



UNODC

Oficina de las Naciones Unidas
contra la Droga y el Delito



Directrices para la validación de métodos analíticos y la calibración del equipo utilizado para el análisis de drogas ilícitas en materiales incautados y especímenes biológicos

Por una calidad y perfeccionamiento continuo

Fotografías:
Fototeca de la UNODC

Sección de laboratorio y asuntos científicos
OFICINA DE LAS NACIONES UNIDAS CONTRA LA DROGA Y EL DELITO
Viena

**Directrices para
la validación de métodos analíticos
y la calibración del equipo utilizado para
el análisis de drogas ilícitas en materiales
incautados y especímenes biológicos**

Por una calidad y perfeccionamiento continuo



NACIONES UNIDAS
Nueva York, 2010

Reconocimientos

El presente manual ha sido elaborado por la Sección de Laboratorio y Asuntos Científicos de la Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito (UNODC), y su preparación fue coordinada por Iphigenia Naidis y Satu Turpeinen, miembros del personal del Laboratorio (bajo la supervisión de Justice Tettey).

La Sección de Laboratorio y Asuntos Científicos desea expresar su gratitud y reconocimiento a los miembros del Grupo Permanente del Programa Internacional de Garantía de la Calidad de la UNODC, Dr. Robert Anderson, Dr. Robert Bramley, Dr. David Clarke y Dra. Pirjo Lillsunde, por la concepción teórica de este manual, sus valiosas contribuciones y su trabajo de revisión y finalización del texto original.*

*Los datos de contacto de las personas nombradas pueden solicitarse a la Sección de Laboratorio y Asuntos Científicos de la UNODC (Apartado postal 500, 1400 Viena, Austria).

ST/NAR/41

Esta publicación no ha pasado por los servicios oficiales de edición.

Índice

	<i>Página</i>
1. Introducción	1
1.1. Antecedentes	1
1.2. Finalidad del manual	1
1.3. Planteamiento de este manual y terminología utilizada	2
1.4. Uso de este manual	2
2. Validación y verificación de métodos analíticos	5
2.1. Introducción: función de la validación en la garantía de calidad y las buenas prácticas de laboratorio	5
2.2. Evolución de los métodos nuevos	6
2.3. Etapas preliminares	8
2.4. Validación del método	8
2.5. Verificación del método	9
2.6. Parámetros para la validación/verificación	10
2.7. Supervisión y control del funcionamiento del método	13
2.8. Ejercicios de colaboración entre laboratorios/pruebas de rendimiento	14
2.9. Directrices prácticas para la validación de métodos	15
2.9.1. Materiales incautados - Análisis cualitativo	15
a) Pruebas de color	15
b) Análisis de microcristales	16
c) Técnicas espectroscópicas	17
d) Cromatografía en capa delgada	18
e) CFG/Cromatografía en fase líquida de alto rendimiento (HPLC)/ Electroforesis capilar	20
f) CFG Inmunoensayo (semicuantitativo)	21
2.9.2. Materiales incautados - Análisis cuantitativo	24
a) Técnicas espectroscópicas (UV, IR, NMR, IMS, MS)	24
b) CFG/HPLC/Electroforesis capilar	25
2.9.3. Especímenes biológicos - Análisis cualitativo	
a) Cromatografía en capa delgada	29

	<i>Página</i>
b) CFG/HPLC/Electroforesis capilar	30
c) Inmunoensayos (semicuantitativos)	32
2.9.4. Especímenes biológicos - Análisis cuantitativo	35
a) CFG/HPLC/Electroforesis capilar	35
3. Calibración/Verificación del funcionamiento de instrumentos y equipo	39
3.1. Introducción	39
3.2. Requisitos metrológicos	40
3.3. Procedimientos de calibración/verificación del funcionamiento de instrumentos y equipo	41
Pipetas automáticas	41
Aparatos de medición del punto de fusión	41
Medidores del pH	41
Hornos y calefactores	42
Baños de agua	42
Balanzas	42
Refrigeradores y congeladores	43
Instrumentos para métodos inmunológicos	43
Espectrofotómetros de radiación ultravioleta-visible	43
Espectrómetros infrarrojos	43
Cromatógrafos de gases	44
Cromatógrafos líquidos de alto rendimiento	45
Espectrómetros de masas	46
Integradores cromatográficos y sistemas de datos	47
4. Modelo de procedimiento normalizado de trabajo para la validación de un nuevo método analítico	49
Referencias	53
Anexo. Glosario de términos utilizados en el manual de validación y calibración	55
Bibliografía	67

1. Introducción

1.1 Antecedentes

La Sección de Laboratorio y Asuntos Científicos de la UNODC presta apoyo a los laboratorios para que implanten y apliquen sistemas de gestión de la calidad, mediante una serie de iniciativas, por ejemplo, el ofrecimiento de estándares de referencia de sustancias sometidas a fiscalización, manuales sobre métodos recomendados de laboratorio, posibilidades de capacitación y el plan de ejercicios internacionales de colaboración, así como la promoción y facilitación del intercambio de información, materiales y datos [1].

La validación de los métodos analíticos y la calibración del equipo son elementos importantes de la garantía de calidad de los laboratorios. En este manual se abordan ambas cuestiones centrándose en el análisis de drogas ilícitas en materiales incautados y especímenes biológicos. Puede obtenerse más información sobre la garantía de calidad en otros manuales de la UNODC.

1.2 Finalidad del manual

La finalidad del manual es servir de introducción a la validación de métodos estadísticos y a la verificación del funcionamiento del equipo del laboratorio. Su diseño responde al deseo de que sirva de orientación práctica a las autoridades nacionales y analistas para validar métodos en el marco de sus programas internos de garantía de calidad actuales.

Los procedimientos descritos en el manual constituyen una síntesis de la experiencia de científicos de varios laboratorios respetados de todo el mundo. Además, como elemento de la garantía de calidad y de las buenas prácticas de laboratorio, muchas organizaciones profesionales han elaborado directrices para la validación de métodos, que se han tenido en cuenta al preparar este manual. Aunque los detalles de los protocolos de validación de métodos varíen según su contexto, también hay un conjunto común de principios que subyace en todos los sistemas. En general, en este manual se intenta promover medidas nacionales, y armonizarlas, estableciendo unas directrices aceptables internacionalmente. También es importante señalar que se centra específicamente en la cuestión de la garantía de calidad y las buenas prácticas en los laboratorios de análisis de drogas. También puede servir como material educativo y como instrumento para incitar a los laboratorios a considerar los problemas que plantea la garantía de la calidad.

1.3 Planteamiento de este manual y terminología utilizada

Los capítulos posteriores están dedicados a la validación de métodos analíticos y la calibración y verificación del funcionamiento de instrumentos y equipo. La validación y verificación de métodos tiene por objeto asegurarse de que los resultados obtenidos responden a los fines previstos mientras que la calibración y verificación del funcionamiento de los instrumentos y equipo pretende garantizar que funcionen correctamente. La validación de un sistema analítico, denominada también frecuentemente prueba de la conveniencia del sistema, se centra en controlar el funcionamiento combinado del método y el equipo en los procedimientos de análisis ordinarios.

El manual se divide en cuatro partes principales y un glosario.

En la PARTE I se ofrece un panorama general de la teoría y la práctica de la validación de métodos y la calibración de instrumentos y la verificación de su funcionamiento.

En la PARTE II se pretende ofrecer a los analistas una guía práctica. Contiene unas recomendaciones imperativas sobre la forma de validar métodos cualitativos y cuantitativos para analizar tanto materiales incautados como especímenes biológicos. Estas recomendaciones “inmediatas” tienen por objeto ayudar a identificar de forma rápida y sistemática los requisitos que han de cumplirse para la validación.

En la PARTE III se pretende ofrecer una guía práctica para la calibración y la verificación del funcionamiento de instrumentos y equipo, y está subdividida en función de los procedimientos utilizables para verificar distintos instrumentos y equipo.

En la PARTE IV se ofrecen ejemplos de procedimientos normalizados de trabajo para la validación de métodos con el fin de ayudar a los directores de laboratorios a preparar este tipo de documentación para incluirla en el manual de calidad del laboratorio.

En el ANEXO se ofrece un glosario de términos que tienen estrecha relación con los temas tratados en este manual.

1.4 Uso de este manual

Los enfoques de la validación de métodos propuestos en el presente manual se han seleccionado en función de la utilidad y el valor demostrados. Sin embargo, aunque se ofrezcan varios esqueletos de modelos para la validación de métodos que pueden ser utilizados parcialmente de forma directa, se recomienda que los directores de los laboratorios supervisen la preparación de unos procedimientos internos de validación respetando las orientaciones que se ofrecen. La elección final del sistema de validación de métodos sigue en manos del director del laboratorio, quien deberá asumir además la responsabilidad de asegurarse de que el personal respeta los procedimientos establecidos.

Hay que destacar la importancia que adquiere en todos los asuntos relacionados con la garantía de calidad que el personal esté convenientemente capacitado. El cumplimiento de un programa escrito y formalizado de garantía de la calidad, algo que exige cualquier sistema de acreditación externa, sólo puede asegurarse si colabora en ello un personal informado y consciente.

Un complemento importante de la elaboración de un programa interno de garantía de la calidad es participar en un plan de análisis externo de los resultados, y por eso se recomienda a los laboratorios participar en programas de análisis de resultados y pruebas circulares como las que se realizan en los ejercicios internacionales de colaboración (EIC) organizados por la UNODC en el marco del programa internacional de garantía de calidad. Más adelante, cuando se aborde la validación de los métodos analíticos (véase el apartado 2.8. de la Parte II), se subraya la importancia de las comparaciones de ensayos entre laboratorios.

La Sección de Laboratorio y Asuntos Científicos agradece las observaciones que pueda recibir sobre el contenido y utilidad del presente manual. Estas observaciones pueden dirigirse a:

Sección de Laboratorio y Asuntos Científicos
Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito
Centro Internacional de Viena
Apartado de correos 500
A-1400 Viena
Austria

Fax: +43-1-26060-5967
Correo electrónico: lab@unodc.org
Sitio web: <http://www.unodc.org/>

2. Validación y verificación de métodos analíticos

2.1 Introducción: función de la validación en la garantía de calidad y las buenas prácticas de laboratorio

Los métodos utilizados en un laboratorio de análisis químicos han de ser evaluados y sometidos a prueba para asegurarse de que producen unos resultados válidos y coherentes con el objetivo previsto, es decir, han de ser validados. Los laboratorios que adopten los métodos recomendados por la UNODC* deben o bien revalidarlos o bien verificarlos como proceda para garantizar su funcionamiento adecuado en su entorno habitual. La verificación supone menos operaciones experimentales que la validación (véanse los apartados 2.4. y 2.5. de la Parte II *infra*).

Todos los métodos nuevos que se introduzcan en un laboratorio deben estar además documentados, y todos los analistas que los vayan a utilizar han de recibir una formación adecuada y demostrar su competencia en su utilización antes de empezar a actuar en casos concretos. También necesitan una reválida, o al menos una verificación, los métodos comercializados. Los procedimientos recomendados por los fabricantes han de respetarse lo máximo posible. En caso contrario, si se introducen cambios importantes, se necesitará una validación completa. Si un método se modifica o se aplica en una situación nueva (por ejemplo, una muestra de matriz nueva) se necesitará una revalidación o una verificación, según el alcance de la modificación y el carácter de la nueva situación. Por ejemplo, se necesitará una revalidación si un método diseñado para actuar con orina se utiliza con sangre; se necesitará una verificación si se utiliza una columna cromatográfica de un carácter o una dimensión diferentes. No se necesitará adoptar ninguna medida si la modificación es sólo pequeña, por ejemplo, si se sustituye una columna cromatográfica por otra del mismo tipo.

La validación o la verificación de un método se realizan mediante una serie de pruebas normalizadas y experimentales de las que se obtienen datos sobre su exactitud, precisión, etc. El proceso que ha de seguirse para ello debe constar por escrito como procedimiento normalizado de trabajo. Una vez validados o verificados los métodos, su utilización habitual

*La Sección de Laboratorio y Asuntos Científicos de la UNODC ha publicado una serie de manuales dedicados a los métodos recomendados para analizar las principales drogas que son objeto de abuso, que se han publicado con la signatura ST/NAR. Puede solicitarse toda la serie o números individuales.

en el laboratorio debe ser autorizada formalmente por la persona responsable, por ejemplo, el director del mismo [2].

En el “certificado de método autorizado” o documento similar que se establezca en el manual de garantía de calidad se anotarán los detalles del método y los datos en que se basó su evaluación, entre ellos los siguientes:

- Denominación del método
- Analito(s)
- Matriz de la muestra
- Fundamento científico del método
- Datos del estudio de validación (exactitud, precisión, selectividad, intervalo, límite de detección, etc.)
- Nombre y cargo de la persona responsable de la autorización
- Fecha.

Tómese nota de que los procedimientos normalizados de trabajo para validar o verificar un método, lo mismo que cualquier otro procedimiento normalizado que figure en el manual de calidad del laboratorio, deben ser aprobados por el director del laboratorio.

Una vez aprobados, es fundamental que se respeten estrictamente todos ellos. Si se introducen variaciones, debe dejarse constancia documental del hecho. Si se introduce un cambio importante será necesario volver a validar las nuevas condiciones del método. En cualquier caso, debe utilizarse la última versión aprobada de los procedimientos normalizados de trabajo.

La documentación que se maneja en un sistema de garantía de la calidad es compleja por naturaleza y por consiguiente los laboratorios han de disponer de un procedimiento adecuado de control de la documentación, como se recomienda en las “Orientaciones para la implantación de un sistema de gestión de la calidad en los laboratorios de análisis de drogas” [3].

Los sistemas propuestos en la bibliografía dedicada al proceso de validación pueden diferir de las presentes directrices en algunos aspectos porque la validación depende necesariamente del uso previsto. Una de las ventajas de estas directrices es que se ocupan en exclusiva del análisis cualitativo y cuantitativo de sustancias estupefacientes sometidas a fiscalización que se encuentren en materiales incautados o especímenes biológicos.

2.2 Evolución de los métodos nuevos

En las normas ISO y en otras publicaciones [4, 5, 6] pueden encontrarse esquemas de cómo evoluciona un método nuevo. El esquema que figura a continuación es de aplicación general.

