

LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

F. Xavier Rius, Alicia Maroto, Ricard Boqué, Jordi Riu

Departamento de Química Analítica y Química Orgánica.

Instituto de Estudios Avanzados

Universitat Rovira i Virgili.

Pl. Imperial Tàrraco, 1. 43005-Tarragona. España.

Inauguramos con este primer trabajo una serie de artículos de divulgación que va a tener como denominador común la validación de las metodologías en el laboratorio de análisis. El concepto general de validación que se presenta hoy va a ir desarrollándose sucesivamente en sus aspectos más particulares. Vamos a tratar de la exactitud, precisión, selectividad, sensibilidad, linealidad, intervalos de aplicación, límites de detección y cuantificación o robustez de los métodos analíticos, entre otros aspectos. Especial atención van a merecer los apartados de trazabilidad e incertidumbre que, por su importancia práctica, van a tratarse con mayor extensión y profundidad.

El concepto de validación

Validar un método de análisis consiste en verificar y documentar su validez, esto es, su adecuación a unos determinados requisitos previamente establecidos. De hecho, la definición que proporciona la norma ISO 8402 [ISO, 1994] (ver Cuadro 1) es muy semejante.

Cuadro 1: Concepto de validación según ISO

Validación:

“confirmación mediante examen y provisión de evidencias objetivas que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico determinado” *ISO 8402*

Debemos resaltar el hecho que se valida con respecto a un uso específico determinado de antemano. Esta noción amplia de lo que implica la validación equivale al concepto de adecuación a la finalidad o propósito perseguido ‘*fit-for-purpose*’. La validación sería pues el proceso de verificar que un método es adecuado para su finalidad, esto es, adecuado para resolver un problema analítico particular. Como sucede con muchas definiciones, es necesario desarrollarlas para extraer todo su contenido. Hay unas cuantas preguntas que surgen inmediatamente y que requieren respuestas prácticas: ¿Porqué es necesario validar los métodos? ¿Cuándo y cuantas veces se debe validar un método? ¿Cómo se lleva a cabo? ¿Quién establece estos requisitos? ¿Cuántos requisitos existen? ¿Cuáles son?

¿Porqué es necesario validar los métodos de análisis?

El análisis se considera hoy en día un proceso mediante el cual obtenemos información. Se realizan millones de análisis cada día en el mundo en los ámbitos más variados: análisis de productos manufacturados, análisis medioambientales, análisis clínicos, forenses, químico y físicos,... En todos ellos se requiere una confianza en los resultados obtenidos. La validación de las metodologías analíticas, junto con otras actividades englobadas en la gran área del aseguramiento de la calidad, permiten conseguir calidad, otorgando la confianza necesaria a la vez que confieren un grado elevado de comparabilidad entre los resultados de los análisis químicos (ver Figura 1).

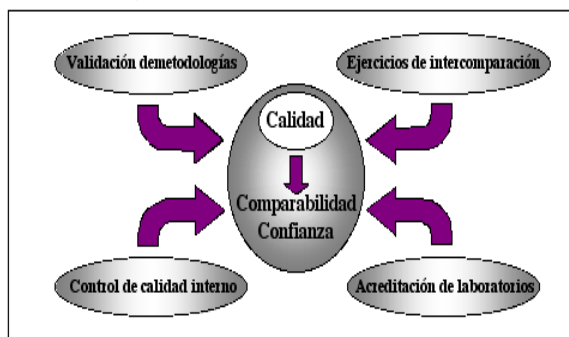


Figura 1: Pilares fundamentales para conseguir la calidad en los análisis químicos.

