortificados a varias concentraciones Se necesitan al menos 6 concentraciones, más el blanco.	1	Grafique la respuesta de medición (eje y) contra la concentración del mensurando (eje x) Visualmente examinar para identificar el intervalo lineal aproximado y los límites superior e inferior del intervalo de trabajo.	Idealmente las diferentes concentraciones deberán prepararse independientemente, y no de alícuotas de la misma solución madre. Esto dará una confirmación visual si el intervalo de trabajo es lineal o no.
		Entonces vaya a 2	
2. Materiales de referencia o blancos de muestra fortificados al menos de 6 diferentes concentraciones dentro del intervalo lineal.	3	Grafique la respuesta de medición (eje y) contra la concentración del mensurando (eje x) Visualmente examine para identificar valores aberrantes (“outliers”) los cuales pueden no estar reflejados en la regresión. Calcule el coeficiente apropiado de regresión. Calcule y grafique los valores residuales (diferencia entre el valor verdadero de “ y ” y el valor predicho por la línea recta, para cada valor de “ x ”). La distribución aleatoria alrededor de la línea recta confirma la linealidad. Tendencias sistemáticas indican no-linealidad	Esta etapa es necesaria para probar un intervalo de trabajo que se piensa es lineal y si se pretende usar un sólo punto de calibración. Es inseguro retirar los puntos aberrantes sin verificar primero mediante el uso de determinaciones adicionales a concentraciones cercanas. Si la varianza de las réplicas es proporcional a la concentración, entonces utilice un cálculo de regresión ponderada en lugar de una regresión no ponderada.
		entonces vaya a 3.	En ciertas circunstancias puede ser mejor tratar de ajustar los datos a una curva no lineal. Las funciones mayores que las cuadráticas por lo general no se recomiendan.
3. Repita el procedimiento para LoQ (b)		Repita el procedimiento para LoQ LoQ forma efectivamente el extremo inferior del intervalo de trabajo.	Trabaje con concentraciones sucesivamente más bajas hasta que la exactitud y la precisión sean inaceptables.

- 6.28 La evaluación de los intervalos lineal y de trabajo puede también ser útil para la planeación del grado de calibración que se requiere cuando el método se utiliza diariamente. Es aconsejable investigar la varianza a lo largo del intervalo de trabajo. Dentro del intervalo lineal, un punto de calibración puede ser suficiente para establecer la pendiente de la curva de calibración pero en el intervalo de trabajo será necesaria la calibración con varios puntos (preferentemente más de 6). La relación entre la respuesta del instrumento con la concentración no tiene que ser perfectamente lineal para que un método sea efectivo pero la curva debe ser repetible día con día. Observe que los intervalos de trabajo y lineal pueden ser diferentes para distintas matrices de acuerdo al efecto de las interferencias que produce la matriz.
- 6.29 Cuando el método utiliza alguna clase de instrumentación puede ser útil considerar la sensibilidad, la discriminación, el umbral de discriminación y el tiempo de respuesta (ver Anexo A).

Exactitud (ver Anexo A para definiciones)

- 6.30 La “exactitud” expresa la cercanía de un resultado al valor verdadero (La definición en ISO 3534-1 se ha adoptado en esta guía). La validación de un método busca cuantificar la exactitud probable de los resultados evaluando tanto los efectos sistemáticos como los aleatorios sobre los resultados. Normalmente la exactitud se estudia en dos componentes: la “veracidad” y la “precisión”. La veracidad (de un método) es una expresión de que tan cercana se encuentra la media de un conjunto de resultados (producidos por el método) respecto del valor real. Normalmente, la veracidad se expresa en términos de sesgo. La “precisión” es una medida de que tan cercanos están los resultados unos con respecto a los otros y por lo general se expresa mediante medidas tal como la desviación estándar la cual describe la dispersión de los resultados. Adicionalmente, una expresión cada vez más común de exactitud es la “incertidumbre de medición”, la cual proporciona una figura única de expresión de la exactitud. Estos tres diferentes parámetros serán discutidos en su momento.

Veracidad

- 6.31 La evaluación práctica de la veracidad se fundamenta en la comparación de la media de los resultados de un método con relación a valores conocidos, es decir, la veracidad se determina contra un valor de referencia (o sea, un valor verdadero o un valor verdadero convencional). Se dispone de dos técnicas básicas: la verificación con respecto a los valores de referencia de un material caracterizado o de otro método caracterizado. Los valores de referencia son idealmente trazables a patrones internacionales. Los materiales de referencia certificados por lo general se aceptan como medio de proveer valores trazables y por lo tanto, el valor de referencia es el valor certificado del MRC. Observe que los valores de referencia,

certificados u otros pueden ser absolutos (trazables al SI) o convencionales, es decir, que son acordados para un propósito en particular.

6.32 Para verificar la veracidad utilizando un material de referencia, se determina la media y la desviación estándar de una serie de réplicas de una prueba y se compara contra el valor caracterizado del material de referencia. El material de referencia ideal sería un material de referencia certificado de matriz natural, muy semejante a las muestras de interés. Claramente la disponibilidad de estos materiales es limitada. Los materiales de referencia para una validación pueden ser por consiguiente:

- Preparados por adición de materiales típicos con materiales de referencia de pureza certificada u otros materiales de pureza y estabilidad adecuadas.
- materiales típicos bien caracterizados, de estabilidad verificada internamente y conservados para control de calidad interno.

6.33 La validación requiere la adecuación a un propósito, por lo tanto, la selección de un material de referencia puede depender del uso pretendido. El material de referencia debe ser *apropiado para su uso*. Para trabajos de normalización debe usarse un material de referencia certificado adecuado e idealmente de la misma matriz. Para métodos utilizados en trabajos internos a largo plazo, deberá utilizarse un material interno estable o un material de referencia certificado. Para trabajos a corto plazo o no críticos, a menudo es suficiente un patrón preparado (por adición).

6.34 Para verificar con respecto a un método alternativo, se comparan los resultados de los dos métodos para la misma muestra o muestras. La(s) muestra(s) pueden ser materiales de referencia certificados, materiales de referencia preparados internamente o simplemente, muestras típicas. Existen ventajas cuando se usan los MRC puesto que tienen estabilidad y homogeneidad conocidas; además dan una medida del sesgo con respecto a patrones internacionales. Pero por otra parte, los MRC son caros y pueden no ser representativos de las muestras típicas.

Nota: Puede ser necesario repetir la verificación de la veracidad cuando se encuentra que los materiales tienen matrices radicalmente diferentes o diferentes niveles de concentración del analito con respecto a aquéllos verificados inicialmente.

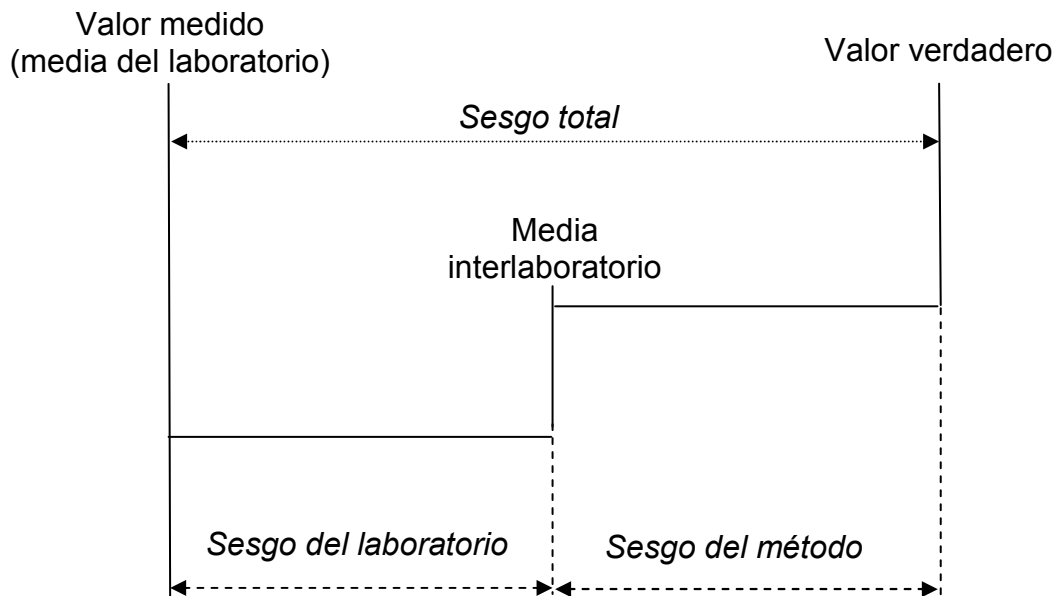
Interpretando las mediciones de sesgo

6.35 La figura 2 muestra los dos componentes del sesgo referidos aquí como los componentes debidos al método y al laboratorio. El sesgo del método surge de los errores sistemáticos inherentes al método cualquiera que sea el laboratorio que lo usa. El sesgo del laboratorio surge de errores sistemáticos adicionales característicos del laboratorio y de la interpretación que éste hace del método. En forma aislada, un laboratorio puede estimar solamente el sesgo combinado. Sin

embargo, en la verificación del sesgo, es importante estar al tanto de las convenciones correspondientes al propósito que se tiene en mente. Por ejemplo en muchas normas para alimentos, los límites normativos se establecen en términos de los resultados obtenidos por el método de referencia. El sesgo que surge únicamente del método específico (ver Figura 2) se compensa y la comparabilidad con otros laboratorios que utilizan el mismo método es la principal preocupación. El sesgo total determinado por un laboratorio particular durante la validación debe entonces compararse con cualquier sesgo reportado para el método normalizado.

6.36 Sin embargo, para la mayoría de los propósitos, la aceptación del sesgo debe decidirse sobre la base del sesgo total medido contra materiales o métodos de referencia apropiados, tomando en cuenta la precisión del método, la incertidumbre en los valores de los materiales de referencia y la exactitud requerida para el uso pretendido. Se recomiendan las pruebas estadísticas de significancia.

Exactitud y Veracidad - Referencia Rápida			
Analizar	No. de veces	Cálculos	Comentarios
a) El blanco reactivo y el material de referencia usando el método candidato	10	Al valor medio del analito en el material de referencia, restarle el valor medio del blanco. Comparar con el valor verdadero o verdadero aceptado, del material de referencia Da una medida del sesgo del método.	Sujeto a la incertidumbre de que el blanco es un blanco verdadero y de la caracterización del material de referencia.
b) El blanco reactivo y el material de referencia/material de prueba usando el método candidato y un método independiente, (preferentemente un método primario).	10	Al valor medio del analito en el material de referencia/material de prueba, restarle el valor medio del blanco. Comparar con mediciones similares realizadas con un método independiente / método primario. Da una medida del sesgo del método relativo al método independiente/primario.	El método independiente puede tener sesgos por si mismo, de aquí, no se tiene una medida absoluta de la exactitud. El método primario idealmente no tiene sesgo por lo que es una mejor medida de la exactitud.



Nota: Los sesgos del laboratorio y del método se muestran aquí actuando en la misma dirección. En la realidad, esto no es siempre el caso

Figura 2. Tipos de sesgo.

Precisión (ver anexo A para definiciones)

6.37 Normalmente, la “precisión” se determina para circunstancias específicas las cuales en la práctica pueden ser muy variadas. Las medidas de precisión más comunes son la “repetibilidad” y la “reproducibilidad”. Éstas representan las dos medidas extremas de precisión que pueden obtenerse. La repetibilidad (la precisión más pequeña esperada) dará una idea de la clase de variabilidad esperada cuando un método se ejecuta por un solo analista, con un equipo en un período corto de tiempo, es decir, es la clase de variabilidad que se espera entre resultados cuando una muestra se analiza por duplicado. Si la muestra se analiza por varios laboratorios para fines comparativos, entonces una medida de precisión más significativa a usarse es la reproducibilidad (ésta es la medida de precisión más grande normalmente encontrada, a pesar de que formalmente se excluye la variación con respecto del tiempo). Puede ser que para algunos casos particulares sea más útil una medida intermedia de la precisión, por ejemplo la precisión medida entre diferentes analistas, en períodos de tiempo prolongados. dentro de un solo laboratorio. Esto algunas veces se conoce como “precisión intermedia”, pero las condiciones exactas deberán ser especificadas. La precisión se determina por lo general en términos de la desviación estándar o la desviación estándar relativa. Tanto la reproducibilidad como la repetibilidad dependen generalmente de la concentración del analito y deben determinarse a varias concentraciones y de ser pertinente, deberá establecerse la relación entre la precisión y la concentración del analito. La desviación estándar relativa puede ser más útil en este caso puesto que la desviación estándar dividida por la concentración es prácticamente

constante dentro del intervalo de interés, a condición de que éste no sea demasiado grande.