Etapa**Supone ...****ETAPAS PRELIMINARES**

1. Identificar los requisitos	Establecer el objetivo final
2. Elegir el método que se postulará (dependerá de: la disponibilidad de equipo e instalaciones, los conocimientos del personal y los requisitos de capacitación de éste, las disposiciones de los reglamentos)	Búsqueda en la bibliografía de información sobre el método actual; o identificación de un método similar; o nuevo enfoque; o recomendación de colegas, o recomendación de la UNODC o de otra organización competente
3. Desarrollar el método	Evaluación preliminar para establecer si puede cumplir los requisitos

VALIDACIÓN DEL MÉTODO

4. Identificar el tipo de método (los requisitos específicos dependerán de que el método sea cualitativo o cuantitativo y de las técnicas que hayan de utilizarse)	(Véase el párrafo 4 de la Parte II)
5. Preparar la documentación de la validación	Definir por escrito los trabajos experimentales y el proceso de validación (véase el párrafo 6 de la Parte II)
6. Redactar las instrucciones para los usuarios (procedimientos normalizados de trabajo con ese método)	(Véase ST/NAR/25)
7. Recibir la autorización de la dirección	(Véase el párrafo 1 de la Parte II)

SUPERVISIÓN Y CONTROL DEL FUNCIONAMIENTO DEL MÉTODO

8. Realizar controles de calidad para vigilar el cumplimiento de los criterios de aceptación del método, dado el objetivo final (véase la etapa 1)	Utilizar normas identificables, muestras en blanco, muestras añadidas con otras sustancias, gráficos de control, etc. y programas de análisis externo de los resultados
9. Examinar el método y proponer cambios	Volver a validar cuando proceda y preparar revisiones de los procedimientos normalizados de trabajo
10. Recibir autorización de la dirección	Actualizar los procedimientos normalizados de trabajo

2.3 Etapas preliminares

La cuestión fundamental a resolver antes de crear un nuevo método es establecer qué uso se hará de los resultados. De este uso derivarán los criterios de calificación del funcionamiento del método, lo que puede dar lugar a que se establezca, o limite, el número de técnicas entre las que elegir. Valga un ejemplo: cualquier método de análisis cuantitativo de drogas fiscalizadas en materiales incautados tendrá que cumplir algunos requisitos mínimos de exactitud y precisión, selectividad, etc., para que pueda aceptarse su utilización general. Un segundo ejemplo sería el siguiente: la utilización de un método de análisis de metabolitos de estupefacientes en especímenes biológicos en concentraciones débiles puede exigir a su vez la utilización de técnicas que tengan la mayor sensibilidad y selectividad posibles, condiciones que sólo pueden cumplir la cromatografía en fase gaseosa o la cromatografía en fase líquida combinada con una espectrometría de masas.

En lo que respecta a los recursos humanos y financieros del laboratorio, es importante evitar la especificación innecesaria de requisitos de funcionamiento, ya que puede suponer que se prolonguen los plazos para realizar los análisis, un aumento de los costes y un exceso de información.

2.4 Validación del método

Las buenas prácticas de fabricación vigentes en los Estados Unidos (Código de Reglamentos Federales, Administración de Alimentos y Drogas), la Pharmacopoeia Convention de los Estados Unidos, la Asociación de Salud Pública Americana y la Conferencia Internacional de Armonización [2], entre otros, han sido la base de diversos protocolos de validación de métodos que pueden encontrarse en la bibliografía especializada y ser útiles. Además, el Grupo de trabajo científico para el análisis de drogas incautadas (SWGDRUG), la ENFSI, la UIQPA y Eurachem/CITAC han publicado series detalladas de recomendaciones [5].

Los métodos se pueden clasificar de distinta forma [7], pero en el presente caso debe establecerse una diferencia clara entre los métodos cualitativos y los cuantitativos.

Los métodos cualitativos de análisis de drogas exigen la definición de una serie de parámetros cuyo cumplimiento es necesario para la validación:

- Especificidad/selectividad
- Límite de detección
- Precisión (en condiciones de repetibilidad y/o reproducibilidad en laboratorio)
- Estabilidad.

Cuando se trate de métodos cualitativos en los que sea necesario establecer un nivel de concentración definido (un umbral) para reflejar resultados, deben determinarse los tres parámetros adicionales siguientes:

- Linealidad
- Exactitud (sesgo) (en condiciones de repetibilidad y/o reproducibilidad en laboratorio) en el umbral de concentración
- Precisión (en condiciones de repetibilidad y/o reproducibilidad en laboratorio) en el umbral de concentración.

Los métodos cuantitativos de análisis de drogas exigen, para su validación, que se determine la siguiente serie de parámetros que han de cumplirse:

- Especificidad/selectividad
- Límite de detección
- Precisión (en condiciones de repetibilidad y/o reproducibilidad en laboratorio)
- Linealidad y rango de trabajo
- Exactitud (en condiciones de repetibilidad y/o reproducibilidad en laboratorio)
- Recuperación
- Incertidumbre de la medición
- Estabilidad.

Otros parámetros cuya determinación es aconsejable, pero no fundamental, son el límite inferior de cuantificación y la robustez. En el caso de que los métodos cualitativos y cuantitativos hayan de ser utilizados por más de un laboratorio, cada uno de ellos debe verificar el método y debe determinar con los otros su precisión y exactitud.

2.5 Verificación del método

Si un laboratorio está utilizando un método que ya ha sido validado, no es necesario volver a validarlo en su totalidad aunque deba verificarse el cumplimiento de los parámetros mínimos antes enumerados. Normalmente la verificación supone determinar el cumplimiento de menos parámetros y hacer menos mediciones de cada parámetro que si se tratara de una validación. Los resultados de la verificación pueden diferir levemente de los obtenidos en la validación, pero debe determinarse si son aceptables teniendo en cuenta el objetivo que se persigue al utilizar el método.

Los métodos cualitativos de análisis de drogas requieren, para su verificación, que se determine la siguiente serie de parámetros:

- Especificidad/selectividad, si la matriz de la muestra difiere de la utilizada cuando se elaboró el método
- Límite de detección
- Precisión (en condiciones de repetibilidad o reproducibilidad).

En el caso de los métodos cualitativos que tienen un umbral de concentración para reflejar resultados, deben determinarse los siguientes parámetros adicionales:

- Exactitud (sesgo) en el umbral de concentración
- Precisión en el umbral de concentración.

La exactitud y la precisión deben determinarse en el umbral de concentración.

Los métodos cuantitativos de análisis de drogas exigen la determinación de la siguiente serie de parámetros para su verificación:

- Especificidad/selectividad y límite de detección si la matriz de la muestra difiere de la utilizada al elaborarse el método
- Exactitud (sesgo) (en condiciones de repetibilidad o reproducibilidad)
- Precisión (en condiciones de repetibilidad o reproducibilidad).

2.6 Parámetros para la validación/verificación

Especificidad (selectividad)

Este parámetro se relaciona con el grado en que otras sustancias interfieren en la identificación y, si procede, en la cuantificación de los analitos de que se trate. Mide la capacidad del método para identificar/cuantificar los analitos en presencia de otras sustancias, endógenas o exógenas, en una muestra de la matriz en las condiciones exigidas por el método.

La especificidad se determina añadiendo materiales que podrían encontrarse en la muestra. Por ejemplo, para hacer un ensayo de la especificidad de un método inmunológico aplicado a especímenes biológicos pueden utilizarse sustancias que potencialmente reaccionen entre sí; una prueba de la especificidad de un método visual sería añadir sustancias interferentes que puedan ocultar o enmascarar la reacción de color; un método cromatográfico para determinar la concentración de drogas ilícitas en muestras clínicas no debe admitir interferencias por parte de los fármacos que quepa esperar que se utilicen simultáneamente. La especificidad depende de la concentración y debe determinarse el margen de error de calibración en su nivel más bajo. La validación debe garantizar el buen funcionamiento del método, y que éste distinga los efectos de las impurezas, las sustancias que reaccionan entre sí, etc., que podrían estar presentes en la matriz.

Límite de detección

Se trata de la concentración mínima de analito que puede ser detectada e identificada con un determinado grado de certidumbre. El límite de detección se define también como la concentración mínima que puede distinguirse del ruido de fondo con un determinado grado de confianza. Para estimar el límite de detección pueden utilizarse varios métodos, todos los cuales dependen del análisis de especímenes en blanco y el examen de la relación entre la señal y el ruido. Por lo general se acepta un requisito mínimo de relación señal/ruido de 3/1. El límite de detección no es un parámetro robusto y puede resultar afectado por cambios menores del sistema analítico (por ejemplo, temperatura, pureza de los reactivos, efectos de

matriz, condiciones instrumentales). Por tanto, es importante que este parámetro sea siempre verificado por laboratorios que hayan adoptado métodos previamente validados.

Precisión (en condiciones de repetibilidad y/o reproducibilidad)

La precisión mide el grado de acuerdo entre los resultados analíticos obtenidos de una serie de mediciones repetidas del mismo analito realizadas en las condiciones previstas en el método. La precisión refleja los errores aleatorios que se producen cuando se utiliza un método.

Las condiciones en que se mide la precisión se dividen, según opinión general, en condiciones repetibles y condiciones reproducibles.

La repetibilidad de las condiciones existe cuando el mismo analista analiza muestras el mismo día y con el mismo instrumento (por ejemplo, cromatógrafo en fase gaseosa) o los mismos materiales (por ejemplo, reactivos para pruebas visuales) y en el mismo laboratorio. Cualquier cambio de estas condiciones (por ejemplo, diferentes analistas, diferentes días, diferentes instrumentos, diferentes laboratorios) implica que las condiciones sólo serán reproducibles. La precisión normalmente se mide en términos de coeficiente de variación o desviación típica relativa de los resultados analíticos obtenidos con patrones de control preparados independientemente. La precisión depende de la concentración y debe medirse con concentraciones diferentes dentro del rango aceptado, normalmente en la parte baja, media y alta de éste. Una precisión aceptable en el nivel inferior de concentración es del 20%. Con concentraciones más altas la precisión debe ser mayor. En algunos casos estos criterios de aceptación pueden suavizarse, por ejemplo, en los análisis de muestras de autopsias, en los que los efectos de matriz pueden ser importantes.

Linealidad y margen de error (rango)

Tradicionalmente se considera que un método es lineal cuando existe una relación directamente proporcional entre la respuesta obtenida cuando se aplica el método y la concentración del analito en la matriz dentro del rango de concentraciones del analito buscado (rango de trabajo). El rango de trabajo viene definido por la finalidad del método y puede representar sólo una parte de la totalidad de la línea recta. Habitualmente los criterios de aceptación implican una prueba de la “bondad de ajuste”. Frecuentemente se utiliza como criterio de la linealidad un coeficiente de correlación (r) elevado, del 0,99. Sin embargo, este criterio no basta para demostrar que existe una relación lineal, por lo que cabe considerar que se puede utilizar un método que no permita establecer un coeficiente de correlación tan alto como el 0,99 pero permita cumplir los fines previstos. Estos parámetros no son aplicables a los métodos cualitativos salvo si se establece un umbral de concentración para reflejar resultados.

Exactitud (sesgo)

Medición de la diferencia entre los resultados previstos del análisis y el valor de referencia aceptado, debido a un error sistemático del método y del laboratorio. Normalmente se expresa

en porcentaje. La exactitud y la precisión determinan el error total del análisis. La exactitud se determina teóricamente utilizando material de referencia certificado (MRC) si es posible, métodos de referencia, estudios en colaboración o mediante comparación con otros métodos [4].

En la práctica, pocas veces se dispone de MRC para analizar drogas objeto de consumo indebido. Para las drogas de este tipo que se encuentran en los fluidos biológicos se dispone de los MRC del Instituto Nacional de Normas y Tecnología (NIST) de los Estados Unidos, pero no abarcan un gran número de sustancias. Como alternativa, pueden utilizarse los patrones de referencia de una organización autorizada, como la UNODC, la Dirección de Lucha contra las Drogas (DEA) de los Estados Unidos o un proveedor comercial acreditado.

Lo normal es estimar la exactitud analizando muestras añadidas con tres concentraciones distintas (baja, media y alta) que abarquen la totalidad del rango de trabajo. La concentración de estas adiciones estándar debe ser distinta de la utilizada para preparar las curvas de calibración y debe prepararse con una solución estándar de trabajo distinta. Los criterios de aceptación de la exactitud deben ser similares a los utilizados para medir la precisión.

Recuperación

Por recuperación de analitos en un ensayo se entiende la respuesta del detector ante una adición o extracción de analito de la matriz, en comparación con su respuesta ante la concentración real del estándar de referencia verdadero (los materiales incautados). También puede entenderse como el porcentaje de droga, metabolito o estándar interno presente inicialmente en el espécimen, que llega hasta el final del procedimiento. Tratándose de especímenes biológicos, las muestras en blanco de la matriz biológica después de haberse obtenido los últimos extractos pueden ser objeto de una adición estándar del componente puro y auténtico con su concentración real y ser analizados a continuación. Los experimentos de recuperación deben hacerse comparando los resultados analíticos de las muestras extraídas con tres concentraciones (normalmente iguales a las de las muestras de control utilizadas para valorar la precisión y exactitud de un método). No es necesario que la recuperación del analito sea del 100%, pero el grado de recuperación (del analito y del estándar interno) debe ser estable (con cualquier tipo de concentración analizada), precisa y reproducible (más del 20%).

Medición de la incertidumbre [8, 9, 10]

Los laboratorios de análisis deben establecer y aplicar procedimientos de estimación de la incertidumbre de las mediciones [1]. Tener en cuenta la incertidumbre aumenta la garantía de que los resultados y conclusiones obtenidos con los métodos y programas analíticos utilizados permiten cumplir los objetivos fijados [11].

En metrología, la incertidumbre se define como un parámetro asociado con el resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que puede atribuirse razonablemente al mensurando. (Mensurando: cantidad concreta medida.).

En términos más prácticos la incertidumbre se puede definir como la probabilidad o el nivel de confianza. Cualquier medición que hagamos entrañará un cierto grado de incertidumbre, por lo que el intervalo de incertidumbre que se fije será el rango dentro del cual se situará

el valor real con un determinado grado de confianza. Normalmente se utiliza un grado de confianza del 95% [12].

Entender qué significa la incertidumbre es fundamental para interpretar los resultados e informar sobre ellos [11]. El laboratorio debe intentar al menos identificar todos los motivos de incertidumbre y hacer una estimación razonable de ellos, y debe asegurarse de que la forma de informar sobre los resultados no transmite una falsa sensación de incertidumbre.

La incertidumbre de las mediciones, por lo general, tiene muchos componentes. La incertidumbre se calcula estimando los errores que se producen en las distintas etapas del análisis, por ejemplo, la etapa preanalítica, la homogeneización, el pesaje, el pipeteado, la inyección, la extracción, la derivación, la recuperación y las curvas de calibración. Los datos exigidos para la validación, por ejemplo, la exactitud y precisión en condiciones de repetibilidad/reproducibilidad, reflejan ya muchos de estos factores y deben ser utilizados.

Pueden hacerse estimaciones de la incertidumbre (con el nivel exigido de confianza del 95%) utilizando la siguiente fórmula:

$$U = 2 x \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2}$$

en la que u_1 , u_2 etc. son los motivos individuales de incertidumbre.

Los motivos individuales de incertidumbre, que representen menos del 20% del motivo más importante, tienen escasa incidencia en la incertidumbre general y pueden omitirse en el cálculo.

Estabilidad

Para validar un método debe demostrarse en qué medida los analitos se mantienen estables durante todo el procedimiento de análisis, incluido su almacenamiento antes y después de éste. En general, la medición se hace comparando patrones recién preparados con una concentración conocida con patrones similares almacenados durante diferentes períodos de tiempo y en diferentes condiciones. Véase la nota 13 y las referencias a que remite [13].