Si las medidas que se realizan son en el ámbito del análisis de magnitudes físicas, la calibración de aparatos e instrumentos adquiere un papel determinante (ver Figura 2)

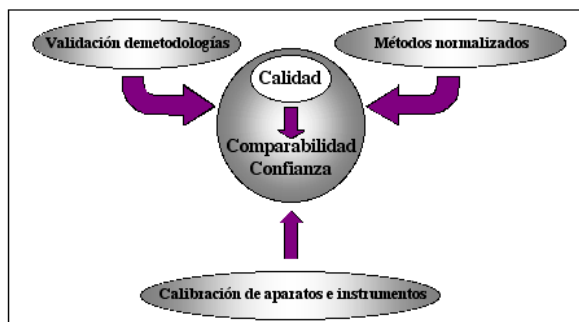


Figura 2: Pilares fundamentales para conseguir la calidad en los análisis físicos.

Desde la vertiente económica, los costes asociados al proceso analítico suelen ser elevados y surgen costes adicionales ligados a las decisiones que se toman sobre la base de los resultados obtenidos. No nos podemos permitir el lujo, por ejemplo, de que nos devuelvan un lote de producto expedido en función de unos resultados analíticos que erróneamente expresaban conformidad a la normativa vigente. Una correcta validación del método debería haber detectado la presencia de error en los resultados emitidos.

Los requisitos analíticos

Delante de un problema analítico determinado, idealmente el laboratorio debería acordar con el usuario de los resultados los requisitos analíticos que se precisan. Por ejemplo, si el laboratorio de una empresa realiza el control de un parámetro de un producto, dado que la compañía está bajo las normas de la serie ISO 9000, existe un nivel mínimo permitido. El responsable de expedición debe exigir que el resultado sea trazable y con un nivel de precisión suficientemente elevado para asegurar que el parámetro cumple con la normativa. El responsable del laboratorio sabe, a

su vez, que deberá utilizar un método analítico que tenga un límite de cuantificación por debajo del valor mínimo permitido. Así mismo, el responsable sabe la rapidez con la que debe dar el análisis i el coste que representa.

Por tanto, los requisitos analíticos para un uso determinado determinan los parámetros o criterios de calidad del método a utilizar para resolver el problema (Cuadro 2). Estos criterios de calidad, llamados *'performance characteristics'* o *'figures of merit'* en inglés, pueden ser de tipo estadístico o de tipo operativo/económico. Entre los primeros figuran los parámetros fundamentales de exactitud (relacionado con la trazabilidad) y precisión (relacionado con la incertidumbre) y los secundarios de

selectividad, sensibilidad, límites de identificación y cuantificación o robustez. La representatividad es, asimismo, un parámetro de calidad importante que está ligado fundamentalmente a la toma de muestras. Entre los criterios de tipo operativo/económico se encuentran la facilidad de comprensión del método y manejo de la instrumentación, la rapidez del análisis, su coste, la inversión, el mantenimiento, etc.

Cuadro 2: Parámetros de calidad de un método

Tipo matemático-estadístico	Tipo operatorio-económico
⇒ Exactitud, Trazabilidad	⇒ Inversión
⇒ Precisión, Incertidumbre	⇒ Mantenimiento
⇒ Representatividad	⇒ Rapidez
⇒ Sensibilidad	⇒ Facilidad de uso
⇒ Selectividad	⇒ Simplicidad
⇒ Límites	⇒ Gastos directos
⇒ Robustez	⇒ Gastos indirectos

En la realidad, muchas veces no está bien definido quién es el usuario de los resultados analíticos. El usuario puede ser un cliente externo, personal de la misma empresa que requiere resultados, la administración que se guía por la legislación vigente, una cierta normativa de cumplimiento voluntario o algún otro ente no definido. En otras ocasiones, el usuario no está capacitado para definir los requisitos analíticos. Sabe que quiere el resultado lo más rápidamente posible y a bajo coste pero difícilmente puede definir un cierto nivel de precisión o trazabilidad. El responsable del laboratorio, en numerosas ocasiones debe suplir al usuario en estas funciones a la vez que debe realizar cierta labor pedagógica para asignar el valor que tienen sus resultados.

La Guía EURACHEM titulada *'The fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to method Validation and Related Topics'* [EURACHEM, 1998] proporciona el siguiente esquema básico (Figura 3) que relaciona los requisitos analíticos con los parámetros de calidad que debe poseer el método seleccionado para la resolución del problema planteado.