Precisión de Repetibilidad y Precisión de Reproducibilidad- Referencia Rápida			
Analizar	Repeticio- nes (inde- pendiente)	Qué calcular a partir de los datos	Comentarios
Patrones, materiales de referencia o blanco de muestra fortificados a varias concentraciones en el intervalo de trabajo.			
a) Mismo analista, equipo y laboratorio, en un período de tiempo corto	10	Determinar la desviación estándar (<i>s</i>) a cada concentración	Determina la desviación estándar de repetibilidad a cada concentración.
b) Diferente analista y equipo, mismo laboratorio, período de tiempo prolongado	10	Determinar la desviación estándar (<i>s</i>) a cada concentración	Determina la desviación estándar de reproducibilidad dentro del laboratorio a cada concentración
c) Diferentes analistas, equipos y laboratorios, en período de tiempo prolongado	10	Determinar la desviación estándar (<i>s</i>) a cada concentración	Determina la desviación estándar de reproducibilidad entre laboratorios a cada concentración
			Requiere de un estudio de colaboración

6.38 Observe estas afirmaciones de precisión relacionadas al análisis cuantitativo. El análisis cualitativo puede tratarse en una forma ligeramente diferente. El análisis cualitativo es en efecto una medición de si / no dentro de un umbral dado de concentración del analito. Para métodos cualitativos, la precisión no puede expresarse como una desviación estándar o una desviación estándar relativa, pero puede expresarse por medio de índices de verdadero y falso positivo (y negativo). Estos índices deberán determinarse a varias concentraciones por debajo y por encima del nivel de umbral. Los datos provenientes de una comparación de un método de confirmación deberán usarse si se dispone de dicho método apropiado. Si no se dispone de tal método, en su lugar pueden analizarse blancos de muestra fortificados y sin fortificar.

% falsos positivos = falsos positivos x 100/total de negativos conocidos

% falsos negativos = falsos negativos x 100/total de positivos conocidos

Note que los químicos biólogos y los microbiólogos tratan los falsos positivos y los falsos negativos de forma ligeramente diferente, haciendo uso de los términos de selectividad y especificidad de un modo que se contraponen con el uso químico.

Repetibilidad (Ver Anexo A para definiciones)

- 6.39 A partir de la desviación estándar de repetibilidad σ_r , o s_r , es útil calcular el límite de repetibilidad “r”, el cual permite al analista decidir si es significativa la diferencia entre análisis duplicados de una muestra determinados bajo condiciones de repetibilidad.

Reproducibilidad (Ver Anexo A para definiciones)

- 6.40 A partir de la desviación estándar de reproducibilidad σ_R , o s_R , es útil calcular el límite de reproducibilidad “R”, el cual permite al analista decidir si es significativa la diferencia entre análisis duplicados de una muestra determinados bajo condiciones de reproducibilidad.

Incertidumbre de la Medición (Ver Anexo A para definiciones)

- 6.41 Una discusión completa acerca de la incertidumbre de medición va más allá del objetivo de esta guía. Se pueden encontrar exposiciones detalladas en diversas fuentes ^[18-20]. La incertidumbre de medición es un parámetro único (usualmente una desviación estándar o un intervalo de confianza) que expresa el intervalo de posibles valores sobre la base de los resultados de medición. Una estimación de la incertidumbre de medición considera *todos los efectos reconocidos* que influyen en el resultado; las incertidumbres asociadas a cada efecto son combinadas de acuerdo a procedimientos bien establecidos.

La estimación de la incertidumbre en química analítica debe considerar:

- la precisión total del método en un período largo de tiempo;
- el sesgo y su incertidumbre, incluyendo la incertidumbre estadística asociada a las mediciones del sesgo y la incertidumbre del material de referencia o del método. Puede ser necesario incrementar la estimación cuando se detecte un sesgo importante que no ha sido corregido ^[20];
- incertidumbres de calibración. Siendo que la mayoría de las incertidumbres de calibración de equipos serán despreciablemente pequeñas en comparación con la precisión total y la incertidumbre en el sesgo, esto necesitará solamente ser verificado;
- Debe adicionarse cualquier otro efecto significativo que actúa además de los anteriores y que pudo no haberse aplicado totalmente en un estudio de validación, por ejemplo, la temperatura o los intervalos de tiempo permitidos por

el método. Dichos efectos pueden ser cuantificados por estudios de robustez (ver robustez en 6.45) o estudios relacionados que establecen el tamaño de un efecto dado sobre el resultado.

- 6.42 Cuando la contribución de efectos individuales sea importante, por ejemplo para los laboratorios de calibración, será necesario considerar separadamente las contribuciones de todos los efectos individuales.
- 6.43 Observe que, por el hecho de estar sujeta a consideraciones adicionales de efectos fuera del alcance de un ensayo de colaboración, la desviación estándar de reproducibilidad representa una estimación de trabajo de la incertidumbre de medición. Esto es a condición de que: el sesgo del laboratorio, medido sobre materiales adecuados, sea pequeño con respecto a la desviación estándar de reproducibilidad; que la precisión de repetibilidad interna sea comparable a la repetibilidad del método de referencia; y que la precisión intermedia del laboratorio no sea mayor que la desviación estándar de reproducibilidad publicada.

Sensibilidad (ver Anexo A para definiciones)

- 6.44 Ésta es efectivamente la pendiente de la curva de respuesta, es decir, el cambio en la respuesta del instrumento que corresponde a un cambio en la concentración del analito. Cuando se ha establecido que la respuesta es lineal con respecto a la concentración (o sea, dentro del intervalo lineal del método) y se ha determinado la intercepción de la curva de respuesta, la sensibilidad es un parámetro útil para calcular y usar en fórmulas de cuantificación. La sensibilidad algunas veces se usa para referirse al límite de detección pero este uso no se acepta generalmente.

Robustez (ver Anexo A para definiciones)

- 6.45 Una medida de la efectividad del método analítico es qué tan buen desempeño se mantiene aun sin una implementación perfecta. En cualquier método habrá ciertas etapas las cuales, si no se llevan al cabo con suficiente cuidado, tendrán un efecto severo sobre el desempeño del método y pueden dar como resultado que definitivamente, el método no funcione. Estas etapas deben identificarse como parte del desarrollo del método y si es posible, debe evaluarse su influencia sobre el desempeño del mismo por medio de “pruebas de robustez”. Esto incluye aplicar variaciones deliberadas al método y estudiar el efecto resultante en el desempeño. De esta manera es posible identificar las variables que tiene el efecto más significativo y en base a ello, controlarlas cuidadosamente cuando se aplica el método. Cuando se requiere mejorar el método, las mejoras se pueden realizar sobre aquellas partes que se sabe, son críticas. La robustez por lo general se evalúa durante el desarrollo del método, comúnmente por el laboratorio que lo ha propuesto y antes de la colaboración con otros laboratorios. La AOAC ^[21] describe una técnica establecida para pruebas de robustez. Las pruebas de robustez se

aplican normalmente para investigar su efecto sobre la precisión y la exactitud del método.

Pruebas de Robustez – Referencia Rápida			
Analizar	No. de veces	Calcular	Comentarios
Identificar las variables que pueden tener un efecto significativo en el desempeño del método. Establecer experimentos (analizando materiales de referencia, muestras de composición conocida o materiales de referencia certificados) para observar el efecto sobre la exactitud y la precisión de variables que se van cambiando sistemáticamente	Analizar una vez cada serie de condiciones experimentales	Determinar el efecto de cada cambio de condiciones sobre la media Clasificar las variables en orden de mayor a menor efecto sobre el desempeño del método.	Diseñar el control de calidad para controlar las variables críticas. Concentrarse en estas variables para mejorar el método.

Recuperación (ver Anexo A para definiciones)

- 6.46 Los métodos analíticos no siempre miden todo el analito de interés presente en la muestra. Los analitos pueden estar presentes en una variedad de formas en las muestras de las cuales no todas son de interés para el analista. El método debe entonces diseñarse deliberadamente para determinar solamente una forma específica del analito. No obstante, la incapacidad de un método para determinar todo el analito presente puede reflejar un problema inherente. De cualquier forma, es necesario evaluar la eficiencia del método para detectar todo el analito presente.
- 6.47 Debido a que usualmente no se conoce la cantidad de un analito en particular que está presente en una porción de prueba, es difícil estar seguros de que tan exitoso ha sido el método para extraer el analito de la matriz. Una forma de determinar la eficiencia de extracción es agregar a una matriz porciones de prueba con el analito a varias concentraciones, después se extraen las porciones de prueba fortificadas y se mide la concentración del analito. Un problema inherente a este proceso es que el analito introducido de este modo no estará tan fuertemente ligado como aquél que se encuentra naturalmente en la porción de prueba de matriz y por consiguiente, la técnica dará una impresión irrealmente alta de la eficiencia de extracción. Sin embargo, ésta es la forma más común de determinar la eficiencia de recuperación y está reconocida como una forma aceptable de hacerlo. Aún así, los inconvenientes de la técnica deberán tenerse en cuenta. Alternativamente es posible realizar estudios de recuperación sobre materiales de referencia adecuados, si éstos se encuentran disponibles. Siempre que los materiales de

referencia hayan sido producidos a partir de materiales naturales, en lugar de materiales sintéticos en los que el analito ha sido agregado, el estudio de recuperación deberá representar exactamente la extracción en porciones de pruebas reales.

Recuperaciones – Referencia Rápida			
Analizar	Repeticiones	Qué calcular a partir de los datos	Comentarios
Blancos de matriz o muestras no fortificadas y fortificadas con el analito de interés en una gama de concentraciones	6	Determinar la recuperación del analito a varias concentraciones. Recuperación (%) = $100 (C_1 - C_2) / C_3$ Donde C ₁ = concentración determinada en la muestra fortificada C ₂ = concentración determinada en la muestra no fortificada C ₃ = concentración de fortificación.	Las muestras fortificadas deberán ser comparadas con la misma muestra no fortificada para evaluar la recuperación neta de la fortificación. Las recuperaciones de muestras o blancos de matriz, fortificadas usualmente serán más altas que las de muestras reales en las cuales el analito está más fuertemente enlazado
Materiales de referencia certificados (MRC)		Determine la recuperación del analito relativa al valor certificado	Dependiendo de cómo fue producido y caracterizado el material de referencia certificado, es posible obtener recuperaciones superiores al 100 %.

(f) Las herramientas de la validación:

6.48 **Blancos:** El Uso de varios tipos de blancos permite evaluar que tanto de la señal medida es atribuible al analito y que tanto se debe a otras causas. Varios tipos de blanco están disponibles para el usuario.

6.48.1 **Blancos de reactivos:** Los reactivos usados durante el proceso analítico (incluyendo los disolventes usados para la extracción y la disolución) se analizan por separado con el fin de ver si contribuyen o no a la señal de medición. La señal de medición que surge del analito puede entonces ser corregida adecuadamente.

6.48.2 **Blancos de muestra:** Son esencialmente matrices sin analito. Son difíciles de obtener pero son necesarios para contar con una estimación realista de las interferencias que pueden encontrarse en el análisis de las muestras de prueba.

- 6.49 **Muestras / materiales de prueba:** Los materiales de prueba tomados de muestras reales son útiles debido a la información que proporcionan sobre las interferencias etc., que pueden encontrarse realmente en el trabajo diario. Si el contenido verdadero del analito de un material se conoce con exactitud, entonces puede utilizarse para evaluar la exactitud del método. Sin embargo, el contenido real del analito es usualmente difícil de determinar a menos que exista la posibilidad de usar otros métodos para los cuales se sabe que presentan un sesgo despreciable.
- 6.50 **Materiales / disoluciones fortificados:** Éstos son materiales o disoluciones que han sido fortificados con el (los) analito (s) de interés. La fortificación se realiza por adición (“spiking”). Estos materiales o disoluciones pueden contener ya al analito de interés, así que debe tenerse cuidado de que la fortificación no conduzca inadvertidamente a niveles fuera del intervalo de aplicación del método. La fortificación con una cantidad conocida del analito permite incrementar la respuesta al analito para ser medido y calculado en términos de la cantidad agregada (asumiendo 100% de recuperación), aun cuando no se conocen las cantidades absolutas del analito que están presentes en la muestra antes y después de la fortificación. Observe que la mayoría de los métodos de fortificación adicionan el analito de modo que no estará tan fuertemente ligado a la matriz de la muestra como si estuviera naturalmente presente. Por lo tanto, se espera que las determinaciones de recuperación obtenidas por fortificación estén sobreestimadas.
- 6.51 **Materiales adicionados:** Éstos son similares a los materiales fortificados, de hecho en algunos casos los términos son intercambiables. La adición (“spiking”) no debe restringirse necesariamente al analito de interés. Podría incluirse la adición de cualquier sustancia con la finalidad de medir el efecto de la adición. Por ejemplo, la muestra puede adicionarse con diferentes cantidades de una interferencia específica con el fin de evaluar a que concentración de la interferencia se afecta adversamente la determinación del analito. La naturaleza de la sustancia adicionada (“spike”) debe estar identificada
- 6.52 **Materiales “dopados”:** Éstos son materiales para los cuales el analito de interés puede ser totalmente ajeno, pero que ha sido introducido a todo el material en alguna etapa previa al muestreo. De esta forma, el analito estará así más fuertemente ligado a la matriz que si éste se hubiera añadido por adición (“spiking”). El valor del analito dependerá de las cantidades de éste en contacto con el material, de la relación de captura y de pérdida de la matriz y de otras pérdidas debidas al metabolismo. El valor de la muestra “dopada” para propósitos de calibración depende de que tan bien puede ser caracterizado el valor del analito. Los siguientes son ejemplos de materiales “dopados”:
1. Herbicidas en harina de cereal rociado con los herbicidas durante su crecimiento.
 2. Promotores de crecimiento en carne derivados de la alimentación del animal con alimentos que contienen los promotores.