2.7 Supervisión y control del funcionamiento del método

Después de haber sido validado o verificado, y de haberse empezado a utilizar, cualquier sistema de garantía de la calidad exige una vigilancia continua para establecer si sigue funcionando de acuerdo con las especificaciones. Este proceso de vigilancia supone un control continuo de la calidad del método a través de muestras en blanco, controles y calibradores y el examen de los componentes del sistema (lo que a veces se denomina prueba de la conveniencia del sistema) [14], por ejemplo, funcionamiento de las columnas cromáticas en términos de resolución y forma de los picos, respuesta de los detectores y especificaciones de los reactivos. Para el control del método deben establecerse unos límites claros (por

ejemplo, la variabilidad aceptable de la respuesta del detector), así como las medidas correctivas que deben adoptarse si se traspasan, entre ellas la recalibración, la reverificación o la revalidación del método.

2.8 Ejercicios de colaboración entre laboratorios/ pruebas de rendimiento

Estos estudios son fundamentales para establecer la fiabilidad y compatibilidad de los datos que sea necesario compartir. Los ejercicios de colaboración se pueden considerar un componente de la validación de métodos, pues permiten estimar la exactitud y precisión de éstos en condiciones de reproducibilidad y determinar su robustez. Algunos ejercicios de este tipo exigen que se utilice en cada instalación el mismo método. Los ejercicios de colaboración y los programas de análisis del rendimiento se pueden utilizar para vigilar y comparar el funcionamiento de un laboratorio con el de otros laboratorios que producen datos equivalentes. Existen varios programas de garantía externa del control de la calidad de los análisis de drogas fiscalizadas, entre ellos los ejercicios internacionales de colaboración de la UNODC. Véanse también las Guías ISO/IEC 43-1 y 43-2 sobre la acreditación de proveedores de programas de ensayos de aptitud.

2.9 Directrices prácticas para la validación de métodos

2.9.1 Materiales incautados - Análisis cualitativo

Parámetro	Requisitos para la validación	Criterios para la aprobación
a) Pruebas de color		
Especificidad/ selectividad	<p>Analizar las siguientes muestras en las condiciones especificadas para la prueba y tomar nota del color obtenido en el tiempo previsto:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Todas las drogas fiscalizadas que estén incluidas en el grupo de interés. <p>Todos los componentes de fuentes naturales o de un proceso de preparación sintética que normalmente se encuentren presentes en las muestras incautadas que contienen el grupo de drogas de interés.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Todas las sustancias que normalmente se encuentren como diluyentes, excipientes, etc., en la matriz incautada que contenga la droga. • Muestras de drogas fiscalizadas de otros grupos. • Una gama de muestras reales o simuladas de materiales incautados de composición conocida por sus efectos de matriz. <p>El número de muestras analizadas debe ser lo más amplio posible dentro de unos límites practicables, pero se sugiere un mínimo de 20.</p>	<p>Ninguna interferencia importante (enmascaramiento de los resultados) por parte de sustancias cuya presencia sea normal.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Todas las drogas del grupo de interés dan resultados negativos identificados. • Menos del 5% de las muestras reales o simuladas que se utilizan para la prueba contienen el analito en la concentración mínima que es probable que se encuentre en las muestras concretas analizadas por el laboratorio y que dan origen a falsos negativos. • La tasa de falsos negativos debe ser rebajada a un mínimo (a ser posible un 0%) cuando se utiliza una prueba de color para hacer una criba inicial y no se realiza otra prueba si el resultado es negativo. • Menos del 10% de las muestras reales o simuladas analizadas que no contienen el analito buscado dan falsos positivos

2.9.1 Materiales incautados - Análisis cualitativo (continuación)

Parámetro	Requisitos para la validación	Criterios para la aprobación
a) Pruebas de color (continuación)		
Límite de detección	<p>Analizar muestras de una selección de drogas puras del grupo de interés en cantidades decrecientes hasta que no puedan ser detectadas.</p> <p>Determinar los efectos de matriz en el límite de detección añadiendo la sustancia a diversas matrices de uso frecuente en un laboratorio.</p> <p>El método analítico deberá especificar la cantidad de material que ha de analizarse.</p>	<p>El límite de detección debe ser lo suficientemente bajo para que el análisis pueda cumplir su objetivo.</p> <p>Normalmente se requerirá una prueba para detectar el analito en la concentración mínima que es probable que se encuentre en las muestras analizadas por el laboratorio.</p>
Precisión en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad	<p>Analizar al menos diez réplicas de muestras de composición conocida con una concentración de 1,25 a 2 veces el nivel del límite de detección.</p>	<p>No más de una muestra de cada cinco (el 20%) debe dar un falso negativo.</p>
b) Análisis de microcristales		
Especificidad/selectividad	<p>Examinar cada droga incluida en el grupo de interés en un rango de matrices típicas en las condiciones especificadas para la prueba, fotografiarlas y anotar las características que definan una droga en particular o una droga incluida en un grupo establecido.</p>	<p>El método analítico debe posibilitar por su especificidad y selectividad el cumplimiento de los objetivos (es decir, tasas mínimas de falsos positivos con diferentes matrices cuando se hace una criba inicial de sustancias fiscalizadas).</p>

Límite de detección	Analizar muestras de cada droga concreta perteneciente al grupo de interés en diversas matrices comunes con una serie de diluciones que establezca la concentración mínima en que todavía puede detectarse la droga con confianza.	El límite de detección debe ser lo suficientemente bajo para que el análisis pueda cumplir su objetivo. Normalmente se requerirá una prueba para detectar el analito en la concentración mínima que es probable que se encuentre en las muestras analizadas por el laboratorio.
Precisión en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad	Analizar al menos diez réplicas de muestras de composición conocida con una concentración de 1,25 a 2 veces el nivel del límite de detección.	No más de una muestra de cada cinco (el 20%) debe dar un falso negativo.

c) Técnicas espectroscópicas (UV, IR, NMR, IMS, MS)

Especificidad/ selectividad	<p>Analizar en las condiciones especificadas para la prueba e identificar las absorciones, resonancias o iones característicos de:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Muestras de todas las drogas fiscalizadas que estén incluidas en el grupo de interés. • Muestras de todos los componentes de fuentes naturales o de un proceso de preparación sintética que normalmente se encuentren presentes en las muestras incautadas que contienen el grupo de drogas de interés. • Todas las sustancias que normalmente se encuentren como diluyentes, excipientes, etc., en la matriz incautada que contiene la droga. • Muestras de drogas fiscalizadas de otros grupos. 	El método analítico debe posibilitar por su especificidad y selectividad el cumplimiento de los objetivos (es decir, tasas mínimas de falsos positivos con diferentes matrices cuando se hace una criba inicial de sustancias fiscalizadas).
--------------------------------	---	--

2.9.1 Materiales incautados - Análisis cualitativo (continuación)

Parámetro	Requisitos para la validación	Criterios para la aprobación
c) Técnicas espectroscópicas (UV, IR, NMR, IMS, MS (continuación))	<ul style="list-style-type: none"> • Una gama de muestras reales o simuladas de materiales incautados de composición conocida por sus efectos de matriz. <p>El número de muestras analizadas debe ser lo más amplio posible dentro de unos límites practicables, pero se sugiere un mínimo de 20.</p>	
Límite de detección	<p>Analizar muestras de una selección de drogas incluidas en los grupos de interés en diversas matrices de uso común en laboratorios en un rango de diluciones para establecer la concentración mínima en la que todavía pueden detectarse las drogas con confianza.</p>	<p>El límite de detección debe ser lo suficientemente bajo para que el análisis pueda cumplir su objetivo. Normalmente se requerirá una prueba para detectar el analito en la concentración mínima que es probable que se encuentre en las muestras analizadas por el laboratorio.</p>
Precisión en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad	<p>Analizar al menos diez réplicas de muestras de composición conocida con una concentración de 1,25 a 2 veces el nivel del límite de detección.</p>	<p>No más de una muestra de cada cinco (el 20%) debe dar un falso negativo.</p>
d) Cromatografía en capa delgada	<p>Teniendo precaución de no sobrecargar la placa, analizar en las condiciones establecidas para la prueba y anotar los valores R_f y el color obtenidos en el tiempo previsto para:</p>	<p>El método analítico debe posibilitar por su especificidad y selectividad el cumplimiento de los objetivos (es decir, tasas mínimas de falsos positivos con diferentes matrices cuando se hace una criba inicial de sustancias fiscalizadas).</p>

- Todas las drogas fiscalizadas que estén incluidas en el grupo de interés.
- Todos los componentes de fuentes naturales o de un proceso de preparación sintética que normalmente se encuentren en las muestras incautadas que contienen el grupo de drogas de interés.
- Todas las sustancias que normalmente se encuentren como diluyentes, excipientes, etc., en la matriz incautada que contiene la droga.
- Muestras de drogas fiscalizadas de otros grupos.
- Analizar mezclas de sustancias de Rf similar y confirmar cuáles pueden ser identificadas en presencia de las otras.

Límite de detección	<p>Analizar muestras de una selección de drogas incluidas en los grupos de interés en diversas matrices comunes y en un rango de diluciones para establecer la concentración mínima en la que todavía pueden detectarse las drogas con confianza.</p> <p>El límite de detección debe ser lo suficientemente bajo para que el análisis pueda cumplir su objetivo. Normalmente se requerirá una prueba para detectar el analito en la concentración mínima que es probable que se encuentre en las muestras analizadas por el laboratorio.</p>
Precisión en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad	<p>Determinar la variación dentro del laboratorio y entre distintos laboratorios de los valores Rf relativos obtenidos mediante la comparación del valor Rf de referencia con el valor Rf obtenido del análisis en paralelo de un material estándar.</p> <p>No más de una muestra de cada cinco (el 20%) debe dar un falso negativo.</p>

2.9.1 Materiales incautados - Análisis cualitativo (continuación)

Parámetro	Requisitos para la validación	Criterios para la aprobación
e) CFG/Cromatografía en fase líquida de alto rendimiento (HPLC)/Electroforesis capilar		
Especificidad/ selectividad	<p>Analizar en las condiciones establecidas para la prueba y anotar los tiempos de retención obtenidos para:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Todas las drogas fiscalizadas que estén incluidas en el grupo de interés. • Todos los componentes de fuentes naturales o de un proceso de preparación sintética que normalmente se encuentren en las muestras incautadas que contengan el grupo de drogas de interés. • Todas las sustancias que normalmente se encuentren como diluyentes, excipientes, etc., en la matriz incautada que contiene la droga. • Muestras de drogas fiscalizadas de otros grupos. <p>Analizar mezclas de sustancias de Rf similar y confirmar que pueden ser identificadas unas en presencia de las otras.</p>	<p>El método analítico debe posibilitar por su especificidad y selectividad el cumplimiento de los objetivos (es decir, tasas mínimas de falsos positivos con diferentes matrices cuando se hace una criba inicial de sustancias fiscalizadas).</p>
Límite de detección	<p>Analizar muestras de una selección de drogas incluidas en los grupos de interés en diversas matrices comunes en un rango de diluciones para establecer la concentración mínima en la que todavía pueden detectarse las drogas con confianza (coeficiente entre la señal y el ruido no inferior a 3/1).</p>	<p>El límite de detección debe ser lo suficientemente bajo para que el análisis pueda cumplir su objetivo. Normalmente se requerirá una prueba para detectar el analito en la concentración mínima que es probable que se encuentre en las muestras analizadas por el laboratorio.</p>

<p>Precisión en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad</p>	<p>Analizar al menos diez réplicas de muestras de composición conocida con una concentración de 1,25 a 2 veces el nivel del límite de detección.</p> <p>Determinar el coeficiente de variación (desviación estándar de los residuos – (RSD) [15] de los tiempos de retención en comparación con la muestra de referencia.</p>	<p>No más de una muestra de cada cinco (el 20%) debe dar un falso negativo.</p> <p>La diferencia entre las RSD debe ser inferior al 2%.</p>
<p>f) CFG Inmunoensayo (semicuantitativo)</p>	<p>Utilizando el proceso establecido de extracción/pretratamiento, analizar:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Todas las drogas fiscalizadas que estén incluidas en el grupo de interés. • Todos los componentes de fuentes naturales o de un proceso de preparación sintética que normalmente se encuentren en las muestras incautadas que contengan el grupo de drogas de interés. • Todas las sustancias que normalmente se encuentren como diluyentes, excipientes, etc., en la matriz incautada que contiene la droga. • Muestras de drogas fiscalizadas de otros grupos. • Una gama de muestras reales o simuladas de materiales incautados de composición conocida por sus efectos de matriz. <p>El número de muestras analizadas debe ser lo más amplio posible dentro de unos límites practicables, pero se sugiere un mínimo de 20.</p>	<p>Las especificaciones de los inmunoensayos en términos de especificidad y selectividad deben permitir cumplir los objetivos previstos (es decir, tasas mínimas de fallos positivos con diferentes matrices cuando se hace una criba inicial de sustancias fiscalizadas).</p>

2.9.1 Materiales incautados - Análisis cualitativo (continuación)

Parámetro	Requisitos para la validación	Criterios para la aprobación
f) CFG Inmunoensayo (semicuantitativo) (continuación)		
Límite de detección	Analizar muestras de una selección de drogas incluidas en los grupos de interés en diversas matrices comunes en un rango de diluciones para establecer la concentración mínima en la que todavía pueden detectarse las drogas con confianza.	El límite de detección debe ser lo suficientemente bajo para que el análisis pueda cumplir su objetivo. Normalmente se requerirá una prueba para detectar el analito en la concentración mínima que es probable que se encuentre en las muestras analizadas por el laboratorio.
Precisión en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad	Determinar la precisión en condiciones de repetibilidad analizando al menos diez réplicas de muestras de composición conocida con una concentración de 1,25 a 2 veces el límite.	No más de una muestra de cada cinco (el 20%) debe dar un falso negativo.

Nota: En la CFG-EM, el espectrómetro de masas puede funcionar como mecanismo de barrido de iones o como mecanismo SIM (selección de un ión). En la cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem, el espectrómetro puede operar como mecanismo de barrido de iones o en modo monitorización de reacción múltiple (MRM).

En modo barrido de iones, el espectro de las masas se utiliza, junto con el tiempo absoluto o relativo de retención, para identificar y confirmar la presencia de drogas. Tratándose de una identificación (que remite a la especificidad y selectividad, y a la exactitud) el tiempo de retención y el espectro de masa de cada droga que aparezca en la muestra se comparan con los de un patrón analizado en condiciones idénticas, normalmente en la misma tanda o el mismo día. Como alternativa, el espectro se puede comparar con los patrones archivados, utilizándose un sistema de búsqueda de archivos normal. El tiempo de retención de la presunta droga debe coincidir mucho con el del posible patrón (con un margen de exactitud de $\pm 2\%$) y el espectro debe ser muy parecido visualmente al del patrón o conseguir, en una escala 0-1000, un nivel mínimo de coincidencia en la búsqueda de archivos de 900.

Cuando se utiliza en modo SIM/MRM, se eligen para cada analito de interés por lo menos tres iones/transiciones, lo que normalmente incluirá los picos de base y los iones moleculares más otro ión de diagnóstico. Tratándose de una identificación, las áreas de los picos en los cromatogramas de los iones seleccionados en el tiempo de retención del analito deben tener una intensidad equivalente a las de un patrón analizado en la misma tanda y en condiciones idénticas, con un margen de error tolerable de $\pm 20\%$, aproximadamente. Criterios similares se pueden aplicar a los cromatogramas de masas generados por computadora a partir de datos obtenidos mediante un barrido total de iones, si este modo de operar ofrece una sensibilidad adecuada y hay un número suficiente de espectros de masas (más de 12) en el pico cromatográfico para que puedan determinarse áreas de picos con una exactitud razonable. Si el espectrómetro de masas opera en modo ionización química, sólo podrá haber un ión y la identificación de la droga tendrá que hacerse en función del tiempo de retención y del hecho de que ese ión esté presente.