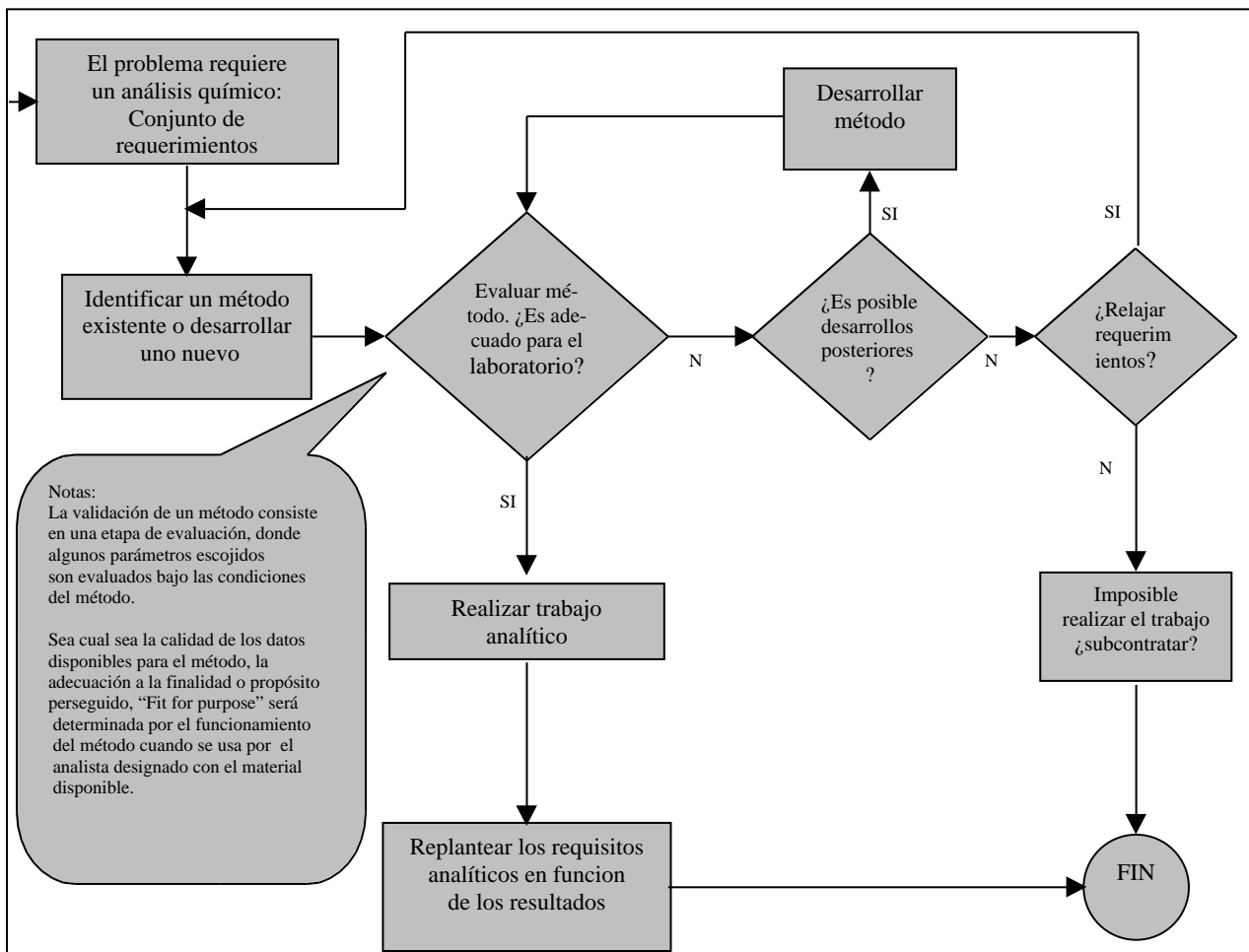


Figura 3: Elección, desarrollo y evaluación de métodos

¿Cuándo es necesario validar los métodos de análisis?