3. Ingredientes activos en formulaciones farmacéuticas adicionadas en la etapa de formulación.

6.53 **Materiales caracterizados independientemente:** Es difícil determinar el sesgo de un método sin conocer el contenido verdadero del analito en el material de prueba. Si un material ha sido caracterizado por otros medios, por ejemplo mediante un método que se sabe que posee un sesgo despreciable, entonces éste puede usarse como un material de referencia. Puede realizarse una comparación y evaluarse así el sesgo del método bajo análisis.

6.54 **Patrones** (de medición): Ver nota en seguida (*) sobre la traducción del término “standard”. Cuando el término “patrón” se usa para referirse a sustancias que se utilizan con propósitos de calibración o de identificación, es conveniente referirse a dichas sustancias como patrones de medición o calibrantes (N. de T. es más conveniente referirse a ellas como “materiales de referencia”). Tradicionalmente se piensa que los “materiales de referencia” son disoluciones de una sola sustancia, pero en la práctica puede ser cualquier material en el que un parámetro o una propiedad se ha caracterizado al punto de que puede ser usado para propósitos de calibración o de referencia. El término patrón incluye dispositivos en los cuales puede calibrarse un amplio intervalo de parámetros físicos (por ejemplo, termómetros calibrados). Estrictamente, éstos son patrones físicos.

(*) **Nota del traductor:** El término en inglés “measurement standard” se traduce como “patrón de medición” y también puede referirse al concepto de “material de referencia” (VIM, 1993); el término “standard method” se traduce como “método de referencia” y el término “standard”, referido a “written standard” se traduce como “norma”.

6.55 **Materiales de referencia.** Es común confundir el término *materiales de referencia* con *materiales de referencia certificados* ^[22] (ver Anexo A). Un *material de referencia* puede ser virtualmente cualquier material tomado como base de referencia y puede incluir reactivos de laboratorio de pureza conocida, sustancias químicas industriales u otros artefactos. La propiedad o el analito de interés, deben ser estables y homogéneos pero el material no necesita tener un alto grado de caracterización o trazabilidad y certificación, características más propiamente asociadas a los materiales de referencia certificados.

6.56 **Materiales de referencia certificados:** la caracterización del parámetro de interés en un *material de referencia certificado* generalmente es controlada más estrictamente que para un *material de referencia*. Además, el valor caracterizado se certifica con una incertidumbre establecida por una institución reconocida. La caracterización normalmente se realiza usando varios métodos para que cualquier sesgo en la caracterización se reduzca o se elimine, tanto como sea posible.

6.57 **Estadística:** Ésta es útil para el análisis de la variabilidad inherente en las mediciones analíticas. Los analistas deben familiarizarse al menos con los elementos más básicos de la teoría estadística, particularmente como apoyo en la evaluación de la exactitud, la precisión, el intervalo lineal, los límites de detección

y cuantificación y de la incertidumbre de medición. Varios libros útiles de introducción a la estadística para química analítica se listan en la bibliografía.

- 6.57.1 **Repetición:** Propiamente usada, ésta da al analista más información sobre el comportamiento estadístico de una medición en particular. Los experimentos que involucran la repetición de análisis deberán diseñarse para considerar todas las variaciones bajo las condiciones de operación que pueden ocurrir durante el uso rutinario del método. El objetivo deberá ser el de determinar la variabilidad típica y no la variabilidad mínima.

7. Uso de métodos validados

- 7.1 Cuando se usa un método ajeno, ya sea un método desarrollado en otra parte del laboratorio, un método publicado o aun un método de referencia, deben considerarse dos aspectos. Primero ¿La validación existente es adecuada para el propósito requerido o se necesita de una validación adicional? Y segundo, si la validación existente es adecuada: ¿El laboratorio es capaz de alcanzar el nivel de desempeño que el método requiere como posible? es decir, ¿El analista es suficientemente competente?; ¿Son adecuados el equipo y las instalaciones disponibles? Si el método se ha validado mediante pruebas extensivas bajo todas las condiciones de operación extremas, entonces un nuevo analista competente probablemente operará satisfactoriamente dentro del nivel de desempeño existente, aunque realmente es más importante verificar el desempeño del analista contra lo que la especificación analítica requiere más que contra la validación existente. Sin embargo, esto deberá de todos modos verificarse siempre. Es decir, es más importante el nivel de desempeño que el analista puede alcanzar con el método que lo que otros analistas hayan alcanzado en el pasado.
- 7.2 Generalmente, los métodos de referencia se desarrollan a partir de alguna forma de estudio de colaboración y los organismos de normalización, quienes los desarrollan, frecuentemente tienen expertos en estadística que ayudan a asegurar que los estudios de la validación están correctamente diseñados, realizados y evaluados. El nivel de validación de los métodos está mejorando pero es peligroso suponer que sólo por ser un método de referencia se puede tomar por hecho que la validación publicada es adecuada.
- 7.3 Similarmente, es común suponer que los métodos de referencia pueden usarse sin vacilar y que los niveles de desempeño publicados serán alcanzados en forma directa por cualquiera que use el método. Ésta no es una afirmación segura, pues aún en el caso de quienes están familiarizados o son expertos en el campo de la química cubierto por el método, necesitarán la práctica antes de llegar a ser totalmente competentes. Esto se detalla a continuación.
- 7.4 Cuando se usan métodos validados (o cualquier método) se recomienda que se sigan las siguientes reglas para asegurar que se ha alcanzado un desempeño aceptable.

- 7.4.1 Primeramente, los analistas por sí mismos, deben familiarizarse completamente con el nuevo método antes de usarlo por primera vez. Idealmente el método debe ser explicado al analista por alguien experto en su uso. El analista entonces debe empezar, bajo estrecha supervisión, a trabajar con materiales de referencia o muestras de práctica. El nivel de supervisión disminuirá conforme el analista demuestre que es suficientemente competente para hacerlo por sí mismo. Por ejemplo, la competencia puede establecerse en términos de la habilidad del analista para alcanzar los niveles de desempeño establecidos en el método, tales como la repetibilidad, el límite de detección, etc. Ésta es una forma común de entrenamiento para el uso de un nuevo método y los procedimientos de entrenamiento de un laboratorio frecuentemente serán diseñados de esta manera con medidas objetivas, en lugar de probar la competencia a ciertos intervalos durante el entrenamiento. En cualquier caso, el analista deberá haber leído el método y estar familiarizado con la teoría detrás de las mediciones, repasando mentalmente las diferentes etapas, identificando los puntos donde se puede hacer una pausa y las partes del proceso donde el analista estará sujeto a un trabajo continuo. ¿Cuándo necesitan prepararse los reactivos, qué tan estables son una vez preparados? ¿Necesitan éstos prepararse con anticipación? Una dificultad clásica consiste en pasar varias horas preparando un número de muestras y entonces darse cuenta de que la preparación del reactivo requerido para la siguiente etapa involucra una síntesis complicada. Mientras tanto las muestras se van degradando...
- 7.4.2 Segundo, se requiere una evaluación de cuántas muestras pueden manipularse a la vez. Es mejor analizar adecuadamente pocas muestras que tratar de analizar un gran número de muestras y tener que repetir la mayoría de ellas.
- 7.4.3 Finalmente, se debe asegurar que se tiene disponible todo lo que se necesita para llevar a cabo el método antes de iniciar el trabajo. Esto involucra reunir el conjunto apropiado de equipos, reactivos y patrones (con cualquier preparación en espera) y quizá reservar el espacio en campanas de extracción etc.
- 7.5 Si es necesario adaptar o cambiar un método validado por otros, entonces será necesaria una revalidación apropiada. Dependiendo de su naturaleza, los cambios pueden hacer totalmente inadecuada la validación original.

8. Uso de los datos de validación para diseñar el control de calidad

- 8.1 “Control de calidad” y “Aseguramiento de calidad” ^[23] son términos cuyo significado varía de acuerdo al contexto. En términos prácticos, el aseguramiento de calidad se refiere a todas las medidas tomadas por el laboratorio para asegurar y regular la calidad, mientras que el control de calidad describe las medidas individuales que se relacionan con el seguimiento y control de operaciones analíticas particulares.

- 8.2 La validación de un método da una idea de las capacidades de desempeño y de las limitaciones del método que pueden ser experimentadas durante el uso rutinario, mientras el método esté bajo control. En el uso cotidiano, es necesario aplicar controles específicos al método para verificar que continúa bajo control, es decir, que se está desempeñando de acuerdo a lo esperado. Durante la etapa de validación, el método fue ampliamente aplicado a muestras de contenido conocido. Una vez que el método está en uso rutinario, se aplica a muestras de contenido desconocido. Puede aplicarse un control adecuado si se continúa con la medición de muestras de contenido conocido, de esta forma se permite al analista decidir si la variedad de respuestas obtenidas realmente reflejan la diversidad de las muestras analizadas o si están ocurriendo cambios inesperados e indeseados en el desempeño del método. En la práctica estas muestras conocidas deben medirse con cada lote de muestras como parte del proceso del control de calidad.
- 8.3 El tipo de verificaciones que se haga depende de la naturaleza, de la frecuencia y lo crítico del análisis, del tamaño del lote, del grado de automatización y de la dificultad de la prueba, así como también, de las lecciones aprendidas durante el proceso de desarrollo y validación. El control de calidad puede tomar una gran variedad de formas, tanto dentro del laboratorio (interno) como entre el laboratorio y otros laboratorios (externo).
- 8.4 **Control de calidad interno:** Éste incluye la utilización de: blancos, calibrantes químicos, muestras adicionadas, muestras ciegas, réplicas de análisis y muestras de control de calidad ^[21]. Se recomienda el uso de cartas de control, particularmente para llevar un seguimiento de los resultados de las muestras de control de calidad.
- 8.5 Los tipos de control de calidad adoptados deben estar suficientemente demostrados para asegurar la validez de los resultados. Pueden usarse diferentes clases de control de calidad para seguir diversos tipos de variación dentro del proceso. Las muestras de control de calidad analizadas a intervalos en una corrida analítica indicarán el sesgo del sistema; el uso de varios tipos de blanco indicará cuales son las contribuciones a la señal del instrumento además de la que proviene del analito; los análisis por duplicado verifican la repetibilidad.
- 8.6 Las muestras de control de calidad son muestras típicas las cuales son suficientemente estables y homogéneas, en un periodo de tiempo dado, para dar el mismo resultado (sujetas a variaciones aleatorias en el desempeño del método analítico) y están disponibles en cantidades suficientes para poder realizar análisis repetidos. Durante este período de tiempo, la variación aleatoria en el desempeño del método analítico puede ser controlada llevando un seguimiento del valor analizado de la muestra de control de calidad, comúnmente graficándolo en una carta de control ^[25-26]. Se establecen límites en la carta (convencionalmente, los límites de advertencia se colocan a $\pm 2\sigma$ ($\pm 2s$) del valor de la media y los "límites de acción" se colocan a $\pm 3\sigma$ ($\pm 3s$) del valor de la media. Ver el Anexo A, A28 para información sobre σ y s). Una vez graficados los valores de control de calidad con

los límites asignados según las reglas existentes, podrá observarse si el control de calidad es satisfactorio. En función de que el valor de la muestra de control de calidad sea aceptable, es probable que los resultados obtenidos de las muestras del mismo lote así como de las muestras de control, puedan considerarse como confiables. La aceptación del valor obtenido con la muestra de control de calidad se deberá verificar desde el inicio del proceso analítico, para que en caso de un problema, sólo se haya desperdiciado poco esfuerzo en un análisis poco confiable de las muestras.