2.9.2 Materiales incautados – Análisis cuantitativo

Parámetro	Requisitos para la validación	Criterios para la aprobación
a) Técnicas espectroscópicas (UV, IR, NMR, IMS, MS)		
Especificidad/ selectividad	Como en el análisis cualitativo	Como en el análisis cualitativo
Límite de cuantificación	Analizar muestras de cada droga concreta incluida en la clase (clases) de interés en diversas matrices de uso común en laboratorios en una serie de diluciones para establecer la concentración mínima que permite cuantificar todavía la droga con confianza.	Deben cumplirse los requisitos de exactitud y precisión.
Linealidad y rango de trabajo*	Analizar una muestra en blanco y otras seis muestras en blanco preparadas independientemente que contengan la droga de interés en seis concentraciones distintas distribuidas en intervalos iguales a lo largo del rango de interés.	El rango de trabajo debe permitir la obtención de los resultados previstos.
Exactitud	Deben analizarse réplicas de especímenes en blanco añadidos con las drogas de interés en tres niveles distintos (alto, medio y bajo) en tres días consecutivos. El número de réplicas en cada nivel de concentración y en cada día debe ser al menos tres. La diferencia entre el resultado medio y el resultado esperado (véase la Parte II F) debe expresarse en porcentaje.	Todos los resultados se encuentran en una banda de $\pm 20\%$ del valor esperado en los niveles de concentración bajos y del $\pm 15\%$ en los niveles de concentración altos.
Precisión	Comparar los resultados obtenidos para cada espécimen en blanco y añadido en cada nivel de concentración establecido para determinar la exactitud y expresar la variación en términos de desviación estándar relativa de cada concentración.	La desviación estándar relativa no debe ser mayor del 20% en los niveles de concentración bajos y del 15% en los niveles altos.

<p>Recuperación (si se necesita una extracción)</p>	<p>Preparar muestras del analito con tres niveles de concentración en una matriz típica. Háganse cinco réplicas de los extractos de cada muestra. Al mismo tiempo analícese las soluciones estándar del analito de que se trate. La recuperación se calcula a continuación comparando las respuestas espectroscópicas del analito, por ejemplo, las absorciones, con las de los patrones.</p> <p>Recuperación % = $[A1/A2] \times 100$.</p> <p>Para cada muestra utilizada para la extracción:</p> <p>A1 = respuesta del analito</p> <p>A2 = respuesta del patrón.</p>	<p>La recuperación debe ser reproducible con un margen de $\pm 15\%$.</p> <p>Nota: como se indica en la Parte II, el porcentaje de recuperación absoluta no es fundamental en la medida en que sea reproducible y el límite bajo de cuantificación sea adecuado.</p>
<p>Incertidumbre</p>	<p>Estimar los errores en cada etapa del proceso analítico utilizando los datos de la validación, si se dispone de ellos, y calcular la incertidumbre total (véase el apartado 2.6. de la Parte II).</p>	<p>Como orientación general, la incertidumbre debe situarse en una banda de $\pm 15\%$ del límite de cuantificación; $\pm 10\%$ del rango medio o alto.</p>
<p>b) CFG/HPLC/Electroforesis capilar</p>		
<p>Especificidad/selectividad</p>	<p>Como en el análisis cualitativo</p>	<p>Como en el análisis cualitativo</p>
<p>Límite de cuantificación</p>	<p>Analizar, una sola vez, diez muestras en blanco extraídas de una matriz típica de la droga que contengan ésta en concentraciones próximas al nivel mínimo (cercano al límite de cuantificación) en el que puede percibirse una señal que indique su presencia.</p> <p>Expresar el límite de cuantificación como desviación estándar de ± 3 o ± 10 del valor de la muestra en blanco en la posición de la droga.</p>	<p>El límite de cuantificación debe ser adecuado para los fines previstos (es decir, de ser sometido a un control de calidad externo, debe permitir el cumplimiento de los objetivos de calidad que correspondan).</p>

2.9.2 Materiales incautados – Análisis cuantitativo (continuación)

Parámetro	Requisitos para la validación	Criterios para la aprobación
b) CFG/HPLC/Electroforesis capilar (continuación)		
Linealidad y rango de trabajo*	Analizar una muestra en blanco y otras seis muestras en blanco preparadas independientemente que contengan la droga de interés en seis concentraciones distintas distribuidas en intervalos iguales a lo largo del rango de interés.	El rango de trabajo debe permitir la obtención de los resultados previstos.
Precisión en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad	Analizar diez muestras en blanco preparadas independientemente y añadidas con la droga de interés en seis concentraciones distribuidas a intervalos iguales dentro del rango de trabajo y expresar la variación en términos de desviación estándar de cada concentración.	La desviación estándar de los controles de concentraciones bajas debe ser inferior al 20% y la de los controles de otros niveles debe ser inferior al 15%.
Exactitud	Analizar diez muestras en blanco preparadas independientemente y añadidas con la droga de interés en tres niveles de concentración distintos (alto, medio y bajo) y expresar la diferencia entre el resultado medio y el resultado esperado en porcentaje.	Los errores en los controles de concentraciones bajas han de ser inferiores al 20% y en los demás controles inferiores al 15%.
Recuperación (cuando se necesite una extracción)	Preparar muestras del analito con tres niveles de concentración en una matriz típica. Háganse cinco réplicas de los extractos de cada muestra. Añádase a cada extracto una cantidad conocida del patrón interno. Al mismo tiempo analícese soluciones estándar del analito de que se trate que contengan la misma cantidad de patrón interno. La recuperación se calcula a continuación comparando la relación entre las áreas del pico del analito con las áreas del pico del patrón interno en las muestras de las que se obtuvieron extractos y en las que no.	La recuperación debe ser reproducible con un margen de $\pm 15\%$. <i>Nota:</i> como se indicó en la Parte II F, el porcentaje absoluto de recuperación no es fundamental en la medida en que sea reproducible y permita un límite bajo de cuantificación que sea adecuado.

$$\text{Recuperación \%} = ([A1/A2]/[A3/A4]) \times 100.$$

Para las muestras de las que se obtuvieron los extractos:

A1 = área del pico del analito

A2 = área del pico del patrón interno.

Para las soluciones estándar:

A3 = área del pico del analito

A4 = área del pico del patrón interno.

Incertidumbre	Estimar los errores en cada etapa del proceso analítico utilizando los datos de la validación, si se dispone de ellos, y calcular la incertidumbre total (véase el apartado 2.6. de la Parte II).	Como orientación general, la incertidumbre debe situarse en una banda de $\pm 15\%$ del límite de cuantificación; $\pm 10\%$ del rango medio o alto.
---------------	---	--

Nota: En la CFG-EM, el espectrómetro de masas puede funcionar como mecanismo de barrido de iones o como mecanismo SIM (selección de un ión). En la cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem, el espectrómetro puede operar como mecanismo de barrido de iones o en modo monitorización de reacción múltiple (MRM).

En modo barrido de iones, el espectro de las masas se utiliza, junto con el tiempo absoluto o relativo de retención, para identificar y confirmar la presencia de drogas. Tratándose de una identificación (que remite a la especificidad y selectividad, y a la exactitud) el tiempo de retención y el espectro de masa de cada droga que aparezca en la muestra se comparan con los de un patrón analizado en condiciones idénticas, normalmente en la misma tanda o el mismo día. Como alternativa, el espectro se puede comparar con los patrones archivados, utilizándose un sistema de búsqueda de archivos normal. El tiempo de retención de la presunta droga debe coincidir mucho con el del posible patrón (con un margen de exactitud de $\pm 2\%$) y el espectro debe ser muy parecido visualmente al del patrón o conseguir, en una escala 0-1000, un nivel mínimo de coincidencia en la búsqueda de archivos de 900.

Cuando se utiliza en modo SIM/MRM, se eligen para cada analito de interés por lo menos tres iones/transiciones, lo que normalmente incluirá los picos de base y los iones moleculares más otro ión de diagnóstico. Tratándose de una identificación, las áreas de los picos en los cromatogramas de los iones seleccionados en el tiempo de retención del analito deben tener una intensidad equivalente a las de un patrón analizado en la misma tanda y en condiciones idénticas, con un margen de error tolerable de $\pm 20\%$, aproximadamente. Criterios similares se pueden aplicar a los cromatogramas de masas generados por computadora a partir de datos obtenidos mediante un barrido total de iones, si este modo de operar ofrece una sensibilidad adecuada y hay un número suficiente de espectros de masas (más de 12) en el pico cromatográfico para que puedan determinarse áreas de picos con una exactitud razonable. Si el espectrómetro de masas opera en modo ionización química, sólo podrá haber un ión y la identificación de la droga tendrá que hacerse en función del tiempo de retención y del hecho de que ese ión esté presente. A efectos de cuantificación, uno de los iones/transiciones que se elija se considerará ión/transición de cuantificación y los demás servirán como iones de control para confirmar la identidad de la presunta droga. Los cromatogramas obtenidos de los iones/transiciones de cuantificación se utilizan para la validación de métodos de manera semejante a los obtenidos con otros detectores CFG como el detector de ionización de llama.

2.9.3 Especímenes biológicos – Análisis cualitativo

Parámetro	Requisitos para la validación	Criterios para la aprobación
a) Cromatografía en capa delgada		
Especificidad/ selectividad	<p>Analizar en las condiciones establecidas para la prueba y anotar los valores de Rf (factor de retención) de:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Soluciones estándar de drogas y/o metabolitos dentro del grupo de interés; • Especímenes en blanco añadidos con drogas y/o metabolitos del grupo de interés; • Soluciones estándar de drogas de otros grupos. <p>Analizar una matriz en blanco de cinco fuentes distintas por lo menos y verificar la ausencia de sustancias que interfieran en los valores Rf del analito o analitos de interés.</p> <p>Si otras drogas o sustancias tienen valores Rf similares a los de alguno de los analitos buscados, analizar una mezcla para comprobar si pueden ser diferenciadas del analito o analitos buscados.</p>	<p>Verificar que el método analítico permite satisfacer los objetivos previstos en términos de especificidad y selectividad (es decir, produce unas tasas de falsos positivos mínimas con distintas matrices cuando se utiliza para hacer una criba inicial de sustancias fiscalizadas).</p>
Límite de detección y umbral	<p>Analizar diez réplicas independientes y aleatorias de extractos (de una matriz típica de la droga) en blanco, añadidos con la droga de interés y con distintos niveles de concentración.</p> <p>Establecer el nivel mínimo en el que se detecta la droga con fidelidad.</p> <p>Si se ha definido un umbral de concentración (concentración crítica), el funcionamiento del método (la cromatografía en capa delgada) se verificará realizando controles de muestras añadidas con una concentración un 25% superior a la del umbral aproximadamente.</p>	<p>El límite de detección debe ser lo suficientemente bajo para que el análisis pueda cumplir sus objetivos.</p> <p>El método debe permitir la detección de todos los analitos buscados que sobrepasen los valores de umbral.</p>

2.9.3 Especímenes biológicos – Análisis cualitativo (continuación)

Parámetro	Requisitos para la validación	Criterios para la aprobación
a) Cromatografía en capa delgada (continuación)		
Precisión en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad	Determinar la variabilidad (RSD) de los valores R_f obtenidos de las muestras de control. Si se ha fijado un valor de umbral, la RSD debe determinarse con muestras añadidas con una concentración que sea un 25% superior al valor de umbral aproximadamente.	La RSD debe ser inferior al 20%.
b) CFG/HPLC/Electroforesis capilar		
Especificidad/selectividad	<p>Analizar en las condiciones establecidas para la prueba y anotar los tiempos de retención de:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Soluciones estándar de drogas y/o metabolitos dentro del grupo de interés; • Especímenes en blanco añadidos con drogas y/o metabolitos del grupo de interés; • Soluciones estándar de drogas de otros grupos. <p>Analizar una matriz en blanco de cinco fuentes distintas por lo menos y verificar la ausencia de sustancias que interfirieran en los tiempos de retención de los analitos de interés.</p> <p>Si otras drogas o sustancias tienen tiempos de retención similares a los de alguno de los analitos buscados, analizar una mezcla para comprobar si pueden ser diferenciadas del analito o analitos buscados.</p>	<p>Verificar la ausencia de sustancias que interfirieran en el tiempo de retención de los analitos de interés y del patrón interno.</p> <p>Verificar que el método analítico permite satisfacer los objetivos previstos en términos de especificidad y selectividad (es decir, produce unas tasas de falsos positivos mínimas con distintas matrices cuando se utiliza para hacer una criba inicial de sustancias fiscalizadas).</p>

Límite de detección	Analizar muestras de una selección de drogas incluidas en los grupos de interés en diversas matrices comunes en un rango de diluciones para establecer la concentración mínima en la que todavía pueden detectarse las drogas con confianza (coeficiente entre la señal y el ruido no inferior a 3/1).	El límite de detección debe ser lo suficientemente bajo para que el análisis pueda cumplir su objetivo. Normalmente se requerirá una prueba para detectar el analito en la concentración mínima que es probable encontrar en los especímenes analizados por el laboratorio.
Precisión en condiciones de repetibilidad y reproductibilidad	Analizar al menos diez muestras similares de composición conocida con una concentración de 125 a 2 veces el nivel del límite de detección. Determinar el coeficiente de variación (RSD) de los tiempos de retención en comparación con la muestra de referencia.	No más de una muestra de cada cinco (el 20%) debe dar un falso negativo. La diferencia entre los RSD debe ser inferior a $\pm 2\%$.

2.9.3 Especímenes biológicos – Análisis cualitativo (continuación)

Parámetro	Requisitos para la validación	Criterios para la aprobación
c) Inmunoensayos (semicuantitativos)		
Especificidad/ selectividad	<p>Los inmunoensayos comerciales contienen ya información sobre la especificidad y selectividad del método. No es necesario verificar esta información si el inmunoensayo se utiliza únicamente para los fines previstos.</p> <p>La utilización del inmunoensayo con matrices biológicas distintas de las ya validadas por el fabricante, por ejemplo, sangre en lugar de orina, exigirá su validación, especialmente en lo que respecta a los efectos de matriz.</p> <p>Para validar un inmunoensayo, analizar en las condiciones establecidas para la prueba:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Muestras añadidas con drogas y/o metabolitos fiscalizados del grupo de interés; • Muestras de drogas fiscalizadas de otras clases; • Sustancias que por lo común se encuentran en la matriz en que se analiza la droga; • Al menos 20 especímenes que se sepa que son positivos; • Al menos 20 especímenes que se sepa que son negativos procedentes de distintas personas 	<p>La reactividad con otras drogas o sustancias no debe ser importante.</p>
Límite de detección	<p>Los inmunoensayos comerciales normalmente contienen información sobre este límite.</p> <p>De ser necesaria una validación, por ejemplo, para analizar un nuevo derivado anfetamínico en la misma matriz o para buscar drogas en diferentes matrices, analizar diez réplicas independientes y al azar de especímenes blancos añadidos con la droga de interés con distintos niveles de concentración para poder determinar la concentración mínima que puede detectarse con fiabilidad.</p>	<p>Debe ser sustancialmente inferior al nivel de concentración fijado como umbral para que puedan clasificarse las muestras como positivas o negativas de una forma fiable.</p>

Precisión en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad.