Muchas analistas consideran que un método estándar o de referencia, que ha sido validado por algún organismo que posee una cierta reputación, puede aplicarse directamente en nuestro laboratorio. La validación del método ya realizada se considera, erróneamente, una garantía suficiente para obtener resultados de calidad.

La razón es fácil de entender. Dado que existe cierto paralelismo entre el laboratorio de análisis y la cocina, vamos a utilizar la semejanza entre un procedimiento analítico ya validado y una receta descrita en un buen libro de cocina.

Existen muy buenas recetas que han sido previamente probadas y que se describen con todo lujo de detalles. ¿Basta ello para obtener un buen plato en nuestra cocina? Todos sabemos que no. Ocurre lo mismo con los métodos previamente validados. Sin duda, con ellos podemos alcanzar buenos resultados pero hace falta demostrar que funcionan en nuestro ámbito de trabajo. Por tanto, un método siempre debe validarse cuando es necesario verificar que sus parámetros de calidad se adecúan al problema analítico particular que debemos resolver en nuestro laboratorio. Por ejemplo, debe validarse:

- Un nuevo método desarrollado para una aplicación específica

- Un método establecido que se utiliza en un laboratorio diferente, con instrumentación y/o analistas distintos
- Un método establecido que se ha adaptado a un nuevo problema
- Un método en el que el control de calidad interno indica cambios con el tiempo

agua de consumo puede cometer errores al analizar aguas residuales. Este ejemplo sencillo ilustra sobre la importancia de considerar durante la validación las distintas matrices que nos encontraremos en las muestras de rutina.

Las normas básicas de la validación

Hay tres normas básicas que deben cumplirse cuando se ha de validar un método en nuestro laboratorio:

1. Debe validarse el procedimiento completo. A menudo se tiene la tendencia a considerar la etapa de medida instrumental como la más importante. En realidad, debido al avance de la instrumentación analítica, esta etapa es la que suele introducir menos error. Por el contrario las etapas previas, que requieren frecuentemente una intervención humana más elevada, son susceptibles de incorporar mayor sesgo y/o componentes de la incertidumbre mayores.
2. Debe validarse todo el intervalo de concentraciones. Todo analista experimentado conoce, por ejemplo, que la precisión del método varía con la concentración del analito. No es lo mismo analizar un componente que se encuentra a niveles traza o subtraza que a niveles de componente mayoritario o minoritario.
3. Debe validarse teniendo en cuenta la variedad de matrices. Parece evidente que un laboratorio que domina la determinación de cloruros en

¿Quién debe validar los métodos analíticos?

La validación constituye la última etapa del desarrollo de un nuevo método analítico. Si el método se presenta como novedad científica, es decir, cuando normalmente se publica en una revista de resultados de investigación, no suele ir acompañado de esta última etapa o ésta es muy sucinta. Si el método se desarrolla por una empresa para su uso interno, debe llevarse a cabo un cierto grado de validación para asegurar que funciona correctamente. Sin embargo, cuando alguna organización (como por ejemplo AOAC, ASTM, ...) desea adoptar un método como método de referencia, y va a ser utilizado por un cierto número de laboratorios, se requiere un proceso de validación completo. La organización debe asegurar la calidad del método llevando a cabo una serie de ensayos dentro del laboratorio y entre distintos laboratorios.

Sin embargo, desde la óptica del usuario, es importante remarcar que el laboratorio que desea utilizar para el análisis de rutina un método analítico previamente validado es el responsable de asegurar que dicho método es válido para el uso propuesto en las condiciones de análisis rutinario. Por tanto, se precisa una cierta verificación del método en las condiciones en las

que va a utilizarse. Ahora bien, como se describe a continuación, el grado de verificación puede ser muy distinto según la situación en la que nos encontremos.

¿Cuál es el grado de verificación para utilizar de forma rutinaria un método previamente validado?