- 8.7 Con el fin de establecer límites reales en las cartas de control, los cálculos iniciales de la media y de la desviación estándar deben reflejar la forma en que se pretende usar el método de manera rutinaria. De este modo, las lecturas deben reflejar todas las variaciones posibles en las condiciones de operación: diferentes analistas, variaciones en la temperatura del laboratorio, etc. Si no se hace esto, entonces, la desviación estándar será irrealmente pequeña ocasionando que en el uso normal sea imposible estar dentro de los límites fijados en la carta.
- 8.8 El uso de varios tipos de blancos permite al analista asegurar que los cálculos hechos para el analito puedan corregirse para eliminar cualquier contribución a la respuesta que no se le atribuya al analito.
- 8.9 Las réplicas de análisis proporcionan un medio de verificar los cambios en la precisión en un proceso analítico, los cuales podrían afectar el resultado de forma adversa. Las réplicas pueden ser consecutivas en una corrida (para verificar la repetibilidad) o tomadas en forma aleatoria (para verificar el sesgo).
- 8.10 El análisis ciego es una forma efectiva de realizar análisis repetidos y proporciona una ruta para verificar la precisión. Consiste en analizar réplicas de porciones de prueba colocadas dentro de una corrida analítica posiblemente por el supervisor del laboratorio y se llaman de esta forma debido a que normalmente el analista no está enterado de la identidad de las porciones de prueba o de que éstas son réplicas. De esta forma, el analista no tendrá ideas preconcebidas acerca de que ciertos resultados deban estar relacionados.
- 8.11 Los patrones y calibrantes químicos, colocados a intervalos dentro de una corrida analítica, permiten verificar que la respuesta del analito durante el proceso analítico es estable.
- 8.12 Es responsabilidad de la gerencia del laboratorio establecer y justificar un nivel apropiado de control de calidad, basado en una evaluación de riesgo, tomando en consideración la confiabilidad del método, lo crítico del trabajo y la factibilidad de repetir el análisis si éste no funciona adecuadamente la primera vez. Es ampliamente aceptado que para análisis de rutina, un nivel de control de calidad interno del 5% sea considerado como razonable, es decir, por cada 20 muestras analizadas deberá existir una muestra de control. Sin embargo para métodos de rutina robustos, con un gran número de muestras, puede ser razonable un nivel menor. Para procedimientos más complejos, no es raro un nivel del 20% y en

ocasiones puede requerirse hasta un 50%. Para análisis poco frecuentes, en cada ocasión debe realizarse un proceso de validación completo. De manera típica, esto puede involucrar el uso de materiales de referencia que contengan una concentración certificada o conocida del analito, seguido de réplicas de análisis de la muestra y de la muestra adicionada (es una muestra a la cual se le ha agregado intencionalmente una cantidad conocida del analito). Aquellos análisis que se realizan con más frecuencia deben ser objeto de procedimientos sistemáticos de control de calidad incorporando el uso de cartas de control y muestras de verificación.

8.13 Control de calidad Externo: (también conocido como evaluación externa de la calidad) por ejemplo las pruebas de desempeño. Una forma reconocida para un laboratorio de llevar un seguimiento de su desempeño en contra de sus propios requisitos, así como de los de laboratorios pares, es mediante la participación periódica en esquemas de pruebas de desempeño. Estas pruebas ayudan a resaltar el desempeño de la reproducibilidad entre laboratorios y los errores sistemáticos, es decir, el sesgo. También pueden usarse para determinar la repetibilidad aunque ésta también puede verificarse, de manera más efectiva, usando controles internos. Las pruebas de desempeño y otros tipos de intercomparaciones se aceptan como medios importantes para dar seguimiento a la trazabilidad a niveles nacionales e internacionales. Los cuerpos de acreditación reconocen el beneficio de estos esquemas y alientan a los laboratorios a participar en pruebas de aptitud como parte integral de sus protocolos de aseguramiento de calidad. Es importante dar seguimiento a los resultados de estas pruebas como una forma de verificar el aseguramiento de calidad y tomar las acciones necesarias. En ciertos casos, los cuerpos de acreditación pueden especificar la participación en un esquema de prueba de aptitud en particular, como un requisito para la acreditación. El valor de las pruebas de aptitud es sólo tan bueno como los esquemas mismos. A menudo, puede ser que no existan esquemas disponibles que sean relevantes para los tipos de análisis que el laboratorio desea verificar, especialmente si se está trabajando aisladamente.

9. Documentación de los métodos validados

9.1 Una vez que el proceso de validación está completo, es importante documentar los procedimientos para que el método pueda ser implementado claramente y sin ambigüedades. Existe un gran número de razones para hacerlo, las diversas evaluaciones del método, realizadas durante el proceso de validación, suponen que en la práctica, dicho método será usado de la misma forma cada vez. De no ser así, el desempeño real del método no corresponderá a aquél predicho por los datos de validación. De esta forma, la documentación debe limitar el alcance por introducir variaciones accidentales al método. Además, la documentación adecuada es necesaria para propósitos de auditoría y de evaluación, y puede requerirse para fines contractuales o normativos.

- 9.2 La documentación apropiada del método ayudará a asegurar que la aplicación del mismo sea consistente en cada ocasión.
- 9.3 Puesto que la calidad de la documentación de un método tiene un efecto directo sobre la consistencia de su aplicación, en consecuencia, tiene también influencia en su reproducibilidad y en la estimación de la incertidumbre asociada. De hecho, la contribución a la incertidumbre asociada con métodos documentados de manera inapropiada, puede ser tan grande que haga que el método sea inservible. Cualquier anomalía en la documentación se debe resolver antes de obtener una estimación razonable de la incertidumbre.
- 9.4 No es sencillo documentar un método apropiadamente. La información debe aparecer en el orden aproximado en el cual se supone que el usuario la necesitará. Una falla común es suponer que cualquiera entenderá la mecánica del método de la misma forma que la persona que lo ha desarrollado y documentado. Esta suposición puede ser peligrosa. Una forma útil de probar si la documentación es adecuada, es pedirle a un colega competente que trabaje exactamente en la forma descrita. Si esto corresponde a lo esperado, entonces, el método documentado está suficientemente soportado para ser utilizado por una gran variedad de analistas y producir resultados consistentes. Si esto no ocurre, será necesario volver a redactar para describir los procedimientos con más detalle y reducir ambigüedades.
- 9.5 Varias normas proporcionan una guía sobre la clase de información que debe incluirse cuando se documenta un método. Desde el punto de vista químico, probablemente las más útiles son las series ISO 78, las cuales describen la documentación para diferentes tipos de métodos de análisis químicos (los organismos de normalización producen, validan y documentan un gran número de métodos cada año y necesitan de un planteamiento tan consistente como sea posible para producir estas normas para el beneficio de sus propios comités técnicos). La ISO 78/2 ^[27] recomienda la forma de documentación de los métodos químicos generales. En el anexo B, se incluye un plan basado en esta norma. Las normas indican un orden lógico del material con encabezados recomendados y sugieren el tipo de información que debe aparecer en cada encabezado. Cuando se utilicen estas normas, el lector deberá notar la necesidad de balancear la flexibilidad de un enfoque contra la consistencia. Aunque es deseable que todos los métodos tengan el mismo formato de documentación, también debe reconocerse que no todos los métodos garantizan el mismo grado de detalle, y frecuentemente será apropiado omitir algunas de las secciones recomendadas de la documentación.
- 9.6 Un laboratorio que documenta sus propios métodos puede verse beneficiado al desarrollar su propio estilo. Así como presentar la información relevante de un modo lógico y sencillo, lo cual también facilita que la carga de la escritura de un método sea repartida entre diversos autores. El borrador generado por varios autores puede ser revisado, en cuanto a su consistencia, por una sola autoridad de revisión.

- 9.7 Los métodos documentados forman una parte importante del sistema de calidad de un laboratorio y deben ser objeto de un grado de control de documentación apropiado. El propósito de esto es asegurar que se utilicen realmente sólo los métodos y procedimientos que han sido autorizados como convenientes para su uso. Por lo tanto, como parte del proceso de documentación, los métodos deben contener información que permita al usuario juzgar si el método se ha autorizado para su uso y si está completo. Otra clase de información que debe estar disponible es la concerniente al número de versión y fecha del método, el autor, cuántas copias existen y las restricciones del copiado.
- 9.8 Con el tiempo los métodos requerirán actualización. Por ejemplo, la tecnología que soporta el procedimiento pudo haber sido mejorada por lo que será necesario corregir la documentación. El control de la documentación permite el fácil retiro de los métodos obsoletos y la edición de métodos revisados. Actualmente, el proceso de control de documentos se ha simplificado de manera significativa mediante el uso de procesadores de palabras. Los cambios deben hacerse solamente por las personas autorizadas. Esto puede controlarse con el procesador de palabras mediante la difusión de los archivos relevantes con acceso de sólo lectura y con limitación del acceso a la escritura.

10. Implicaciones de la validación de los datos para calcular resultados y para realizar informes.

- 10.1 Es importante que el analista sea capaz de traducir los datos generados durante el análisis de las muestras usando un método validado, en respuestas que se relacionen directamente con la resolución de los problemas del cliente. Las características de desempeño establecidas durante el proceso de validación ayudan a hacer esto. Los datos de precisión para la repetibilidad y la reproducibilidad pueden usarse para establecer si las diferencias encontradas durante el análisis son significativas. Los controles de calidad basados en la validación de los datos pueden usarse para confirmar que el método está bajo control y que se están produciendo resultados significativos. La estimación de la incertidumbre de la medición, asociada con el desempeño del método, permite la expresión del resultado como un intervalo de valores dentro del cual se puede decir que se encuentra el valor verdadero de la medición con un nivel de confianza aceptado.
- 10.2 Es importante que el analista tenga acceso a los datos de validación que pueden usarse para apoyar la validez de los resultados, sin importar si esta información será proporcionada o no al cliente. Muy a menudo, el cliente no tiene las habilidades técnicas para apreciar el significado de los datos. En tales circunstancias puede ser más seguro poner a disposición los datos sólo si éstos son solicitados.
- 10.3 Cuestiones tales como, validación de métodos, variabilidad e incertidumbre de medición, necesitan tratarse cuidadosamente en ciertas circunstancias, por

ejemplo, en contextos legales o forenses. Puede ser mejor estar concientes de la existencia de la incertidumbre asociada a las mediciones y estar preparados para justificar las decisiones tomadas bajo el amparo de que se conoce esa incertidumbre.

- 10.4 Se debe tener cuidado cuando se pretende usar un resultado analítico, con su incertidumbre inherente, para tratar de decidir si el envío original a partir del cual se tomó la muestra cumple o no con una especificación o límite. Tal decisión puede no ser responsabilidad del analista, sin embargo, se le puede solicitar que proporcione un consejo técnico que ayude en el proceso de toma de decisiones.
- 10.5 Cuando se reportan los resultados, el analista debe decidir si los corrige por cualquier sesgo que haya sido detectado o si informa los resultados sin correcciones pero con el conocimiento de la existencia de un sesgo.
- 10.6 Se debe tener cuidado cuando se reportan resultados como “no detectados”. Este enunciado en sí no proporciona información y debe ser acompañado de una explicación de cuál es el límite de detección en ese caso. Algunas veces es apropiado informar un valor numérico a pesar de que éste puede estar por debajo del límite de detección aparente.
- 10.7 Como se ha explicado con anterioridad, mucha de la información requerida para evaluar la incertidumbre se obtiene a partir del proceso de validación. Se asume que antes de que el método sea usado sobre muestras desconocidas, el laboratorio debe demostrar que puede alcanzar los parámetros de desempeño establecidos en el método, que tiene datos de control de calidad satisfactorios y resultados apropiados de las mediciones sobre materiales de referencia. En tal caso, los factores extras que necesitan tomarse en cuenta en la evaluación de la incertidumbre del resultado de una medición sobre una muestra desconocida, son las diferencias entre la composición de la matriz de la muestra y la muestra usada en la validación del método. Esto incluiría diferencias que afectarían la recuperación del analito o que provocarían interferencias que afectarían el resultado medido.
- 10.8 Cuando se requiere una declaración de incertidumbre junto con los resultados, es conveniente expresar una incertidumbre expandida aplicando un factor de cobertura apropiado. Por ejemplo un factor de 2, se aproxima a un nivel de confianza del 95%.

11. Referencias y Bibliografía

(a) Referencias citadas en el texto

1. The Manager's Guide to VAM, UK Department of Trade and Industry, Valid Analytical Measurement Programme.
2. Characterisation and Validation of Test Methods, J.S. Morkowski, artículo presentado en el EUROLAB Symposium, Berlin, 5-7 de junio de 1996.
3. Guidelines for Collaborative Study - Procedures to Validate Characteristics of a Method of analysis, AOAC International, revised May 1994, publicado originalmente en *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 72, 694-704 (1989).