En la mayoría de los inmunoensayos, la decisión de informar sobre la presencia o ausencia de una determinada sustancia no debe basarse en el límite de detección del método sino en el umbral de concentración establecido como criterio para dar positivo.

El buen funcionamiento de un inmunoensayo con un umbral de concentración definido (concentración crítica) debe verificarse analizando muestras de control en tandas añadidas con concentraciones próximas al umbral ($\pm 25\%$ del umbral de concentración).

La precisión dentro del día (repetibilidad) puede determinarse analizando muestras de control añadidas con una concentración del analito que sea un 25% superior al umbral de concentración. Debe calcularse la RSD de estos datos.

La precisión en distintos días (precisión intermedia) puede obtenerse acumulando datos sobre muestras de control añadidas con una concentración del analito que sea un 25% superior al umbral, lo que debe hacerse habitualmente con cada tanda de análisis. Debe calcularse el RSD de estos datos.

Para establecer la repetibilidad (precisión dentro del día) y la precisión intermedia (precisión en distintos días), los valores de la RSD no deben ser inferiores al $\pm 20\%$.

Las muestras de control añadidas han de ser clasificadas correctamente por el inmunoensayo según su nivel de concentración superior o inferior al umbral.

Nota: En la CFG-EM, el espectrómetro de masas puede funcionar como mecanismo de barrido de iones o como mecanismo SIM (selección de un ión). En la cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem, el espectrómetro puede operar como mecanismo de barrido de iones o en modo monitorización de reacción múltiple (MRM)

En modo barrido de iones, el espectro de masas se utiliza, junto con el tiempo absoluto o relativo de retención, para identificar y confirmar la presencia de drogas. Tratándose de una identificación (que remite a la especificidad y selectividad, y a la exactitud) el tiempo de retención y el espectro de masa de cada droga que aparezca en la muestra se comparan con los de un patrón analizado en condiciones idénticas, normalmente en la misma tanda o el mismo día. Como alternativa, el espectro se puede comparar con los patrones archivados, utilizándose un sistema de búsqueda de archivos normal. El tiempo de retención de la presunta droga debe coincidir mucho con el del posible patrón (con un margen de exactitud de $\pm 2\%$) y el espectro debe ser muy parecido visualmente al del patrón o conseguir, en una escala 0-1000, un nivel mínimo de coincidencia en la búsqueda de archivos de 900.

Cuando se utiliza en modo SIM/MRM, se eligen para cada analito de interés por lo menos tres iones/transiciones, lo que normalmente incluirá los picos de base y los iones moleculares más otro ión de diagnóstico. Tratándose de una identificación, las áreas de los picos en los cromatogramas de los iones seleccionados en el tiempo de retención del analito deben tener una intensidad equivalente a las de un patrón analizado en la misma tanda y en condiciones idénticas, con un margen de error tolerable de $\pm 20\%$, aproximadamente.

Criterios similares se pueden aplicar a los cromatogramas de masas generados por computadora a partir de datos obtenidos mediante un barrido total de iones, si este modo de operar ofrece una sensibilidad adecuada y hay un número suficiente de espectros de masas (más de 12) en el pico cromatográfico para que puedan determinarse áreas de picos con una exactitud razonable. Si el espectrómetro de masas opera en modo ionización química, sólo podrá haber un ión y la identificación de la droga tendrá que hacerse en función del tiempo de retención y del hecho de que ese ión esté presente.

2.9.4 Especímenes biológicos – Análisis cuantitativo

Parámetro	Requisitos para la validación	Criterios para la aprobación
a) CFG/HPLC/Electroforesis capilar		
Especificidad/ selectividad	<p>Analizar en las condiciones establecidas para la prueba y anotar los tiempos de retención de:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Soluciones estándar de drogas y/o metabolitos del grupo de interés; • Especímenes en blanco añadidos con las drogas y/o metabolitos del grupo de interés; y • Soluciones estándar de drogas de otros grupos. 	<p>Verificar que no hay un nivel importante de sustancias que interfieren en el tiempo de retención del analito de interés y del patrón interno. Se considerará un nivel importante el equivalente o superior al límite de cuantificación.</p>
	<p>Analizar una matriz en blanco obtenida de diez fuentes diferentes por lo menos y verificar la ausencia de sustancias interferentes en los tiempos de retención de los analitos de interés.</p>	
		<p>Si una droga u otra sustancia tiene un tiempo de retención similar a alguno de los analitos considerados, analizar una mezcla de ellos para comprobar si pueden diferenciarse del analito buscado.</p>

2.9.4 Especímenes biológicos – Análisis cuantitativo (*continuación*)

Parámetro	Requisitos para la validación	Criterios para la aprobación
a) CFG/HPLC/Electroforesis capilar (<i>continuación</i>)		
Linealidad y rango de trabajo*	<p>Analizar una muestra en blanco que contenga la droga de interés con cinco concentraciones distintas que cubran todo el rango de interés. Las concentraciones deben estar separadas por intervalos iguales.</p> <p>Deberán analizarse seis réplicas de la muestra, por lo menos, por cada nivel de concentración a fin de identificar y excluir los valores atípicos. Para tal fin pueden utilizarse las pruebas de Grubbs o de Dixon.</p> <p>Calcular una curva de calibración utilizando los valores medios de cada concentración y controlar su linealidad, utilizando por ejemplo el análisis de regresión lineal para obtener el coeficiente de regresión r^2.</p> <p>En los estudios de la linealidad pueden estimarse parámetros tales como el límite de detección y el límite de cuantificación. Esa estimación puede realizarse multiplicando por tres (si se trata del límite de detección) o por diez (si se trata del límite de cuantificación) el coeficiente de la relación entre la desviación estándar observada en el nivel inferior de calibración y la pendiente de la regresión lineal.</p>	<p>La prueba de la linealidad debe confirmarse que el método es lineal, por ejemplo, el coeficiente de regresión debe ser superior a 0,99 en el rango de trabajo y éste debe ser adecuado al objetivo buscado.</p> <p>Los límites de detección y de cuantificación deben ser muy inferiores al punto más bajo de calibración.</p>
Exactitud	<p>Deben analizarse réplicas de especímenes en blanco añadidas con las drogas de interés con tres niveles distintos (alto, medio y bajo) en tres días consecutivos. El número de réplicas por nivel de concentración y día debe ser por lo menos tres. La diferencia entre el resultado medido y el resultado esperado (véase la Parte II F) debe expresarse en porcentaje.</p>	<p>Todos los resultados deben situarse dentro de la banda $\pm 20\%$ del valor esperado en los niveles de concentración bajos y de $\pm 15\%$ en los niveles altos.</p>

<p>Precisión en condiciones de reproducibilidad</p>	<p>Comparar los resultados obtenidos con cada espécimen en blanco añadido en cada nivel de concentración cuando se determinó la exactitud, y expresar la variación en términos de RSD de cada concentración.</p>	<p>La RSD debe ser inferior al 20% en los niveles de concentración bajos e inferior al 15% en los niveles altos.</p>
<p>Recuperación (cuando se necesite una extracción)</p>	<p>Preparar especímenes del analito buscado con tres concentraciones distintas en una matriz en blanco. Preparar cinco réplicas de extractos de cada espécimen. Añadir a cada extracto una cuantía conocida de estándar interno. Al mismo tiempo, analizar soluciones estándar del analito buscado que contengan la misma cantidad de patrón interno. (Nota: si se conocen efectos de matriz, debe obtenerse una cantidad equivalente de extractos de una matriz en blanco y añadirse a las soluciones estándar junto con el estándar interno).</p>	<p>La recuperación debe ser reproducible con un margen de $\pm 15\%$.</p> <p><i>Nota:</i> como se indica en la Parte II F, el porcentaje de recuperación absoluta no es fundamental en la medida en que sea reproducible y el límite bajo de cuantificación sea adecuado.</p>
<p>Recuperación</p>	<p>La recuperación se calcula a continuación comparando el coeficiente entre el área donde se sitúa el pico del analito y el área donde se sitúa el pico del patrón interno en las muestras de las que se obtuvieron los extractos y en las que no.</p> <p>Recuperación % = $([A1/A2]/[A3/A4]) \times 100$.</p> <p>Para las muestras de las que se obtuvieron los extractos: A1 = área del pico del analito A2 = área del pico del patrón interno.</p> <p>Para las soluciones estándar: A3 = área del pico del analito A4 = área del pico del patrón interno.</p>	
<p>Incertidumbre</p>	<p>Estimar los errores en cada etapa del proceso analítico utilizando los datos de la validación, si se dispone de ellos, y calcular la incertidumbre total (véase el apartado 2.6. de la Parte II).</p>	<p>Como orientación general, la incertidumbre debe situarse en una banda de $\pm 25\%$ del límite de cuantificación; $\pm 20\%$ del rango medio o alto.</p>

Nota: En la CFG-EM, el espectrómetro de masas puede funcionar como mecanismo de barrido de iones o como mecanismo SIM (selección de un ión). En la cromatografía líquida espectrométrica de masas en tándem, el espectrómetro puede operar como mecanismo de barrido de iones o en modo monitorización de reacción múltiple (MRM).

En modo barrido de iones, el espectro de las masas se utiliza, junto con el tiempo absoluto o relativo de retención, para identificar y confirmar la presencia de drogas. Tratándose de una identificación (que remite a la especificidad y selectividad, y a la exactitud) el tiempo de retención y el espectro de masa de cada droga que aparezca en la muestra se comparan con los de un patrón analizado en condiciones idénticas, normalmente en la misma tanda o el mismo día. Como alternativa, el espectro se puede comparar con los patrones archivados, utilizándose un sistema de búsqueda de archivos normal. El tiempo de retención de la presunta droga debe coincidir mucho con el del posible patrón (con un margen de exactitud de $\pm 2\%$) y el espectro debe ser muy parecido visualmente al del patrón o conseguir, en una escala 0-1000, un nivel mínimo de coincidencia en la búsqueda de archivos de 900.

Cuando se utiliza en modo SIM/MRM, se eligen para cada analito de interés por lo menos tres iones/transiciones, lo que normalmente incluirá los picos de base y los iones moleculares más otro ión de diagnóstico. Tratándose de una identificación, las áreas de los picos en los cromatogramas de los iones seleccionados en el tiempo de retención del analito deben tener una intensidad equivalente a las de un patrón analizado en la misma tanda y en condiciones idénticas, con un margen de error tolerable de $\pm 20\%$, aproximadamente. Criterios similares se pueden aplicar a los cromatogramas de masas generados por computadora a partir de datos obtenidos mediante un barrido total de iones, si este modo de operar ofrece una sensibilidad adecuada y hay un número suficiente de espectros de masas (más de 12) en el pico cromatográfico para que puedan determinarse áreas de picos con una exactitud razonable. Si el espectrómetro de masas opera en modo ionización química, sólo podrá haber un ión y la identificación de la droga tendrá que hacerse en función del tiempo de retención y del hecho de que ese ión esté presente.

A efectos de cuantificación, uno de los iones/transiciones que se elija se considerará ión/transición de cuantificación y los demás servirán como iones de control para confirmar la identidad de la presunta droga. Los cromatogramas obtenidos de los iones/transiciones de cuantificación se utilizan para la validación de métodos de manera semejante a los obtenidos con otros detectores CFG como el detector de ionización de llama.

3. Calibración/Verificación del funcionamiento de instrumentos y equipo

3.1 Introducción

El funcionamiento de los instrumentos y el equipo de laboratorio pueden alterarse con el paso del tiempo, ya sea a corto plazo, debido a las fluctuaciones del entorno, o a largo plazo, debido al envejecimiento de los componentes mecánicos, ópticos o electrónicos. Los pequeños cambios pueden pasar desapercibidos e inducir a error en los resultados obtenidos. Además, el funcionamiento puede resultar afectado por reparaciones o por la sustitución de módulos o componentes. También es posible que un equipo nuevo no haya sido controlado o sometido a prueba antes de la entrega para establecer si cumple las especificaciones.

En un laboratorio que mantenga un sistema de gestión de la calidad, todos estos aspectos del trabajo analítico se controlan, y se controlan también los posibles errores instrumentales por medio de unos procedimientos periódicos de mantenimiento y calibración preventivos. La forma en que se controla el funcionamiento de los instrumentos y el equipo (para referirse a este proceso se utilizan los términos verificación [4] o calificación [16] del funcionamiento), y la frecuencia de las calibraciones (intervalo), deben estar estipuladas en los procedimientos normalizados de trabajo.

La verificación del funcionamiento debe basarse en pruebas que no se ajusten específicamente a un método concreto y en las que se utilicen calibradores y patrones rastreables, permitiendo así que el equipo pueda ser comparado entre laboratorios. La verificación del funcionamiento no se relaciona expresamente ni con métodos de criba inicial ni con métodos de confirmación. La calibración de los instrumentos y el equipo (por ejemplo, calibración de la longitud de onda de un espectrómetro infrarrojo, calibración de masas de un espectrómetro con un sistema acoplado de cromatografía en fase gaseosa) es independiente del tipo de muestra que se utilice.

Existen dos enfoques teóricos del proceso de calibración:

- El enfoque tradicional, según el cual han de calibrarse todos los instrumentos y el equipo, y
- El enfoque que parte del supuesto de que sólo deben calibrarse los instrumentos que realicen mediciones físicas y cuyos resultados sean una medición directa de un parámetro físico rastreable. Por ejemplo, pueden calibrarse balanzas, espectrómetros, termómetros, centrifugadoras y cronómetros porque existen unos estándares

rastreables que determinan el nivel de incertidumbre de las mediciones. En todos los demás casos, en el laboratorio sólo podrá hacerse una verificación del funcionamiento del equipo/instrumentos, pues sin una estimación de la incertidumbre no puede hacerse una calibración.

El laboratorio tiene que decidir qué enfoque prefiere.

3.2 Requisitos metrológicos

El laboratorio debe disponer de todos los artículos necesarios para medir muestras y del equipo de análisis que se necesite para realizar pruebas y calibraciones correctas. Antes de su utilización, debe comprobarse y calibrarse el equipo para asegurarse de que cumple los requisitos de laboratorio y las especificaciones estándar. El laboratorio debe disponer de un programa y unos procedimientos establecidos de calibración de su equipo [17].

Algunos proveedores de instrumentos y equipo pueden encargarse de certificar la calibración a través de un contrato ordinario de mantenimiento. Las exigencias actuales en materia de garantía de la calidad y buenas prácticas de laboratorio obligan a anotar en el cuaderno de cada instrumento todos los controles y procedimientos de calibración que se lleven a cabo y las medidas correctivas adoptadas si un control indica que un instrumento no está bien calibrado, de acuerdo con en el siguiente cuadro.