La validación interna de un método es el proceso de verificar, dentro de un laboratorio, que un método previamente validado en otro ámbito conduce a resultados fiables. Existen distintas posibilidades.

Los ensayos de adecuación se aplican cuando se quiere transferir un método desde un laboratorio (donde se ha validado de forma completa) a otro que quiere adoptarlo como método de rutina. En estos ensayos, relativamente sencillos, dado que previamente se ha validado la ausencia de sesgo, '*bias*', en el método de análisis, debe verificarse solamente que no se introduce sesgo por parte del laboratorio. Así mismo el laboratorio debe estimar sus propios valores de precisión (repetibilidad, precisión intermedia) para poder asignar la incertidumbre correspondiente al resultado. En caso de realizar determinaciones que se encuentran cerca del límite de detección, dado que éste depende, entre otros factores, también de la instrumentación y de la pericia del analista, el laboratorio debe verificar también este parámetro.

Otros ensayos de verificación se realizan rutinariamente para comprobar que todo el procedimiento analítico funciona correctamente antes de empezar una nueva serie de determinaciones. Comprobar la sensibilidad del

método (pendiente de la recta de calibrado), o la selectividad en algunos ensayos cromatográficos, son algunos ejemplos de estos ensayos que normalmente se especifican en los procedimientos normalizados de trabajo.

También existe la validación retrospectiva que permite calcular la precisión a lo largo de un período de tiempo prolongado o las acciones que forman parte del control de calidad interno [IUPAC, 1995].

La documentación de los métodos validados

Una vez que se ha completado el proceso de validación, es muy importante documentar el procedimiento de tal forma que el método analítico pueda reproducirse sin ninguna ambigüedad. El uso de los procedimientos específicos o normalizados de trabajo, PNT's, que reflejan los detalles concretos de la metodología analítica, aseguran que el método se aplica siempre del mismo modo.

La norma ISO 78-2 [ISO, 1982] proporciona una guía sobre la información que debe incluirse cuando se documenta un método analítico. Así mismo, ENAC [ENAC, 1996] o la guía EURACHEM [EURACHEM, 1998] proporcionan indicaciones sobre este tema.

Conclusión

La validación de métodos proporciona una idea de las capacidades y limitaciones que posee un método analítico cuando se utiliza para el análisis rutinario. El concepto de validación expresado es muy similar a lo que se ha

denominado la aproximación basada en criterios. En algunos ámbitos se obliga, aún hoy en día, a utilizar un método oficial para producir resultados. Dado que la legislación se queda frecuentemente obsoleta ante el avance científico, esta aproximación puede perjudicar la bondad de los resultados alcanzados e incluso el avance de las metodologías. Por ello, algunos comités recomiendan la prescripción de criterios que deberían cumplirse para determinada aplicación en lugar de la prescripción de metodologías analíticas específicas.

de los laboratorios de ensayos, Madrid, 1996.

Los autores agradecen todos los comentarios relacionados con los contenidos de este artículo. Pueden dirigirse, mediante mensaje electrónico, a la dirección: quimio@quimica.urv.es. Una versión en soporte electrónico de este artículo puede leerse en: <http://www.quimica.urv.es/quimio>

Referencias bibliográficas

EURACHEM, *'The fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to method Validation and Related Topics'* EURACHEM Secretariat, Teddington, Middlesex, 1998. (<http://www.vtt.fi/ket/eurachem>)

ISO, International Organization for Standardization, *ISO Guide 78-2: Layouts for standards. Part 2: Standard for chemical analysis*, Ginebra, 1982.

ISO, International Organization for Standardization, *ISO Guide 8402: Quality- Vocabulary*, Ginebra, 1994.

IUPAC, Guidelines on Internal Quality Control in Analytical Chemistry Laboratories. Edited M. Thompson y R. Wood, *Pure Appl. Chem.* 1995, **67**, 649.
ENAC, Criterios generales de acreditación. Competencia técnica