Las notas 3, 4, y 6 son en realidad el mismo texto pero con algunas diferencias editoriales.

4. Harmonised Protocols for the Adoption of Standardised Analytical Methods and for the presentation of their Performance Characteristics, (IUPAC), *Pure & Appl. Chem.*, 1990, **62(1)**, pag. 149-162.
5. Pocklington, W.D., "Guidelines for the development of standard methods by collaborative trial", LGC, 5th Edition, 1990. ISBN 0 948926 03 1.
6. Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, (IUPAC), *Pure & Appl. Chem.*, 1995, **67(2)**, pag. 331-343.
7. ASTM E 1060 - 85: Standard Practice for Interlaboratory Testing of Spectrochemical Methods of Analysis.
8. UK Drinking Water Inspectorate (DWI) Information Letter 8/93.
9. AOAC Peer Verified Methods Program - Manual on policies and procedures, AOAC International, Arlington VA 22201-3301, USA.
10. International Conference on Harmonisation, *Draft Guideline on Validation of Analytical Procedures: Definitions and Terminology*, Federal Register, Volume 60, pag.11260, 1 de marzo de 1995.
11. ISO 11843-1:1997. Capability of detection - Part 1 Terms and definitions.
12. Nomenclature in evaluation of analytical methods, including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). *Pure & appl. Chem.*, 1995, **67**, 1699 - 1723.
13. Detection in analytical Chemistry - Importance, Theory, and Practice. L. A. Currie, ACS Symposium Series 361, American Chemical Society, Washington, DC 1988.

se recomiendan varios capítulos, particularmente el Cap. 4 (Kirchmer C.J.) y el Cap. 16 (Kurtz D.A. *et al.*).

14. Analytical Methods Committee, "Recommendations for the Definition, Estimation and Use of the Detection Limit", *The Analyst*, 1987, **112**, 199-204.
15. Sahai, H., Singh, R.P., "The Use of R^2 as a Measure of Goodness of Fit: An Overview", *Virginia Journal of Science*, 1989, **40(1)**, 5-9.
16. Analytical Methods Committee, "Uses (Proper and Improper) of Correlation Coefficients", *The Analyst*, 1988, **113**, 1469-1471.
17. Miller, J.N., "Basic Statistical Methods for Analytical Chemistry Part 2. Calibration and Regression Methods, A Review", *The Analyst*, 1991, **116**, 3-14.
18. ISO/IEC (with BIPM, IFCC, IUPAC, IUPAP, OIML): "Guide to the expression of uncertainty in measurement", 1993. ISBN 92 67 10188 9.
19. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 1st Ed, 1995, EURACHEM.
20. Ellison, S.L.R., Williams, A., "Measurement Uncertainty: the Key to the Use of Recovery Factors?", from "The Use of Recovery Factors in Trace Analysis", edited by Parkany, M., pub. Royal Society of Chemistry, 1996. ISBN:0-85404-736-0.
21. Youden, W. J., and Steiner, E. H., "Statistical Manual of the AOAC", Association of Official Analytical Chemists, 1975.
22. ISO/IEC Guide 30:1992. Terms and definitions used in conjunction with reference materials.
23. ISO 8402:1994. Quality - Vocabulary.
24. Harmonised guidelines for internal quality control in analytical chemistry laboratories, (IUPAC), *Pure & Appl. Chem.*, 1995, **67(4)**, pag. 649-666.
25. ISO 7870:1993. Control charts - General guide and introduction.
26. British Standard BS 5700:1984, + AMD 5480:1987. "Guide to process control using quality control chart methods and cusum techniques". (complements BS 5701:1980 and BS 5703:1980).
27. ISO 78-2:1982. Layouts for standards - Part 2: Standard for chemical analysis (en revision).

(b) Bibliografía relacionada con el desarrollo y validación de métodos para sectores específicos

	Sector
A Manual on Analytical Quality Control for the Water Industry, NS30, Water Research Centre, UK, 1989, ISBN 0 902156 85 3.	Análisis ambiental y agua
AOAC International - AOAC Peer-verified Methods Program	Análisis de alimentos
ASTM D 2777 - 86: Standard Practice for Determination of Precision and Bias of Applicable Methods of Committee D-19 on Water.	Análisis ambiental, precisión, sesgo
Codex Alimentarius Commission on Methods of Analysis and Sampling (CX/MAS 95/3; 1995); Criteria for evaluating acceptable methods of analysis for Codex purposes.	Análisis de alimentos
Green, J.M., "A Practical guide to Analytical Method Validation", <i>Analytical Chemistry News & Features</i> , 1/5/96, pp305A - 309A.	Farmacéuticos
<i>Guideline for Submitting Samples and Analytical Data for Methods Validation</i> , Food and Drug Administration, 1987.	Farmacéuticos
<i>Reviewer Guidance, Validation of Chromatographic Methods</i> , Center for Drug Evaluation and Research, Food and Drug Administration, 1994.	Farmacéuticos
ICH Topic Q2 Validation of Analytical Methods, The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products:	Farmacéuticos
ICH Topic Q 2 A - Definitions and Terminology (CPMP/ICH/381/95).	
ICH Topic Q 2 B - Methodology (CPMP/ICH/281/95).	
USA - Environment Protection Agency - Report on Minimum Criteria to Assure Data Quality, July 1989	Aseguramiento de calidad. Análisis ambiental
Validation of methods for the analysis of soils from potential contaminated land. Recommendations of the Working group on Soil Analysis, UK Department of the Environment	Análisis ambiental

(c) Otras referencias y bibliografía

	Interés
Analytical Methods Committee, "Uncertainty of measurement: Implications of its use in analytical science, <i>The Analyst</i> , 1995, 120 , 2303-2308.	Incertidumbre de medición
Association of Public Analysts, "A Protocol for Analytical Quality Assurance in Public Analysts' Laboratories", APA, London, 1986.	Aseguramiento de calidad
ASTM C-26 Proposal P 207. "Proposed Terminology Relating to Precision and Bias Statements in Test Method Standards".	Terminología precisión, sesgo
ASTM C 1009 - 83: "Standard guide for Establishing a Quality	Aseguramiento de

Assurance Program for Analytical Chemistry Laboratories Within the Nuclear Industry".	calidad
ASTM D 4210 - 89: "Standard Practice for Intra laboratory Quality Control Procedures and a Discussion on reporting Low-level Data".	Control de calidad
ASTM D 4621 - 92b: "Standard Guide for Accountability and Quality Control in the Coal Analysis Laboratory".	Aseguramiento y control de calidad
ASTM D 4697 - 87: "Standard Guide for Maintaining Test Methods in the User's Laboratory".	Aseguramiento y control de calidad
ASTM E 1212 - 92: "Standard Practice for Establishment and Maintenance of Quality Control Systems for non-destructive Testing Agencies".	Aseguramiento y control de calidad
ASTM E 882 - 87: "Standard Guide for Accountability and Quality Control in the Chemical Analysis Laboratory".	Control de calidad
BS 4778:Part 2:1991. "Quality vocabulary, part 2 - Quality concepts and related definitions".	Terminología
Caulcutt, R., Boddy, R., "Statistics for Analytical Chemists", Chapman and Hall, London, 1991.	Estadística
Compendium of Chemical Technology (IUPAC Recommendations), Blackwell Scientific, 1987, ISBN 0-632-01767-8.	Terminología
Dell, D., "Views on method validation", <i>Methodol. Surv. Biochem. Anal.</i> , 1990, Vol. 20, pp. 9-22.	Validación de métodos
Dietrich, C. F., "Uncertainty, calibration and probability", 2nd edition 1991, Adam Hilger, London.	Incertidumbre de medición
Dux, J. P., "Handbook of Quality Assurance for the Analytical Chemistry Laboratory", Van Nostrand Reinhold, New York, 1986.	Aseguramiento de calidad
EAL-G4 - "Accreditation for Chemical Laboratories - Guidance on the interpretation of the EN 45000 series of Standards and ISO/IEC Guide 25", edition 1, 4/93 (originally EURACHEM/ WELAC GD1/WGD2).	Aseguramiento de calidad
"Estimating uncertainties in testing - A guide to estimating and reporting uncertainties of measurement in testing" - 1st edition, October 1994 - British Measurement and Testing Association (BMTA).	Incertidumbre de medición
Garfield, F. M., "Quality Assurance Principles for Analytical Laboratories", Association of Official Analytical Chemists", Arlington VA, 1992.	Aseguramiento de calidad
"General Guidelines for use with a Protocol for Quality Assurance of Trace Analysis" (2nd draft), UK DTI VAM Programme.	Aseguramiento de calidad
Günzler, H., "Accreditation and Quality Assurance in Analytical Chemistry", Pub. Springer Verlag, 1994. ISBN 3-540-60103-1.	Aseguramiento de calidad, validación de métodos
ISO "VIM (International vocabulary of basic and general terms in metrology)", 2nd edition, 1993.	Terminología
ISO 3534-1:1993. "Statistics - Vocabulary and symbols - Part 1:	Estadística,

Probability and general statistical terms".	terminología
ISO 3534-2:1993. "Statistics - Vocabulary and symbols - Part 2: Statistical quality control".	Estadística, terminología
ISO 3534-3:1985. "Statistics - Vocabulary and symbols - Part 3: Design of experiments".	Estadística, terminología
ISO 5725-1:1994. "Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Part 1. General principles and definitions".	Terminología, exactitud
ISO 5725-2:1994. "Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Part 2. Basic methods for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method".	Exactitud
ISO 5725-3:1994. "Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Part 3. Intermediate measures of the precision of a standard measurement method".	Exactitud
ISO 5725-4:1994. "Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Part 4. Basic methods for the determination of the trueness of a standard measurement method".	Exactitud
ISO 5725-6:1994. "Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Use in practice of accuracy values".	Exactitud
ISO 7873:1993. "Control charts for arithmetic average with warning limits".	Estadística, control de calidad
ISO 7966:1993. "Acceptance control charts".	Estadística, control de calidad
ISO 8258:1991. "Shewhart control charts".	Estadística, control de calidad
ISO/CD 5725-5. "Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Part 5. Alternative methods for the determination of the precision of a standard measurement method".	Exactitud
ISO/DIS 11095 (April 1993). "Linear calibration using reference materials".	Calibración, materiales de referencia
ISO/IEC Guide 2:1991. "General terms and their definitions concerning standardisation and related activities".	Terminología
ISO/IEC Guide 32 (in preparation). "Calibration of chemical analyses and use of certified reference materials".	Calibración, materiales de referencia
ISO/IEC Guide 33:1989. "Uses of certified reference materials".	Materiales de referencia
ISO/TAG4/WG3:1993. "Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement".	Incertidumbre de medición
Kateman, G., Buydens, L., "Quality Control in Analytical Chemistry", J	Aseguramiento y

Wiley & Sons, 1991.	control de calidad
Mesley, R. J., Pocklington, W. D., Walker R. F., "Analytical Quality Assurance - A Review", <i>Analyst</i> , 1991, 116 (10) , 975-1092.	Aseguramiento de calidad
Miller, J. C., and Miller, J. N., "Statistics for Analytical Chemistry", Ellis Horwood, Chichester, 1988.	Estadística
Murdoch, J., "Control Charts", Macmillan 1979.	Estadística, control de calidad
NATA - Technical Note #17 - "Requirements for the Format and Content of Test Methods and Recommended Procedures for the Validation of Test Methods".	Documentación y validación de métodos
"Nomenclature for the Presentation of Results of chemical analysis (IUPAC Recommendations 1994)", <i>Pure & Appl. Chem.</i> , 1994, 66(3) , pp. 595-608.	Terminología, Estadística
Parkany, M., "Quality Assurance for Analytical Laboratories." Special publication 130, Royal Society of Chemistry, UK. ISBN 0-85186-705-7	Aseguramiento de calidad
Prichard, E., "Quality in the Analytical Chemistry Laboratory", ACOL, Wiley.	Aseguramiento de calidad
Taylor, B. N., Kuyatt, C. E., "Guidelines for evaluating and expressing uncertainty in NIST measurement results", NIST technical note 1297, 1994, National Institute of Standards and Technology.	Incertidumbre de medición
Taylor, J. K., "Quality Assurance of Chemical Measurements", Lewis Publishers, Michigan, 1987. ISBN 0-87371-097-5.	Aseguramiento de calidad
"Validation of test methods - General principles and concepts (sic)", Committee paper EAL/GA(96)58, European Accreditation of Laboratories, Oct. 1996.	Validación de métodos
WECC Document 19 1990.	Incertidumbre de medición

ANEXO A - Definiciones**Contenido**

A1	Exactitud ...de un instrumento de medición	A19	Recuperación
A2	Sesgo	A20	Material de referencia ...Certificado
A3	Curva de Calibración	A21	Repetibilidad ...de los resultados de medición ...de un instrumento de medición Desviación estándar de Límite de... "r"
A4	Reactividad cruzada	A22	Reproducibilidad Desviación estándar de... Límite de... "R"
A5	Discriminación Umbral de...	A23	Tiempo de respuesta
A6	Error ...de medición ...aleatorio ...sistemático	A24	Resultado de una medición
A7	Falsos Negativos/Positivos	A25	Prueba de Robustez
A8	Adecuación al propósito	A26	Selectividad ...de un análisis
A9	Media límite	A27	Sensibilidad
A10	Límite de Detección Concentración mínima detectable Límite de Decisión Límite de Determinación	A28	Especificidad
A11	Límite de Cuantificación Límite de reporte	A29	Desviación Estándar
A12	Linealidad	A30	Trazabilidad
A13	Mensurando	A31	Veracidad
A14	Medición Procedimiento de... Método de...	A32	Incertidumbre (de medición) ...Estándar ...Estándar Combinada ...Expandida Factor de cobertura
A15	Precisión ...Intermedia	A33	Validación ...de métodos
A16	Prueba de desempeño	A34	Valor ...de referencia aceptado ...verdadero ...convencional verdadero
A17	Calidad Aseguramiento de... Control de...	35	Verificación
A18	Intervalo ...de medición y de trabajo		

A1 Exactitud

‘Es la proximidad de concordancia entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado.’