Datos que deben anotarse en el cuaderno de mantenimiento del instrumento [4]

Denominación del equipo
Nombre del fabricante, modelo y/o tipo
Número de serie
Fecha de recepción del equipo en el laboratorio
Condición en que se recibió (nuevo, usado)
Información detallada sobre los controles del cumplimiento de las especificaciones pertinentes de calibración o estándares analíticos
Fecha en que entró en servicio el equipo en el laboratorio
Ubicación actual en el laboratorio, cuando proceda
Copia de las instrucciones de manejo del fabricante
Definición de los criterios que se utilizarán para juzgar el buen funcionamiento en consonancia con los requisitos para realizar el tipo de análisis que haya de hacerse con ese instrumento
Datos detallados sobre las actividades de mantenimiento realizadas y del posterior control del funcionamiento
Historial de los daños, problemas de funcionamiento, modificaciones o reparaciones de los instrumentos y de los posteriores controles del funcionamiento
Frecuencia de los controles del cumplimiento de los criterios de buen funcionamiento

3.3 Procedimientos de calibración/verificación del funcionamiento de instrumentos y equipo

Los procedimientos de calibración de aparatos utilizados en química analítica frecuentemente son descritos por el propio fabricante, que aporta además información sobre las actividades normales de mantenimiento y la frecuencia con que deben realizarse. A continuación se ofrecen directrices para establecer procedimientos estándar de calibración de instrumentos y equipo de uso común, y aplicar a éstos dichos procedimientos [13, 15].

Pipetas automáticas

El mantenimiento ordinario exige que, aparte de una calibración, se realicen controles periódicos de las líneas de pipetas, desarmándolas y limpiándolas en caso necesario.

Parámetro a calibrar: volumen de la descarga.

Método: si se trata de pipetas de volumen fijo, se pipetea agua destilada en un recipiente de peso conocido para controlar el volumen efectivamente librado. Se consigue una mayor exactitud si la balanza utilizada para controlar el peso viene acompañada de una cámara de pesaje que pueda saturarse con vapor de agua, que con frecuencia se libra como accesorio con las balanzas electrónicas modernas. Las pipetas de volumen variable deben calibrarse al menos en cuatro niveles: el nivel máximo, el nivel mínimo fijado por el encargado de las pipetas automáticas y dos o más niveles intermedios, uno de los cuales debe ser inferior al punto medio de la escala. Si una pipeta de volumen variable se utiliza únicamente para dispensar un volumen fijo sólo podrá ser calibrada para ese volumen fijo. Los ajustes del mecanismo de fijación del volumen deben hacerse, en caso necesario, siguiendo las instrucciones del fabricante.

Intervalo de calibración: el ritmo de deterioro de la calibración debe determinarse haciendo controles frecuentes (diarios) del calibrado. El intervalo de las calibraciones podrá alargarse entonces para adaptarlo a las condiciones del laboratorio (normalmente el intervalo será de tres meses).

Aparatos de medición del punto de fusión

Parámetro a calibrar: Exactitud del termómetro.

Método: Los puntos de fusión de las sustancias de referencia se miden por lo menos dos veces.

Intervalo de calibración: Cada seis meses.

Medidores del pH

Parámetro a calibrar: Exactitud y linealidad del pH.

Método: Los indicadores preparados comercialmente o los indicadores estándar (que pueden buscarse en cualquier farmacopea) han de utilizarse de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Intervalo de calibración: Diariamente cuando esté en uso.

Hornos y calefactores

Parámetro a calibrar: Temperatura.

Método: El control se realiza con un pirómetro portátil o un termómetro de precisión, que deben situarse lo más cerca posible del sensor de temperatura del horno.

Intervalo de calibración: Anualmente, y después de cada reparación que pueda influir en el funcionamiento del horno/calefactor.

Baños de agua

Parámetro a calibrar: Temperatura.

Método: Termómetro de precisión/de referencia.

Intervalo de calibración: Trimestralmente, cuando se sustituya el termómetro del baño de agua o cuando éste no haya sido utilizado durante un tiempo prolongado (semanas o meses).

Balanzas

Antes de su utilización, las balanzas deben ser comprobadas para asegurarse de que están limpias y equilibradas en la superficie en que se encuentren. Es fundamental que cada año haga una visita de mantenimiento un ingeniero calificado. Las balanzas utilizadas para realizar mediciones fundamentales (es decir, cuando la suma de las incertidumbres que genere el proceso de pesaje represente un factor importante de la exactitud del resultado final o, en otros términos, cuando puedan significar un 10% del error total) deben disponer como mínimo de un certificado de calibración. Estos certificados deben ser emitidos por un organismo acreditado externo o por un personal de laboratorio adecuadamente capacitado. Los certificados deben ser renovados anualmente.

Parámetro a calibrar: exactitud.

Método: Los pesos de referencia se utilizan de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. El usuario puede decidir, cuando así lo exijan los resultados requeridos, utilizar unos patrones de peso con un nivel de exigencia mayor que los preparados por el fabricante. Una secuencia típica sería controlar el punto cero de la balanza con el platillo vacío y a continuación poner en éste el peso de referencia y ajustar la lectura para que refleje el valor correcto. Obsérvese que los patrones de peso deben manejarse con gran cuidado utilizándose pinzas con las puntas lisas, ya que las puntas rugosas pueden dañarlos. Las balanzas electrónicas modernas frecuentemente disponen de sistemas internos de calibración del peso y el control se realiza de forma automática de acuerdo con una secuencia prefijada por el fabricante o, en su caso, por el usuario.

Intervalo de calibración: Las microbalanzas utilizadas para preparar patrones de referencia deben ser controladas diariamente o, si no se utilizan diariamente, cada vez que lo sean. Las balanzas de mesa para reactivos y para medir pesos menos importantes pueden ser controladas con menor frecuencia, por ejemplo, cada semana o mes, pero es importante comprobar la rapidez con que se producen los desajustes a fin de determinar cuál es el intervalo de calibración correcto. También deben realizarse controles de la calibración cada vez que se mueva la balanza de sitio.

Refrigeradores y congeladores

Parámetro a calibrar: Temperatura.

Método: Termómetro de precisión. La temperatura debe mantenerse dentro de una banda máxima de ± 5 grados de la temperatura requerida.

Intervalo de calibración: Continuamente.

Instrumentos para métodos inmunológicos

Existen muchos métodos inmunológicos distintos y la mayoría depende de una comparación directa con un patrón de calibración incluido en cada tanda de muestras a analizar. Tiene especial importancia el umbral de concentración del analito utilizado, por lo que el analista debe conocer cuál es el umbral de concentración establecido por el fabricante del juego de inmunoensayo que utilice. Los procedimientos de calibración a seguir son los establecidos por el fabricante.

Como excepción notable a este procedimiento general cabe señalar los juegos de inmunoensayo desechables (a veces denominados pruebas de “palito”), que a veces tienen mecanismos de control interno, pero no siempre. En principio, deben reflejar un resultado “positivo” o “negativo” si la concentración del analito buscado es superior o inferior al umbral. Cabe señalar que con frecuencia interviene un cierto grado de interpretación por parte de quien realiza la prueba y que, como siempre, un operador capacitado y con experiencia obtendrá resultados más exactos y coherentes que otro con menos experiencia.

Espectrofotómetros de radiación ultravioleta-visible

Parámetro a calibrar: Exactitud de la longitud de onda y repetibilidad, exactitud fotométrica.

Método: La absorción de las longitudes de onda de las radiaciones UV se controla con filtros de holmio y didimio, que deben ser suministrados por el fabricante. La exactitud de la longitud de onda y la repetibilidad se controlan en toda la gama de radiación UV-visible. Han de obtenerse por lo menos dos espectros. La desviación máxima ha de ser $\pm 1,0$ nm.

Intervalo de calibración: Anualmente.

Espectrómetros infrarrojos

Los procedimientos que se indican a continuación afectan sólo a los espectrómetros independientes. Los instrumentos combinados, como los espectrómetros CFG/FT-IR se deben calibrar de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Parámetro a calibrar: Resolución.

Método: Se comprueba la gama total del instrumento con una película de poliestireno. Debe diferenciarse el pico de absorción de 3095 nm del de 3080 nm y la absorción de 3020 nm debe diferenciarse de la de 3015 nm.

Intervalo de calibración: Trimestralmente.

Parámetro a calibrar: Exactitud de la longitud de onda.

Método: Se escanea una película de poliestireno y se controla la exactitud de los picos en 2852, 1602 y 1028 nm [18]. La exactitud debe ser de $\pm 3-5$ nm en el rango 4000-2000 nm y de $\pm 1,5-2,5$ nm en el rango inferior a 2000 nm.

Intervalo de calibración: Trimestralmente.

Cromatógrafos de gases

Entre las operaciones ordinarias de mantenimiento cabe mencionar los controles del septum, el sistema de inyección, las presiones del gas y los filtros internos (por ejemplo, filtros de oxígeno, impurezas, humedad e hidrocarburos), el nivel de la señal de base y el ruido de fondo. Dependiendo del grado de utilización del instrumento, puede ser conveniente establecer un programa de mantenimiento ordinario que suponga un cambio semanal del septum y el mezclador del inyector (con mayor frecuencia si se analiza un gran número de muestras).

Parámetro a calibrar: Temperatura del horno.

Método: Controlar con un pirómetro portátil de referencia o un termómetro de precisión, que debe situarse lo más cerca posible del sensor de temperatura del horno.

Intervalo de calibración: Anualmente.

Parámetros a verificar: Calidad de la columna (eficiencia, resolución, forma del pico, tiempos de retención).

Método: Se analiza un grupo de estándares de uso ordinario. La precisión de los tiempos de retención puede medirse inyectando el estándar tres veces o más. También pueden medirse las áreas de los picos (véase más adelante integradores). Es útil dibujar un diagrama de control de los parámetros, como tiempos/índices de retención.

Intervalo de la verificación: Mensualmente.

Parámetros a verificar: Sensibilidad del detector, señal de base y ruido de fondo.

Método: Se analiza un grupo de patrones de uso ordinario y se compara con resultados anteriores.

Intervalo de verificación: Mensualmente.

Parámetro a calibrar: Capacidad de lectura del detector de gases.

Método: Se utiliza un medidor de flujos de pompas de jabón o un medidor electrónico calibrado de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Intervalo de calibración: Cuando se limpie o repare el detector, o cuando se cambie la columna analítica o se deteriore el funcionamiento. La dificultad de encendido de un detector de ionización de llama indica muchas veces que la velocidad de flujo es incorrecta.

Cromatógrafos líquidos de alto rendimiento

Los trabajos ordinarios de mantenimiento de los sistemas de cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC) incluye el recambio periódico de los filtros, internos y en línea, y de las columnas de almacenaje, lo que normalmente debe hacerse cuando la presión inversa supera el límite aceptable (es decir, se sitúa por encima del nivel máximo de presión dentro de la columna). Si los métodos se transfieren de un instrumento a otro puede ser necesario comprobar la exactitud de algunos parámetros como la velocidad de flujo, la temperatura de la columna y la composición del eluyente, que influyen en los tiempos absolutos y relativos de retención.

Parámetro a calibrar: Exactitud del flujo.

Método: Los efluyentes de la columna se recogen en una probeta o frasco volumétrico durante el tiempo adecuado.

Intervalo de calibración: La velocidad absoluta del flujo con frecuencia es menos importante que su variación durante una tanda de análisis, pero debe ser controlada si se utiliza un método estándar, oficial o recomendado.

Parámetro a calibrar: Repetibilidad del flujo y precisión volumétrica del inyector.

Método: Se inyecta tres veces, o más, un grupo de estándares de uso ordinario y se mide la precisión de los tiempos de retención y las áreas de los picos.

Intervalo de calibración: Mensualmente, o bien diariamente si esta prueba está integrada en un sistema de comprobación diaria del buen estado de los aparatos.

Parámetro a calibrar: Coeficiente señal del detector/ruido.

Método: Se analiza un grupo de estándares utilizados normalmente y se comparan los resultados con los de análisis anteriores. El ruido de base se mide en intervalos de 0,5 a 1 minutos y se calcula el promedio. El ruido se calcula con un programa informático (si lo suministra el fabricante) o gráficamente, definiendo dos líneas horizontales que abarquen todas las variaciones observadas y midiendo la distancia vertical entre ellas. El nivel del ruido puede medirse mientras fluyen los eluyentes y sin ese flujo, para definir así la contribución del sistema de alimentación de eluyentes al ruido.

Intervalo de calibración: Mensualmente.

Parámetro a calibrar: Exactitud del detector de longitudes de onda (detectores de UV-visible y de fluorescencia).

Método: La absorción de las longitudes de onda UV se comprueba con un filtro de óxido de holmio, suministrado por el fabricante (y rastreable hasta el patrón primario) que tiene un máximo de absorción de longitud de onda de 361 nm que es característico. La exactitud de la longitud de onda y la reproducibilidad se controlan en todo el rango de radiación UV-visible. La desviación máxima (admisible) es de $\pm 1,0$ nm. La emisión de longitudes de onda de la fluorescencia normalmente se controla utilizando un patrón, por ejemplo, sulfato de quinina, que tiene unos picos de excitación de 255 y 355 nm y un pico de emisión de 455 nm.

Intervalo de calibración: Anualmente.

Espectrómetros de masas

Los espectrómetros de masas se regulan y calibran de forma semejante tanto si son un instrumento independiente o están combinados con interfaces cromatográficas (GC-MS y LC-MS y sus derivaciones con múltiples sectores). Existen diferencias entre los instrumentos cuadrupolares y los de sector magnético, en especial si estos últimos son capaces de ofrecer una alta resolución. La mayoría de los instrumentos de laboratorio de este tipo están controlados directamente por un sistema informático y la regulación y calibración se realizan automáticamente. El sistema informático genera un mensaje de advertencia cuando el instrumento deja de cumplir los requisitos de funcionamiento prefijados, y muchas veces ordena directamente una intervención del operador, por ejemplo, limpiar la fuente.

Parámetros a calibrar: Regulación de la fuente y calibración de las masas.

Método: Se introduce en el espectrómetro un compuesto de calibración, como el perfluorokeoseno (PFK) o la heptacosafuoroperbutilamina (perfluoroperbutilamina) por la rendija correspondiente. La fuente se regula por medio de una selección de fragmentos de iones para obtener una sensibilidad y un área de los picos óptimas, y obtener unas relaciones masa/carga de los picos (por ejemplo, m/z 69, 219 y 264, y 502, en el espectro de la perfluoroperbutilamina), que normalmente vienen determinados por el fabricante. Los espectros se almacenan y comparan con el espectro de referencia en lo que respecta a la asignación de masas y la intensidad relativa de los picos.

Intervalo de calibración: Diariamente o inmediatamente antes de su utilización.

Integradores cromatográficos y sistemas de datos

La validación de los sistemas y los programas informáticos es un trámite de especial importancia que debe estar a cargo del fabricante. Sin embargo, sigue siendo responsabilidad del usuario asegurarse de que los programas informáticos han sido validados. La validación formal de los programas informáticos puede ser realizada por el proveedor en nombre del usuario, pero este último deberá ensayarlos para que se produzca la aceptación formal. El ensayo permite establecer si se satisfacen los criterios establecidos para los programas informáticos. Los fabricantes incluyen actualmente de forma rutinaria en sus productos funciones de prueba y diagnóstico para validar los sistemas.