Nota: El término exactitud cuando se aplica a una serie de resultados de prueba, involucra una combinación de componentes aleatorios y una componente de error sistemático o sesgo.’

[ISO 3534-1]

‘La cantidad referida a las diferencias entre la media de una serie de resultados o un resultado individual y el valor el cual se acepta como valor verdadero o correcto para la cantidad medida.’

[IUPAC Compendium of Chemical Technology, 1985]

A1.1 Exactitud (de un Instrumento de Medición)

‘Aptitud de un instrumento de medición para dar respuestas cercanas a un valor verdadero.’

Nota: En este contexto la exactitud es un concepto cualitativo.’

[IUPAC ‘Orange’ Book]

A2 Sesgo:

‘La diferencia entre el valor esperado de los resultados de prueba y un valor de referencia aceptado.’

Note: El sesgo es el error sistemático total en contraste con el error aleatorio. Puede existir uno o más componentes del error sistemático que contribuyen al sesgo. Una mayor diferencia sistemática con respecto al valor de referencia aceptado se refleja por un valor de sesgo mayor.’

[ISO 3534-1]

‘Caracteriza al error sistemático en un procedimiento analítico dado y es la desviación (positiva o negativa) de la media de los resultados analíticos con respecto al valor verdadero (conocido o aceptado).’

[IUPAC Compendium of Chemical Technology, 1985]

‘La diferencia entre la media límite (μ) y el valor verdadero (τ); es decir, $\Delta = \mu - \tau$.’

[IUPAC ‘Orange’ Book]

A3 Curva de Calibración:

‘Representación gráfica de la señal de medición como una función de la cantidad de analito.’

[AOAC - PVMC]

A4 Reactividad cruzada:

‘Respuesta (del método) a analitos equivalentes, metabolitos u otros componentes no buscados que pueden estar presentes en la matriz.’

[AOAC - PVMC]

A5 Discriminación

‘La aptitud de un instrumento de medición para responder a pequeños cambios en el valor del estímulo (o señal de entrada).’

[VIM 1984]

A5.1 Umbral de discriminación:

‘El cambio más pequeño en un estímulo (o señal de entrada) que produce un cambio perceptible en la respuesta de un instrumento de medición.’

Nota: El umbral de discriminación puede depender de, por ejemplo, el ruido (interno o externo), la fricción, la humedad, la inercia, etc.’

[VIM 1984]

A6 Error (de Medición):

‘El resultado de una medición menos el valor verdadero del mensurando.’

Nota: Puesto que un valor verdadero no puede determinarse, en la práctica se utiliza un valor verdadero convencional.

[VIM 1993]

‘El valor de un resultado menos el valor verdadero.’

[IUPAC Compendium of Chemical Technology, 1985]

A6.1 Error Aleatorio:

‘Resultado de una medición menos la media que resultaría de un número infinito de mediciones del mismo mensurando realizadas bajo condiciones de repetibilidad.’

Nota: El error aleatorio es igual al error menos el error sistemático. Debido a que sólo puede realizarse un número finito de mediciones, es posible determinar sólo un estimado del error aleatorio.’

[VIM 1993]

‘La diferencia entre un valor observado (x_i) y la media límite (μ); es decir, $\delta = x_i - \mu$.’

[IUPAC ‘Orange’ Book]

A6.2 Error Sistemático:

‘Media que resultaría de un número infinito de mediciones del mismo mensurando realizadas bajo condiciones de repetibilidad menos un valor verdadero del mensurando.’

Nota: El error sistemático es igual al error menos el error aleatorio. Como el valor verdadero, el error sistemático y sus causas no pueden ser conocidos.

[VIM 1993]

A7 Falsos Negativos / Positivos:

‘Para métodos cualitativos el índice de falsos positivos/negativos puede ser determinada. Deberán proporcionarse los datos de una comparación confirmatoria de métodos si tal(es) método(s) es(son) aplicable(s) a la(s) misma(s) matriz(ces) e intervalo(s) de concentración. En ausencia de una comparación de métodos, las poblaciones de muestras fortificadas negativas y positivas deben ser analizadas. Los falsos positivos/negativos pueden determinarse de la siguiente forma:

Índice de falso positivo (%) = falsos positivos X 100 / total de negativos conocidos

Índice de falso negativo (%) = falsos negativos X 100/ total de positivos conocidos

[AOAC Research Institute - Performance tested Methods Programme, Procedure]

A8 Adecuación al propósito:

‘Grado al cual los datos producidos por un proceso de medición permiten a un usuario tomar decisiones técnica y administrativamente correctas para un propósito establecido.’

[IUPAC ‘Orange’ Book]

A9 Media límite:

‘El valor asintótico o media poblacional de la distribución que caracteriza la magnitud medida; el valor que se alcanza conforme el número de observaciones se aproxima al infinito.’

[IUPAC ‘Orange’ Book]

A10 Límite de Detección:

‘El menor contenido que puede medirse con una certeza estadística razonable.’

[AOAC - PVMC]

‘La menor concentración del analito en una muestra que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse bajo las condiciones establecidas de la prueba.’

[NATA Tech Note #13]

‘El límite de detección, expresado como la concentración c_L , o la cantidad q_L , se deriva de la medida más pequeña x_L , que puede detectarse con certeza razonable por un procedimiento analítico dado. El valor de x_L es dado por la ecuación:

$$x_L = x_{bl} + k s_{bl}$$

donde x_{bl} es la media de las mediciones del blanco y s_{bl} la desviación estándar de las mediciones del blanco y k es un factor numérico elegido de acuerdo al nivel de confianza deseado.'

[IUPAC Compendium of Chemical Technology, 1985]

También puede identificarse como **Concentración neta mínima detectable**, o **Límite de Determinación/Límite de Decisión**, los cuales se definen como:

'La concentración neta verdadera o la cantidad del analito en el material a analizarse la cual llevará, con una probabilidad de $(1-\beta)$, a la conclusión que la concentración del analito en el material analizado es mayor que la del blanco de matriz.'

[ISO/DIS 11843-1]

y

'El menor contenido de analito, si está presente, que será detectado y que puede ser identificado.'

[AOAC - PVMC]

Este tema es tratado con gran detalle por IUPAC ^[12].

A11 Límite de Cuantificación:

'(El contenido) igual o mayor que el menor punto de concentración en la curva de calibración.'

[AOAC - PVMC]

También se conoce como **Límite de Reporte**:

'La menor concentración de un analito que puede determinarse con una precisión (repetibilidad) y una exactitud aceptables bajo las condiciones establecidas de la prueba.'

[NATA Tech Note #13]

También se define como **Límite de Cuantificación**:

'Los límites de cuantificación son características de desempeño que marcan la habilidad de un proceso de medición química para 'cuantificar' adecuadamente un analito.'

Nota: La habilidad para cuantificar se expresa generalmente en términos de la señal o valor (verdadero) del analito que producirá estimaciones con una desviación estándar relativa (RSD) especificada, comúnmente del 10%.

Así: $L_Q = k_Q \sigma_Q$

Donde L_Q es el Límite de Cuantificación, σ_Q es la desviación estándar en ese punto, y k_Q es el multiplicador cuyo recíproco es igual a la RSD seleccionada y cuantificada. El valor por omisión de k_Q propuesto por La IUPAC es de 10.'

[IUPAC 'Orange' Book]

A12 **Linealidad:**

'Define la habilidad del método para obtener resultados de la prueba proporcionales a la concentración del analito.'

Nota: Se deduce que el intervalo lineal es el intervalo de concentraciones del analito dentro del cual los resultados de prueba obtenidos por el método son proporcionales a la concentración del analito.'

[AOAC - PVMC]

A13 **Mensurando:**

'Magnitud particular sujeta a medición.'

Nota: La especificación de un mensurando puede requerir indicaciones acerca de magnitudes tales como tiempo, temperatura y presión.'

[VIM 1993]

A14 **Medición:**

'Conjunto de operaciones que tienen por objeto determinar un valor de una magnitud'.

[VIM 1993]

A14.1 **Procedimiento de Medición:**

'Conjunto de operaciones, descritas específicamente, para realizar mediciones de acuerdo a un método determinado'.

Nota: Un procedimiento de medición es usualmente descrito en un documento, llamado algunas veces "procedimiento" y que proporciona suficientes detalles para que un operador pueda realizar una medición sin necesitar más información.'

[VIM 1993]

A14.2 **Método de Medición:**

'Secuencia lógica de operaciones, descrita genéricamente, utilizada en el desarrollo de las mediciones.'

[VIM 1993]

A15.1 **Precisión:**

'Es la proximidad de concordancia entre los resultados de pruebas independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas.'

*Nota: La precisión depende sólo de la distribución de los errores aleatorios y no se relaciona con el valor verdadero o valor especificado. La medida de la precisión generalmente se expresa en términos de imprecisión y se calcula como una desviación estándar de los resultados de la prueba. “Resultados de prueba independientes” significa que los resultados fueron obtenidos de tal forma que no son influenciados por cualquier otro resultado previo sobre el mismo o similar objeto de prueba. Las mediciones cuantitativas de la precisión dependen en forma crítica de las condiciones estipuladas. La **Repetibilidad** y la **Reproducibilidad** son series particulares de condiciones extremas.*

[ISO 3534-1]

‘Una medida de la reproducibilidad de las mediciones dentro de una serie, es decir, la dispersión de una serie alrededor de su valor central’

[IUPAC Compendium de Chemical Technology, 1985]

A15.2 Precisión Intermedia:

‘La precisión intermedia expresa la variación dentro de un laboratorio en: diferentes días, diferentes analistas, diferente equipo, etc.’

[ICH Q2A, CPMP/ICH/381/95]

A16 Pruebas de desempeño:

‘La evaluación periódica del desempeño de laboratorios individuales y grupos de laboratorios que se realiza mediante la distribución de materiales típicos por un organismo de prueba independiente, para que sean analizados por los participantes sin supervisión.’

[IUPAC ‘Orange’ Book]

A17 Calidad:

‘La totalidad de propiedades y características de un producto o servicio que se refieren a su capacidad para satisfacer necesidades declaradas o implícitas’.

[ISO 8402:1994]

A17.1 Aseguramiento de la Calidad:

‘Todas aquellas actividades planeadas y sistemáticas implementadas dentro del sistema de calidad y demostradas como necesarias para proporcionar una confianza adecuada de que una entidad cumplirá sus requisitos de calidad.’

[ISO 8402:1994]

A17.2 Control de Calidad:

‘Las técnicas y actividades operacionales que son usadas para satisfacer los requisitos de calidad.’

[ISO 8402:1994]

A17.3 Control de Calidad Interno:

‘Serie de procedimientos asumidos por el personal de un laboratorio para el continuo seguimiento de las operaciones y de los resultados de las mediciones con el fin de decidir si los resultados son lo suficientemente confiables como para ser emitidos’.

[IUPAC ‘Orange’ Book]

A18 Intervalo (de Medición – de Trabajo):

‘Conjunto de valores del mensurando para los cuales se pretende que el error de un instrumento de medición caiga dentro de límites especificados.’

[IUPAC ‘Orange’ Book]

A19 Recuperación(*):

‘La fracción de analito adicionada a una muestra de prueba (muestra fortificada o adicionada) previa al análisis que es determinada efectivamente por el método; el porcentaje de recuperación (%R) entre las muestras fortificadas y sin fortificar se calcula como sigue:

$$\%R = [(CF-CU)/CA] \times 100$$

Donde CF es la concentración de analito medida en la muestra fortificada; CU es la concentración de analito medida en la muestra sin fortificar; CA es la concentración del analito adicionado (valor medido, no determinado por el método) en la muestra fortificada.’

[AOAC-PVMC]

(*) **Nota del traductor:** Definición corregida por el traductor

A20 Material de Referencia (MR):

‘Material o sustancia en la cual uno o más valores de sus propiedades son suficientemente homogéneos y bien definidos como para ser utilizados en la calibración de aparatos, en la evaluación de un método de medición o para asignar valores a otros materiales.

Nota: El término “material de referencia” se refiere a materiales que a menudo se llaman patrones de medición, por ejemplo las sustancias químicas utilizadas para fines de calibración o identificación. Se debe tener cuidado cuando se utiliza el término “standard” ya que se utiliza en dos contextos diferentes. El término puede referirse a “measurement standard” en el sentido de material de referencia o puede referirse a las normas escritas tales como “Standard Methods” Es importante asegurar que la distinción este siempre clara. Ver nota del traductor en la Sección 6.54 de este documento acerca de la traducción del término en inglés “standard”.

[ISO/IEC Guide 30 - 1992, 2.1]

A20.1 Material de Referencia Certificado (MRC):

‘Material de referencia acompañado de un certificado, en el cual uno o más valores de sus propiedades están certificados por un procedimiento que establece trazabilidad a una realización exacta de la unidad en la cual se expresan los valores de la propiedad y en el que cada valor certificado se acompaña de una incertidumbre con un nivel declarado de confianza.’

[ISO/IEC Guide 30 - 1992, 2.2]

A21 Repetibilidad:

‘Precisión en condiciones de repetibilidad, es decir, condiciones según las cuales los resultados independientes de una prueba se obtienen con el mismo método, sobre objetos de prueba idénticos, en el mismo laboratorio, por el mismo operador, usando el mismo equipo y dentro de intervalos de tiempo cortos.’

[ISO 3534-1]

A21.1 Repetibilidad (de resultados de mediciones):

La proximidad de concordancia entre los resultados de mediciones sucesivas del mismo mensurando realizadas bajo las mismas condiciones de medición.’

[IUPAC ‘Orange’ Book]

A21.2 Repetibilidad (de un instrumento de medición):

‘Aptitud de un instrumento de medición para proporcionar indicaciones muy semejantes entre sí por aplicaciones repetidas del mismo mensurando bajo las mismas condiciones de medición.’

[IUPAC ‘Orange’ Book]

A21.3 Desviación Estándar de Repetibilidad:

‘La desviación estándar de los resultados de una prueba obtenidos bajo condiciones de repetibilidad

Nota: Ésta es una medida de la de dispersión de la distribución de los resultados de prueba bajo condiciones de repetibilidad. Igualmente, la “varianza de repetibilidad” y el “coeficiente de variación de repetibilidad” pueden definirse y utilizarse como medidas de la dispersión de los resultados de una prueba bajo condiciones de repetibilidad.’

[ISO 3534-1]

A21.4 Límite de Repetibilidad “r”:

‘El valor menor o igual a aquél de la diferencia absoluta entre dos resultados de prueba individuales, obtenidos bajo condiciones de repetibilidad, el cual se espera con una probabilidad de 95%’.

(El límite de) la repetibilidad se da por la fórmula:

$$r = t_{\infty} \times \sqrt{2} \times \sigma_r$$

donde t_{∞} es el valor de Student en dos sentidos para $v = \infty$ a una confianza dada (el nivel de confianza normal establecido es de 95% cuyo valor es 1,96), y σ_r es la desviación estándar medida bajo condiciones de repetibilidad (Véase A20.3).

[ISO 3534-1]

A22 Reproducibilidad:

‘Precisión bajo condiciones de reproducibilidad, es decir, condiciones según las cuales los resultados de prueba se obtienen con el mismo método, sobre objetos de prueba idénticos, en diferentes laboratorios, por diferentes operadores, usando diferentes equipos.

Nota: Una definición válida de reproducibilidad requiere que se especifiquen las condiciones de prueba modificadas. La reproducibilidad puede expresarse cuantitativamente en términos de la dispersión de los resultados.’

[ISO 3534-1]

A22.1 Desviación Estándar de la Reproducibilidad:

‘La desviación estándar de los resultados de prueba obtenidos bajo condiciones de reproducibilidad.

Nota: Ésta es una medida de la dispersión de la distribución de los resultados de prueba bajo condiciones de reproducibilidad. Igualmente, la “varianza de reproducibilidad” y el “coeficiente de variación de reproducibilidad” pueden definirse y utilizarse como medidas de la dispersión de los resultados de una prueba bajo condiciones de reproducibilidad.’

[ISO 3534-1]

A22.2 Límite de Reproducibilidad “R”:

‘El valor menor o igual a aquél de la diferencia absoluta entre dos resultados de prueba individuales, obtenidos bajo condiciones de reproducibilidad, el cual se espera con una probabilidad de 95%.

(El límite de) la reproducibilidad se da por la fórmula:

$$R = t_{\infty} \times \sqrt{2} \times \sigma_R$$

donde t_{∞} es el valor de Student de dos colas para $v = \infty$ a una confianza dada (el nivel de confianza normal establecido es de 95% cuyo valor es 1,96), y σ_R es la desviación estándar medida bajo condiciones de reproducibilidad (véase A21).’

[ISO 3534-1]

A23 Tiempo de Respuesta:

‘El intervalo de tiempo entre el instante en el cual una señal de entrada es sometida a un cambio brusco especificado y el instante en el cual la señal de salida alcanza y permanece, dentro de límites especificados, su valor estable final.

[VIM 1984]

A24 Resultado de una Medición

‘Valor atribuido a un mensurando, obtenido por medición.

Nota: Cuando se usa el término “resultado de una medición”, deberá aclararse si se refiere a: la indicación, al resultado no corregido, al resultado corregido y si es el promedio de varios valores. Una expresión completa del resultado de una medición incluye información acerca de la incertidumbre de la medición.’

[VIM 1993]

A25.1 Prueba de Robustez:

‘Estudio dentro del laboratorio para evaluar el comportamiento de un proceso analítico cuando se efectúan pequeños cambios en las condiciones ambientales y/o de operación, semejantes a aquéllos que pudieran surgir en los diferentes ambientes de prueba. La prueba de robustez permite obtener información de los efectos de cambios menores de una forma rápida y sistemática.

[AOAC - PVMC]

A25.2 (Robustez):

‘La robustez de un procedimiento analítico es una medida de su capacidad de permanecer inalterado por variaciones pequeñas pero deliberadas en los parámetros del método y proporciona una indicación de su confiabilidad durante su uso normal.’

[ICH Q2A, CPMP/ICH/381/95]

A26 Selectividad (o Especificidad):

‘La capacidad de un método para determinar exactamente y específicamente el analito de interés en presencia de otros componentes en una matriz de muestra bajo las condiciones de prueba establecidas.’

[NATA Tech Note #13]

A26.1 Selectividad (en un análisis):

‘Cualitativa - la medida hasta la cual otras sustancias interfieren en la determinación de una sustancia de acuerdo a un procedimiento dado.’

‘Cuantitativa - un término usado en conjunción con otros sustantivos (por ejemplo, constante de..., coeficiente de..., índice de..., factor de..., número de...) para la caracterización cuantitativa de interferencias’

[IUPAC Compendium de Chemical Terminology, 1987]

A27 Sensibilidad:

‘El cambio en la respuesta de un instrumento de medición dividido por el correspondiente cambio del estímulo.’

Nota: El estímulo puede ser por ejemplo, la cantidad del mensurando presente. La sensibilidad puede depender del valor de estímulo. Aunque esta definición se aplica claramente a un instrumento de medición, también puede aplicarse al método analítico como un todo, tomando en cuenta otros factores tales como el efecto de los niveles de concentración.’

[VIM 1984 y IUPAC ‘Orange’ Book]

A28 Especificidad:

‘La capacidad de un método para medir solamente lo que se pretende que mida.’

[AOAC - PVMC]

‘La especificidad es la capacidad de determinar el analito inequívocamente en presencia de componentes los cuales se espera que estén presentes. Comúnmente, esto puede incluir impurezas, degradantes, matriz, etc.’

[ICH Q2A, CPMP/ICH/381/95]

A29 Desviación Estándar:

Es una medida del grado de dispersión de los valores alrededor de una media en una distribución de valores.

La desviación estándar σ de toda la población de n valores está dada por:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \mu)^2}{n}}$$

Generalmente, en la práctica se analiza una muestra y no toda la población. La desviación estándar, s , para la muestra está dada por:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

A30 Trazabilidad:

Propiedad del resultado de una medición o del valor de un patrón por medio de la cual éstos pueden ser relacionados, con una incertidumbre determinada, a referencias establecidas, generalmente patrones nacionales o internacionales, a través de una cadena ininterrumpida de comparaciones.

[ISO/IEC Guide 30 - 1992, 3.8]

A31 Veracidad:

‘Es la proximidad de concordancia entre el valor promedio obtenido de una serie grande de resultados de prueba y un valor de referencia aceptado.

Note: La medida de la veracidad se expresa por lo general en términos de sesgo. La referencia a la veracidad como “exactitud de la media” no se recomienda generalmente.’

[ISO 3534-1]

A32 Incertidumbre (de Medición):

‘Parámetro asociado al resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que podrían atribuirse razonablemente al mensurando.

Nota: El parámetro puede ser, por ejemplo, una desviación estándar (o un múltiplo dado de ella), o la mitad de un intervalo de confianza. La incertidumbre de la medición comprende en general muchos componentes. Algunos de estos componentes pueden evaluarse a partir de la distribución estadística de los resultados de una serie de mediciones y pueden caracterizarse por medio de desviaciones estándar experimentales. Los otros componentes, que también pueden ser caracterizados por desviaciones estándar, son evaluados a partir de distribuciones de probabilidad supuestas basadas en la experiencia u otra información. Se entiende que el resultado de la medición es la mejor estimación del valor del mensurando y que todos los componentes de la incertidumbre, incluyendo aquéllos provenientes de efectos sistemáticos, tales como los componentes asociados con correcciones y patrones de referencia, contribuyen a la dispersión.’

[VIM 1993]

A32.1 Incertidumbre Estándar

‘ $u(x_i)$ - la incertidumbre del resultado de una medición expresada como una desviación estándar.’

[ISO GUM]

A32.2 Incertidumbre Estándar Combinada

‘ $u_c(y)$ - la incertidumbre estándar del resultado de una medición cuando el resultado se obtiene a partir de los valores de un cierto número de otras magnitudes y es igual a la raíz cuadrada positiva de una suma de términos, siendo éstos, las varianzas o covarianzas de esas otras magnitudes ponderadas de acuerdo a como varía el resultados de la medición con respecto esas magnitudes.’

[ISO GUM]

A32.3 Incertidumbre Expandida

‘ U - magnitud que define un intervalo alrededor del resultado de una medición el que se espera cubra una fracción grande de la distribución de los valores que podrían atribuirse razonablemente al mensurando.

Nota 1: *La fracción puede considerarse como la probabilidad de cobertura o nivel de confianza del intervalo.*

Nota 2: *Par asociar un nivel específico de confianza con el intervalo definido por la incertidumbre expandida, se requiere hacer suposiciones explícitas o implícitas con respecto a la distribución de probabilidad caracterizada por el resultado de medición y su incertidumbre estándar combinada. El nivel de confianza que puede atribuirse a este intervalo puede conocerse sólo hasta donde tales suposiciones pueden justificarse.*

Nota 3: *Una incertidumbre expandida U se calcula a partir de una incertidumbre estándar combinada u_c y un factor de cobertura k usando:*

$$U = k \cdot u_c$$

[ISO GUM]

A32.4 Factor de Cobertura

' k - factor numérico usado como multiplicador de la incertidumbre estándar combinada para obtener una incertidumbre expandida.

Nota: *El factor de cobertura se encuentra típicamente en el intervalo de 2 a 3'*

[ISO GUM]

A33.1 Validación:

'Confirmación mediante examen y suministro de evidencia objetiva de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto.'

[ISO 8402:1994]

A33.2 Validación de un Método:

1. El proceso de establecer las características de desempeño y limitaciones de un método y la identificación de las influencias que pueden modificar esas características y hasta que punto. ¿Qué analitos puede determinar el método, en qué matrices, en presencia de qué interferencias? ¿En esas condiciones, qué niveles de precisión y de exactitud pueden alcanzarse?
2. El proceso de verificación de que un método es adecuado a su propósito, o sea, para resolver un problema analítico particular.