Parámetro a calibrar: Exactitud de las áreas integradas de los picos.

Método: O bien se utiliza la función de prueba integrada en el cromatógrafo o bien se realiza un análisis de un patrón ordinario y se compara con análisis anteriores.

Intervalo de calibración: Las comprobaciones ordinarias se realizan por lo general diariamente. Las pruebas de funcionamiento del material informático pueden realizarse a intervalos más amplios, por ejemplo, mensualmente.

4. Modelo de procedimiento normalizado de trabajo para la validación de un nuevo método analítico

Para validar un método se necesita un procedimiento normalizado de trabajo que esté redactado con claridad. Se han publicado varios ejemplos de procedimientos normalizados de trabajo para métodos cromatográficos [19]. El modelo que figura a continuación no es aplicable universalmente ya que no es posible preparar un solo protocolo o procedimiento normalizado de trabajo que abarque todas las situaciones. Las directrices que a continuación se ofrecen abarcan las situaciones más comunes.

<i>Nombre del laboratorio</i>			<i>Revisión</i>	<i>Página</i> 1/x
<i>Autor</i>	<i>Responsable del examen</i>	<i>Responsable de la aprobación</i>	<i>Revisión anterior</i>	<i>Fecha</i>
<i>Archivo</i>			<i>Código</i>	

Título del procedimiento normalizado de trabajo

Por ejemplo, validación de métodos de cromatografía en fase gaseosa.

Objetivo del procedimiento normalizado de trabajo

En esta sección debe consignarse una breve descripción del método a validar, con inclusión de la planificación, el funcionamiento y la documentación que correspondan.

Realización de la validación

Indíquense detalladamente las medidas previstas para determinar el cumplimiento de los parámetros de la validación.

Puede adoptar la forma de un plan de trabajo, un cuadro, etc., como el siguiente:

<i>Linealidad, exactitud</i>	
<i>Tanda</i>	36 a 48 muestras (6 niveles de concentración, 6-8 análisis de réplicas en cada nivel, y además 20 especímenes)
Total	36-48

Este cuadro corresponde a un estudio previo a la validación para determinar la utilidad del método.

<i>Tanda</i>	<i>Muestras de validación</i>							<i>Muestras totales</i>
	<i>Patrones de calibración</i>	<i>Límite inferior de cuantificación</i>		<i>Nivel intermedio</i>	<i>Límite superior de cuantificación</i>			
		<i>Exactitud</i>	<i>Exactitud</i>		<i>Estabilidad</i>	<i>Exactitud</i>	<i>Selectividad</i>	
	<i>6 niveles + 1 blanco</i>	<i>Exactitud</i>	<i>Exactitud</i>	<i>Recuperación</i>	<i>Estabilidad</i>	<i>Exactitud</i>	<i>Selectividad</i>	
1	6-8 réplicas	3	3			3	12	27-29
2	6-8 réplicas	3	3	12		3		27-29
3	6-8 réplicas	3	3		8	3		23-25
4	6-8 réplicas	3	3			3		15-17
5	6-8 réplicas	3	3			3		15-17
Total								139-175 muestras

Cálculo de los resultados e interpretación

Describir los procedimientos para calcular el cumplimiento de los parámetros a partir de los resultados de los experimentos y de los criterios de aceptación – Véase el párrafo 2.9. de este manual.

Información de los resultados

Informar sobre los resultados de la validación. Debe describirse el método, deben documentarse los resultados de cada parámetro de validación y deben extraerse conclusiones acerca de si el método permite cumplir los objetivos.

Archivo de los datos del estudio de validación

El informe de la validación (firmado, fechado y autorizado) debe ser conservado, junto con el plan de validación y todos los datos experimentales, en un almacén seguro, y ser fácilmente recuperables.

Referencias

Se trata de las referencias propias de este procedimiento normalizado de trabajo, por ejemplo, las referencias teóricas del método de validación.

Referencias

1. Publicaciones de la UNODC: Brochure on the International Quality Assurance Programme y Protocolo de los ejercicios internacionales de colaboración. Pueden descargarse en inglés en el sitio web de la UNODC: <http://www.unodc.org/unodc/en/scientists/publications.html>.
2. D.R. Jenke, "Chromatographic Method Validation: A review of Current Practices and Procedures. I. General Concepts and Guidelines", *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.*, vol. 19 (1996), págs. 719 a 736.
3. Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito, Orientaciones para la implantación de un sistema de gestión de la calidad en los laboratorios de análisis de drogas, ST/NAR/37, 2009.
4. General criteria of competence for calibration and testing laboratories, UKAS, Teddington, Reino Unido.
5. Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs, *Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs (SWGDRUG) Recommendations*, 2008.
6. Organización Internacional de Normalización/Comisión Electrotécnica Internacional, ISO/IEC 17025:2005 *General Requirements for Competence of Testing and Calibration Laboratories*.
7. E. Prichard (ed.), Trace Analysis: A structural approach to obtaining reliable results. (*Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1996*), págs. 32 a 39.
8. Eurachem/Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry (CITAC), *EURACHEM/CITAC Guide: Expression of uncertainty in qualitative testing*, 2003.
9. Eurachem/Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry (CITAC), *EURACHEM/CITAC Guide: Measurement uncertainty arising from sampling: a guide to methods and approaches*, 2007.
10. Eurachem/Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry (CITAC), *EURACHEM/CITAC Guide CG4: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*, 2nd Edition, 2000.
11. SWGDRUG, *Quality Assurance/General Practices Recommendations*, 2008.
12. A.G. Rowley, *Evaluating Uncertainty for Laboratories, A Practical Handbook* (versión 1.1, 2001).

13. Eurachem/Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry (CITAC), *EURACHEM/CITAC Guide: Guide to Quality in Analytical Chemistry*, 2002.
14. L. Huber, *Good Laboratory Practice: A primer for HPLC, CE and UV-visible spectroscopy* (Hewlett-Packard Co., publicación núm. 12-5091-6259E, 1993).
15. Organización Internacional de Normalización, ISO 9000:2000 *Quality management systems – Fundamentals and vocabulary*.
16. Organización Internacional de Normalización, ISO 9001:2008. *Quality management systems – Requirements*.
17. Organización Internacional de Normalización/Comisión Electrotécnica Internacional ISO/IEC 17025:2005 *General Requirements for Competence of Testing and Calibration Laboratories*, párrafos 5.5 y 5.6.
18. Organización Mundial de la Salud, *Farmacopea internacional*, tercera edición. Volumen 1: Métodos generales de análisis.
19. David M. Bliesner, *Validating Chromatographic Methods*, (John Wiley & Sons, 2006, pág. 72).

Puede obtenerse más información sobre los documentos de referencia en las siguientes direcciones (al 16 de junio de 2009):

UNODC	http://www.unodc.org/
SWGDRUG	http://www.swgdrug.org/
ISO	http://www.iso.org/iso/home.htm
EURACHEM	http://www.eurachem.org/

ANEXO **Glosario de términos utilizados en el manual de validación y calibración**

Las definiciones están tomadas del Glosario de la UNODC (ST/NAR/26) al que se han añadido términos o definiciones (señaladas con un asterisco). Si no se encuentran al final, las referencias de las fuentes de las definiciones pueden encontrarse en el Glosario antes citado.

análisis replicado: Realización de múltiples análisis de distintas partes de un material de ensayo utilizando el mismo método en las mismas condiciones, por ejemplo, el mismo operador, los mismos aparatos, el mismo laboratorio.

analito (o analito buscado): Sustancia que debe identificarse o medirse.

analito sustitutivo: Sustancia bien caracterizada que se toma como representativa del analito [3].

bondad de ajuste: Grado en que un modelo, una distribución teórica o una ecuación se ajusta a los datos reales.

calibración: Serie de operaciones que sirven para determinar, en condiciones especificadas, la relación existente entre los valores indicados por un instrumento o un sistema de medición, o los valores de una medida real, y los valores conocidos del mensurando.

calibrador: Analito puro en un disolvente o matriz apropiado que se utiliza para preparar la curva de calibración. Los calibradores tienen una composición semejante a los controles de calidad pero se han de preparar de forma independiente, ya que los segundos se utilizan para comprobar la exactitud de la curva de calibración.

calificación del funcionamiento*: Véase verificación del funcionamiento.

características de funcionamiento*: Aspectos fundamentales de un método analítico que se evalúan a los efectos de desarrollarlo y validarlo, entre ellos, exactitud (sesgo), linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, rango, recuperación, repetibilidad, reproducibilidad, robustez y especificidad (selectividad).

certificación: Procedimiento por el que un organismo de certificación reconoce oficialmente que un organismo, persona o producto cumple determinadas especificaciones.

certificado de método autorizado*: Documento que certifica que un método analítico ha sido validado para sus fines previstos en el laboratorio y ha sido autorizado a tal fin por el director del mismo, quien deberá firmar el certificado.

cocromatografía*: Procedimiento que consiste en dividir la solución purificada que será analizada antes de realizar la cromatografía en dos partes y:

- una de ellas es cromatografiada directamente;
- la otra parte es añadida con el analito que ha de ser identificado en una cantidad conocida y esta mezcla de la solución a analizar y el analito se cromatografían. La cantidad de analito ha de ser similar a la cantidad estimada de analito en la solución analizada [5].

coeficiente de correlación: Número que indica el grado de relación recíproca de dos variables. Los coeficientes de correlación varían entre 0 (sin correlación) y -1 o +1 (correlación perfecta).

coeficiente de variación (o desviación estándar relativa): Medida utilizada para comparar la dispersión o variación en grupos de mediciones. Es el cociente entre la desviación estándar y la media, multiplicada por 100 para expresarla en porcentaje del promedio.

comparaciones de ensayos entre laboratorios (comparaciones de ensayos interlaboratorios): Véase estudios en colaboración.

concentración: Cantidad de una sustancia, expresada en unidades de masa o molares, que hay en una unidad de volumen de fluido.

concentración crítica (o umbral): Concentración de una droga en un espécimen que se utiliza para determinar si se debe considerar ese espécimen positivo o negativo. En algunas circunstancias se recomienda que la concentración crítica sea igual al límite de detección. Véase umbral.

contaminación*: Aumento del analito en el proceso de extracción, en lugar de producirse las pérdidas que normalmente se registran cuando se estima la recuperación.

control de calidad: Sistema general de procedimientos y procesos de laboratorio encaminados a controlar la calidad de los resultados analíticos de un laboratorio.

controles: Especímenes utilizados para determinar la validez de la curva de calibración, es decir, la linealidad y estabilidad de un ensayo cuantitativo o de una determinación cuantitativa a lo largo del tiempo. Los controles se preparan a partir de material de referencia (separadamente de los calibradores, es decir, se pesan o miden por separado), que se adquiere o se obtiene de una reserva de especímenes o muestras anteriormente analizados. Siempre que sea posible, los controles deberán prepararse en las mismas matrices que los especímenes o muestras y que los calibradores.

corrección de la recuperación*: La recuperación de analitos frecuentemente es inferior al 100%. Si no se hace una adición estándar (que compensa automáticamente la recuperación incompleta) los resultados del análisis han de ser multiplicados por un factor de corrección con objeto de obtener los valores que se hubieran registrado si la recuperación fuera del 100%. Esto implica que la recuperación del método sea conocida, lo que será cierto si el método ha sido validado ya que la recuperación es una de las características funcionales que se mide.

criterios de aceptación: Condiciones que han de cumplirse para que una operación, proceso o artículo, como un componente del equipo, se considere satisfactorio o que se ha completado de forma satisfactoria. A continuación se ofrecen ejemplos concretos.

critérios de aceptación (para programas informáticos)*: Criterios que ha de cumplir un producto informático para completar con éxito la fase de prueba o satisfacer los requisitos de la entrega.

critérios de aceptación de especímenes o muestras: Procedimientos para aceptar o rechazar los especímenes recibidos en el laboratorio de análisis. Esos procedimientos se centran en la evaluación de la idoneidad de la cadena de custodia.

curva de calibración: Relación existente entre la respuesta de señales del instrumento y diversas concentraciones del analito en un disolvente o matriz apropiado.

desviación estándar (o típica): Dato estadístico que muestra la extensión o dispersión de las puntuaciones en una distribución de éstas. Se calcula determinando la raíz cuadrada de la varianza. Se aplica a toda clase de mediciones repetidas, por ejemplo, entre lotes, dentro de un mismo lote, en la repetibilidad y en la reproducibilidad.

diagrama de control: Gráfico de los resultados de ensayos con respecto a un período de tiempo o a una secuencia de mediciones en el que se trazan los límites dentro de los cuales se prevé que estarán los resultados si el plan analítico está en un estado de control estadístico [6].

director de laboratorio*: Persona calificada que asume la responsabilidad profesional, organizativa, educativa y administrativa de los análisis de drogas del laboratorio.

distribución de probabilidad teórica: El número de veces que cabe esperar obtener un número determinado de aciertos en un gran número de ensayos. Distribuciones de probabilidad teórica importantes son la normal, la t, la de χ^2 y la F.

efecto de matriz*: Alteración o interferencia directa o indirecta en la respuesta de un instrumento, como un espectrómetro LC-MS/MS, debida a la presencia de analitos no buscados (en el análisis) o de otras sustancias interferentes en las muestras.

ensayo (o prueba): Operación técnica que consiste en determinar una o más características o comportamientos de un producto, material, equipo, organismo, fenómeno físico, proceso o servicio dado, de conformidad con un procedimiento especificado.

equipo*: En general, los aparatos necesarios para una operación [7] Más en concreto, el equipo físico necesario para realizar una medición analítica, por ejemplo, un cromatógrafo en fase gaseosa.

error: Acción considerada incorrecta o equivocada.

error aleatorio: Componente del error total de una medición que varía de forma impredecible. Ello hace que los distintos resultados queden a ambos lados del valor promedio.

error sistemático: Componente del error total de una medición que varía de forma constante. Ello hace que todos los resultados sean erróneos en el mismo sentido.

error total: Suma de errores aleatorios y sistemáticos.

especificación: Exposición de requisitos, normalmente por escrito.

especificidad:

- a) Véase selectividad.
- b) Porcentaje de resultados negativos acertados que se obtiene cuando se analizan muestras que se sabe que no contienen el analito.
- c) Capacidad de un método para medir únicamente lo que se añade a las muestras. Por especificidad se entiende la capacidad de identificar inequívocamente el analito en presencia de otros previsible componentes. Normalmente se tratará de impurezas, degradantes, matriz, etc.

espécimen: Todo material sometido a examen, estudio o análisis.

estabilidad (de una muestra durante el análisis): Resistencia a la descomposición o a otros cambios químicos, o a la desintegración física.

estándar (patrón) de referencia: Estándar, generalmente de la mejor calidad disponible en un determinado lugar, del que se derivan las mediciones hechas en ese lugar.

estándar (patrón) del analito*: Sustancia claramente definida en su mayor nivel de pureza disponible que se utiliza como referencia en el análisis.

estándar (patrón) interno: Adición de una cantidad fija de una sustancia conocida que no se encuentra presente como constitutiva del espécimen, a fin de identificar o cuantificar otros componentes. Las características fisicoquímicas del estándar interno deben aproximarse lo más posible a las del analito. Compuesto de laboratorio (por ejemplo, un compuesto análogo de estructura similar y estable) que se añade a los patrones de calibración y las muestras con una concentración conocida y constante para facilitar la cuantificación del analito buscado.

estándar (patrón) nacional*: Estándar o patrón reconocido mediante una decisión nacional oficial como base para fijar el valor, en un país, de todos los demás estándares o patrones de la cantidad de que se trate.

estándar (patrón) primario*: Estándar o patrón que tiene las mejores calidades metro-lógicas en un campo determinado.

estándar (patrón) rastreadable*: Estándar o patrón de referencia que tiene también la propiedad de ser rastreadable. Normalmente tendrá un certificado de análisis que ofrecerá información detallada sobre los estándares nacionales o internacionales utilizados para determinar su composición.

estudio de la interferencia*: Estudio realizado para comprobar la selectividad (o especificidad) de un método, que se realiza añadiendo materiales que podrían encontrarse en los especímenes y que se sospecha que estén causando interferencias.

estudios en colaboración (o comparaciones de ensayos entre laboratorios): Organización, realización y evaluación de ensayos de elementos o materiales idénticos o similares por dos o más laboratorios diferentes según condiciones predeterminadas. Su finalidad principal es la convalidación de métodos analíticos o la formulación de métodos de referencia.

exactitud (sesgo, veracidad): Capacidad para obtener un resultado verdadero [1]. En los ensayos cuantitativos, la exactitud expresa el grado de acuerdo entre el valor verdadero y el

valor obtenido después de repetir el ensayo cierto número de veces. La exactitud se ve afectada por los errores sistemáticos y los errores aleatorios.

exactitud (de un instrumento de medición):

Capacidad de un instrumento de medición de dar respuestas próximas al valor verdadero.