Nota: *La definición 1. Es aplicable cuando un método se desarrolla sin tener en mente ningún problema en particular. La definición 2. es aplicable cuando el método se está desarrollando con un propósito específico. En química analítica otro uso comúnmente encontrado del término de validación es en el contexto de instrumentación. La **Validación de Instrumentos** se usa para describir el proceso de establecer que un instrumento en un momento dado es capaz de*

desempeñarse de acuerdo a la especificación diseñada. Estos procesos podrán alcanzarse, por ejemplo, mediante calibraciones o verificaciones de desempeño.

A34 Valor:

A34.1 Valor de Referencia Aceptado:

‘Un valor que sirve como referencia acordada para comparaciones y se deriva como:

- a) Un valor teórico o establecido, basado en principios científicos;
- b) Un valor asignado o certificado, basado en trabajo experimental de alguna organización nacional o internacional;
- c) Un valor de consenso o certificado, basado en trabajo experimental en colaboración bajo el auspicio de un grupo científico o de ingeniería.
- d) Cuando a), b), y c) no estén disponibles, la experimentación de la magnitud (medible), es decir, la media de una población específica de mediciones.’

[ISO 3534-1]

A34.2 Valor verdadero:

‘Valor consistente con la definición de una magnitud particular dada.

Nota: Este es un valor que sería obtenido de una medición perfecta. Por naturaleza, los valores verdaderos son indeterminados. El artículo indefinido “un” se prefiere en lugar del artículo definido “el” cuando se utilizan en conjunción con “valor verdadero” porque puede haber muchos valores consistentes con la definición de una magnitud particular dada.

[VIM 1993]

A34.3 Valor verdadero convencional:

‘Valor atribuido a una magnitud particular y aceptado, algunas veces por convención, por tener una incertidumbre apropiada para un propósito dado.

Nota: “Valor Verdadero Convencional” algunas veces es denominado “valor asignado”, “mejor estimado” del valor, “valor convencional” o “valor de referencia”. Frecuentemente, se utiliza un cierto número de resultados de medición de una magnitud para establecer un valor verdadero convencional.

[VIM 1993]

‘El Valor Verdadero Convencional (de una magnitud) es el valor atribuido a una magnitud particular y aceptado, algunas veces por convención, por tener una incertidumbre apropiada para un propósito dado.

Nota: No debe confundirse con el término valor de referencia’

[IUPAC ‘Orange’ Book]

A35 Verificación:

‘Confirmación mediante examen y suministro de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos especificados.

[ISO 8402:1994]

ANEXO B - PROTOCOLO DE DOCUMENTACIÓN DE MÉTODOS

La documentación adecuada de los métodos se discute en el capítulo 9 de esta guía. El siguiente formato se incluye como referencia de un arreglo conveniente. Éste se basa en parte sobre la ISO 78-2 ^[27], pero contiene sugerencias adicionales sobre calibración, control de calidad y control de la documentación.

B0 RESUMEN DE ACTUALIZACIÓN Y REVISIÓN

Esta sección tiene un doble propósito. Primero, se pretende permitir cambios menores al texto del método sin necesidad de una revisión total y una reimpresión del método. Segundo, se recomienda que todo método sea revisado periódicamente para verificar si continúa siendo adecuado a su propósito y el resumen sirve como un registro de que esto se ha realizado. Este resumen debe situarse al inicio del método, justo enseguida de la portada.

B0.1 ACTUALIZACIONES

Cualquier cambio escrito a mano al texto del método deberá aceptarse a condición de que los cambios también sean registrados en la tabla siguiente (se aceptan partidas escritas a mano) y que sean autorizados apropiadamente. Estaría implícito que la autorización respalda el hecho que los efectos de los cambios sobre la validación del método han sido investigados y no causan problemas y que los cambios se han aplicado a todas las copias del método.

#	Sección	Naturaleza del cambio	Fecha	Autorización
1	3.4	Cambiar el caudal de flujo a 1,2 ml·min ⁻¹	8/2/96	DGH

B0.2 REVISIÓN

En cualquier momento, se esperaría que la fecha en la cual se prevé que un método estará en uso se encuentre dentro del período de vigencia del método, es decir entre la revisión actual y la fecha de la próxima revisión, como se muestra en la tabla. Se ha sugerido que dos años es un intervalo adecuado para la revisión de un método.

Fecha de revisión	Observaciones de la revisión	Fecha de la siguiente revisión	Autorización

B1 TÍTULO

Formato recomendado:

Determinación de A{analito o mensurando} (en presencia de B{interferencia}) en C{matriz} usando D{principio}.

B2 ALCANCE

Esta sección permite a un usuario potencial revisar rápidamente si el método es o no adecuado para la aplicación deseada. Se deberán cubrir los siguientes aspectos:

- El (los) analito(s) que puede(n) determinarse por el método;
- La forma como se determina el(los) analito(s) - especiación, total/disponible etc.;
- La(s) matriz(ces) de muestra en la(s) que el(los) analito(s) puede(n) determinarse;
- El intervalo de concentración del analito(s) en el cual se puede usar el método;
- Las interferencias conocidas que impiden o limitan el trabajo del método;
- La técnica utilizada por el método;
- El tamaño mínimo de muestra.

B3 PRECAUCIONES Y ADVERTENCIA DE SEGURIDAD

Las precauciones detalladas pueden darse en las secciones adecuadas, pero en esta sección deben darse indicaciones sobre la existencia de riesgos y las precauciones necesarias. Incluye manejo de desechos.

Proporcione advertencias adecuadas de cualquier riesgo involucrado en:

- Manejo de muestras;
- Manejo o preparación de disolventes, reactivos, materiales de referencia u otros materiales;
- Operación del equipo;
- Necesidades de ambientes especiales para el manejo (por ejemplo, campanas de extracción)
- Consecuencias del escalamiento de experimentos (límites de explosión)

B4 DEFINICIONES

Defina cualquier término inusual, utilice definiciones ISO siempre que sea posible. Cite las fuentes. Las estructuras analíticas pueden incluirse aquí si son relevantes.

B5 PRINCIPIO

Se incluye un esbozo del principio de operación la técnica analítica. Un diagrama de flujo puede ayudar. Esta sección debe ser escrita de tal forma que con un vistazo al resumen se pueda entender como funciona el método. Incluya una explicación de los principios de los cálculos. Cuando sea apropiado aclarar como trabaja el método o los cálculos, incluya detalles de cualquier reacción química relevante (por ejemplo, esto puede ser importante cuando se involucra una derivación o una titulación).

Por ejemplo: 'La concentración se obtiene de una curva de calibración de 6 puntos mediante la lectura de la concentración correspondiente a la absorbancia de la muestra, con corrección por el valor del blanco y la multiplicación por el factor de concentración'.

B6 REACTIVOS Y MATERIALES

Elabore una lista de todos los reactivos, materiales, blancos, muestras de control de calidad, patrones y materiales de referencia certificados que se requieren para el proceso analítico, numerados para una referencia posterior. Liste:

- Detalles de cualquier riesgo incluyendo instrucciones para su desecho;
- Grado analítico;
- La necesidad de que los materiales de referencia para calibración y de control de calidad provengan de lotes independientes;
- Detalles de la preparación, incluyendo las necesidades de preparación anticipada;
- Requisitos de contenedores y de almacenamiento;
- Tiempo de vida en almacén de materias primas y de reactivos preparados;
- Concentración requerida, anotar ya sea, m/v, m/m, o v/v
- Requisitos de etiquetado;
- Disposición de residuos peligrosos.

B7 APARATOS Y EQUIPO

Describa con suficiente detalle los equipos por separado y como se conectan entre sí para evitar instalaciones dudosas. Enliste los requisitos mínimos de desempeño y de verificación, las referencias cruzadas a la sección de calibración y a cualquier manual relevante del instrumento. Numérelos para una referencia posterior. Para el material de vidrio, incluya el grado cuando sea aplicable (tenga en mente que el uso de un grado en particular puede requerir justificación y una prueba de cumplimiento). Incluya los requisitos ambientales (campanas de extracción, etc.).

Los esquemas y diagramas de flujo pueden ayudar a que esto sea más claro.

B8 MUESTREO Y MUESTRAS

Esta sección no pretende incluir la selección de muestras la cual probablemente se describirá por separado en un plan de muestreo.

Incluya suficiente detalle para describir como se recibe la porción de prueba y de como se realiza el muestreo en el laboratorio. Incluya los detalles del almacenamiento, del acondicionamiento y del manejo de residuos.

Si esta etapa es particularmente complicada, puede justificarse una sección por separado del método.

B9 CALIBRACIÓN

Identifique las partes críticas del proceso analítico. Éstas tendrán que controlarse con operación y calibración cuidadosas. Cruzar referencias con las secciones anteriores que corresponda.

Describa la calibración del equipo - ¿Qué equipo necesita ser calibrado, cómo, con qué y cada cuanto tiempo? Considere la trazabilidad apropiada de los calibrantes.

B10 CONTROL DE CALIDAD

Explique la forma del control de calidad, la frecuencia de las verificaciones del control de calidad durante el análisis de un lote, criterio de aceptación y rechazo, acciones a tomar en el caso de un rechazo. Cruzar referencias con las secciones anteriores que corresponda.

B11 PROCEDIMIENTO

Describa el procedimiento analítico, cruzando referencias con las secciones previas apropiadas, incluyendo los reactivos numerados, los aparatos e instrumentación. Cuando se expresen parámetros (como tiempo o temperatura) que sean críticos para el procedimiento, cruce referencias con las partes convenientes de la sección de calibración. Indique en que parte del procedimiento analítico deberá realizarse el control de calidad y el procedimiento de calibración.

B12 CÁLCULOS

Mostrar las fórmulas para calcular los resultados asegurándose de que todos los términos están claramente identificados y derivados. Indique los requisitos de verificación y las referencias cruzadas a los requisitos de control de calidad.

B13 REPORTE DE PROCEDIMIENTOS INCLUYENDO LA EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

Indique como deben reportarse los resultados incluyendo: redondeo de números; unidades finales; \pm la incertidumbre; el intervalo de confianza, etc.

B14 REFERENCIAS NORMATIVAS

Señale cualquier referencia que de un respaldo fundamental al método. Utilice el formato CHEMABS.

B15 (Apéndice sobre) VALIDACIÓN DE MÉTODOS

Dependiendo del volumen de los datos que soporten la validación, puede ser apropiado hacer una lista aquí o bien proporcionar una referencia a un archivo separado. Por ejemplo: Para el intervalo lineal, como se establece en la sección 3 “Alcance”, deberá haber datos, ya sea en este apéndice o en un archivo por separado, que muestren cómo se alcanzó el intervalo.

B16 (Apéndice sobre) INCERTIDUMBRE DE LA MEDICIÓN

Las fuentes principales de incertidumbre relacionadas al método deberán identificarse y listarse los valores asignados. Aquellas contribuciones que no se usaron en los cálculos finales porque se consideraron insignificantes deberán ser mencionadas. La incertidumbre total deberá listarse junto con una explicación de cómo fue obtenida. Un tratamiento más detallado puede encontrarse en un archivo de referencia cruzada.

ANEXO C - GRUPO DE TRABAJO DE EURACHEM

Este documento se ha realizado por un grupo de trabajo por correspondencia. Los miembros del grupo fueron:

Prof P de Bievre	IRMM, Belgium
Dr D Böttger	Hoechst AG, Germany
Dr C Eastwood	Zeneca Specialties, UK
Prof J Hlavay	University of Veszprem, Hungary
Mr M Holmgren	SP, Sweden (Eurolab Secretariat)
Dr W Horwitz	Food and Drug Administration, USA
Dr M Lauwaars	AOAC International, The Netherlands
Dr B Lundgren	SP, Sweden
Prof L Massart	Vrije Universiteit Brussel, Belgium
Prof J Miller	University of Loughborough, UK
Dr J Morkowski	EMPA, Switzerland
Dr B te Nijenhuis	Working Party on Analytical Chemistry (Secretary), The Netherlands
Ms B Nyeland	National Environment Research Institute, Denmark
Dr R Philipp	BAM, Germany
Dr P Radvila	EMPA St Gallen, Switzerland
Prof J Smeyers-Verbeke	Vrije Universiteit Brussel, Belgium
Dr R Stephany	RIVM, The Netherlands
Dr M Suchanek	Prague Institute of Chemical Technology, Czech Republic
Ms C Vandervorst	Dr L Willems Instituut vzw, Belgium
Dr H Verplaetse	Ministry of Economic Affairs - Central Laboratory, Belgium
Ms H Wallien	VTT, Finland
Dr M Walsh	The State Laboratory, Ireland
Prof W Wegscheider	Leoben University of Mining & Metallurgy, Austria
Dr D Westwood	Environment Agency, UK
Mr H J van de Wiel	RIVM, The Netherlands