Nota: en este contexto la exactitud es un concepto cualitativo [2].

falso negativo: Resultado de un ensayo que indica que no hay droga ni metabolito presentes cuando, en realidad, esa droga o metabolito está presente en cantidad superior al umbral o concentración crítica designada.

fiabilidad: Grado en que un experimento, ensayo o procedimiento de medición arroja resultados exactos en ensayos repetidos.

garantía de calidad: Todas las actividades planificadas y sistemáticas que se llevan a cabo en el marco de un sistema de garantía de la calidad a fin de garantizar adecuadamente que un laboratorio cumplirá los requisitos de calidad. Parte de la gestión de la calidad se centra en garantizar que se cumplirán los requisitos de calidad.

grado de confianza (o coeficiente de confianza): Medida de probabilidad relacionada con un intervalo de confianza, que expresa la probabilidad de la verdad de una afirmación en el sentido de que el intervalo incluirá el valor del parámetro.

incertidumbre: Parámetro asociado con el resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que puede atribuirse razonablemente al analito.

Estimación que acompaña a los resultados de un análisis y que define el rango de valores en el que se afirma que se sitúa el valor verdadero.

instrumento (instrumentación, aparato de medición)*: Dispositivo para hacer una medición, por sí solo o en combinación con otro equipo.

intervalo de calibración*: Frecuencia con que se comprueba el funcionamiento específico de cada instrumento o componente del equipo según el programa de mantenimiento preventivo de laboratorio.

intervalo de confianza: Serie de valores que comprende el valor verdadero con un determinado grado de probabilidad. Este grado de probabilidad se llama grado de confianza.

laboratorio: Instalaciones donde se realizan análisis a cargo de personal calificado con equipo adecuado.

límite de cuantificación/límite inferior de cuantificación: El menor contenido mensurable que permite cuantificar el analito con un grado razonable de exactitud y precisión. En algunos laboratorios, el límite inferior de cuantificación se considera equivalente a la concentración mínima de calibración del rango de trabajo, ya que la exactitud y precisión de esta concentración se verifica en todos los lotes/tandas de análisis.

El contenido igual o superior al punto de concentración mínima en la curva de calibración.

límite de detección: El menor contenido mensurable del que se puede deducir la presencia del analito, con un grado razonable de certeza estadística. La menor concentración de un analito que el método de análisis puede diferenciar con fiabilidad del ruido de fondo.

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

límite superior de cuantificación: El mayor contenido de analito de una muestra que puede definirse cuantitativamente con precisión y exactitud.

linealidad: La linealidad de un método analítico designa su capacidad de obtener resultados de laboratorio que son proporcionales directamente, o por medio de un cálculo matemático bien definido, con la concentración de analitos en las muestras de un determinado rango. (Véase también regresión lineal.)

La linealidad define la capacidad del método de obtener resultados analíticos proporcionales a la concentración del analito.

lote (o tanda de análisis): Grupo compuesto por una o más muestras que se analizan en condiciones próximas a la repetibilidad. Normalmente debe contener calibradores y muestras de control de calidad además de las muestras que han de analizarse.

lote (o tanda de análisis)*: Serie completa de muestras analíticas con un número adecuado de patrones y muestras de control de la calidad para su validación. En un día pueden completarse varias tandas (o lotes) de análisis o bien el análisis de un lote (o tanda) puede llevar varios días.

manual de prácticas de calidad: Documento en que se indican las políticas, los procedimientos y las prácticas de calidad generales de una organización [10]. Documento en que se especifica el sistema de gestión de la calidad de una organización.

material de referencia certificado (MRC): Material de referencia del cual se han certificado por un procedimiento técnico una o más propiedades, que va acompañado de un certificado o de otra documentación expedido(a) por un organismo de certificación relacionado(a) con esa documentación.

matriz: Material que contiene el analito, por ejemplo, orina o sangre.

matriz biológica*: Material discreto de origen biológico del que pueden extraerse muestras que pueden ser procesadas de forma reproducible. Como ejemplo cabe citar la sangre, el suero, el plasma, la orina, las heces, la saliva, los esputos y varios tejidos discretos.

media: Si no se especifica otra cosa, designa la media aritmética.

media aritmética o promedio: Suma de los distintos valores de una serie, dividida por el número de valores.

medición*: Conjunto de operaciones que tienen por objeto determinar el valor de una cantidad.

método (o método analítico): Procedimiento detallado (definido) para realizar un análisis.

método postulado*: Método analítico que ha sido seleccionado y desarrollado para

resolver un determinado problema analítico y que ha de ser validado para demostrar que puede cumplir el objetivo analítico previsto antes de ser utilizado.

método de referencia: Método desarrollado por organizaciones o grupos que recurren a los estudios en colaboración o a modalidades análogas para su convalidación. Su valor depende de la autoridad de las organizaciones que lo propugnan.

muestra añadida: Material de ensayo que contiene una adición conocida de analito.

muestra en blanco: Espécimen o muestra que no contiene el analito.

negativo: Indica que el analito está ausente o por debajo de una concentración crítica. Si bien a veces se utiliza “no detectado” como sinónimo de “negativo”, no se recomienda este uso.

organismo de certificación: Organización independiente de carácter científico con facultades para expedir certificaciones. El organismo de certificación puede estar acreditado, o no.

organización: Empresa, sociedad o instituto (o una parte de ellos, por ejemplo, un laboratorio), privado o público, con funciones y administración propias. Entre las organizaciones internacionales que se ocupan del análisis químico se encuentran las siguientes: Asociación Internacional de Toxicólogos Forenses (AITF), Comité Olímpico Internacional (COI), Federación Internacional de Química Clínica (FIQC), Organización de Cooperación y Desarrollo Económicos (OCDE), Organización Internacional de Normalización (ISO), Programa Internacional de Protección frente a los Productos Químicos (PIPPQ) y Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (UIQPA).

patrón externo*: Patrón preparado directamente con una sustancia de referencia, por ejemplo, como solución madre o como serie de diluciones de la solución madre. No se prepara con el mismo tipo de matriz de los especímenes o muestras que se analizarán y por consiguiente no es necesaria una extracción antes del análisis.

patrón de calibración*: Matriz biológica a la que se ha añadido una cantidad conocida del analito. Los patrones de calibración se utilizan para calcular curvas de calibración a través de las cuales se determina la concentración de analitos en las muestras de control de calidad y en las muestras con una cantidad del analito desconocida.

patrón internacional*: Patrón reconocido por un acuerdo internacional como base para fijar el valor de todos los demás patrones de la cantidad de que se trate.

positivo: Indica la presencia del analito en grado superior a una concentración crítica designada.

practicabilidad*: Capacidad de poner algo en práctica. En el laboratorio, significa la ausencia de equipo, reactivos, instrumentos o condiciones ambientales que sean innecesariamente complicados, lo que permite utilizar un método de forma habitual [9].

precisión: Grado de acuerdo (o desacuerdo) entre los resultados independientes de ensayos obtenidos en condiciones prescritas. Por lo general depende de la concentración del analito, dependencia que debe determinarse y documentarse. La precisión se expresa normalmente como imprecisión y se calcula como desviación estándar de los resultados de los ensayos. Una mayor imprecisión se traduce en una desviación estándar también mayor. Por resultado independiente se entiende el obtenido sin que medie influencia alguna de otros resultados

anteriores obtenidos con un material idéntico o análogo. La precisión comprende la repetibilidad y la reproducibilidad.

Medida de la reproducibilidad de mediciones de un conjunto, es decir, de la dispersión de un conjunto en torno a su valor central.

precisión (intermedia)*: Precisión medida en condiciones intermedias a las de repetibilidad y reproducibilidad: por ejemplo, precisión medida por diferentes analistas, a lo largo de un plazo prolongado, dentro de un solo laboratorio.

Expresa la variación dentro de un laboratorio: diferentes días, diferentes analistas, diferente equipo, etc.

probabilidad: Medición matemática de la verosimilitud de que algo ocurra, expresada en una fracción o un porcentaje. Los valores de probabilidad estadística varían entre 1 ó 100% (siempre) y 0 ó 0% (nunca). La frecuencia relativa obtenida después de una larga serie de mediciones o resultados dará aproximaciones adecuadas de la verdadera probabilidad. También se entiende de otras maneras: como expresión, en cierta forma indefinible, de un “grado de creencia”, o como la frecuencia límite de una ocurrencia en una serie aleatoria infinita.

procedimiento: Forma especificada de realizar una actividad. A efectos de la garantía de calidad, los procedimientos deben consignarse por escrito.

Forma establecida de realizar una actividad o proceso.

procedimientos normalizados de trabajo: Procedimientos consignados por escrito en los que se describe cómo realizar ciertas actividades de laboratorio.

promedio: Véase media aritmética.

prueba de la conveniencia del sistema*: Validación de un sistema analítico. Se hace una prueba para comprobar el funcionamiento del sistema y si un determinado método analítico cumple las especificaciones de funcionamiento que constan en la documentación [12].

prueba de la robustez*: Programa experimental entre laboratorios que se pone en práctica antes de un estudio entre laboratorios, con el fin de examinar el comportamiento de un proceso analítico cuando se introducen pequeños cambios en las condiciones ambientales y/o de trabajo, similares a los que pueden producirse en los distintos laboratorios.

rango (rango de trabajo, rango de calibración): Intervalo de concentraciones en el que puede lograrse una exactitud y una precisión aceptables. Estadísticamente, es la diferencia entre los valores mínimo y máximo de un conjunto de mediciones.

rango de cuantificación (cuantificación)*: El rango de concentraciones, incluidos los límites inferior y superior de cuantificación, que pueden ser cuantificadas de forma fiable y reproducible, y con exactitud y precisión, a través de la relación entre la concentración y la respuesta (véase también rango).

rastreabilidad: Capacidad de rastrear la historia, aplicación o ubicación de una entidad por medio de los registros o actas en que se haya consignado. Propiedad de un método cuyas mediciones arrojan resultados que pueden relacionarse, con un grado determinado de incertidumbre, con una determinada referencia, por lo general un estándar nacional o internacional,

mediante una cadena ininterrumpida de comparaciones.

Propiedad de los resultados de una medición o del valor de un estándar que permite relacionarlos, con un grado determinado de incertidumbre, con una determinada referencia, por lo general un estándar nacional o internacional (es decir, mediante una cadena ininterrumpida de comparaciones).

Capacidad de rastrear la historia, aplicación o ubicación de lo que se esté considerando.

recuperación: Porcentaje de droga, metabolito o estándar interno presente inicialmente en el espécimen y que llega hasta el final del procedimiento.

Término utilizado en química analítica y de preparaciones para designar la fracción de la cantidad total de una sustancia que se recupera después de un proceso químico. Se mide añadiendo una cantidad conocida de analito en una matriz en blanco y comparando el resultado con la cantidad realmente reflejada en el análisis.

regresión lineal: Método de describir la relación entre dos o más variables mediante el cálculo de la línea recta o las coordenadas de ajuste óptimo.

repetibilidad: Grado de acuerdo entre los resultados de mediciones sucesivas de un mismo analito realizadas en condiciones repetibles, por ejemplo, el mismo método, el mismo material, el mismo operador, el mismo laboratorio, y en un período de tiempo breve. Los resultados deben expresarse en términos de desviación estándar de la repetibilidad, coeficiente de variación de la repetibilidad o intervalo de confianza del valor medio.

Grado de acuerdo entre los resultados de mediciones sucesivas del mismo mensurando realizadas en las mismas condiciones de medición.

reproducibilidad (en laboratorio): Grado de acuerdo entre los resultados de mediciones sucesivas del mismo analito de un material idéntico realizadas utilizando el mismo método en condiciones diferentes, por ejemplo, operadores diferentes, laboratorios diferentes y en el curso de un período de tiempo largo. Los resultados deben expresarse en términos de desviación estándar de la reproducibilidad, coeficiente de variación de la reproducibilidad o intervalo de confianza del valor medio. Designa también la precisión del método en las mismas condiciones de trabajo en un período corto de tiempo.

Grado de acuerdo entre los resultados de mediciones del mismo mensurando realizadas en condiciones de medición distintas.

resultado (o decisión final)*: Etapa final de la secuencia prevista por un método analítico, que normalmente supone aplicar una técnica a un extracto o preparación a fin de obtener datos sobre la composición de la muestra.

robustez*: Capacidad de un método para no verse afectado por pequeñas variaciones deliberadas de sus principales parámetros.

La robustez de un procedimiento analítico mide su capacidad para no verse afectado por pequeñas variaciones deliberadas de los parámetros del método y sirve de indicio de su fiabilidad en su uso normal.

También: capacidad de un proceso de medición para soportar pequeñas variaciones incontroladas o involuntarias en sus condiciones de funcionamiento.

La robustez de un método analítico mide el grado de reproducibilidad de los resultados

analíticos obtenidos de las mismas muestras en diversas condiciones, por ejemplo, diferentes laboratorios, analistas, instrumentos, lotes de reactivos, tiempos de ensayo, temperaturas o días. La robustez normalmente refleja la no influencia en los resultados analíticos de las variables que representan los métodos y ambientes de trabajo y que influyen en el método analítico. La robustez mide la reproducibilidad de los resultados analíticos a pesar de la variación normal de las condiciones entre un laboratorio y otro, y un analista y otro.

selectividad (o especificidad): Designa el grado en que un método permite determinar la presencia de un analito o analitos concretos en una mezcla compleja sin interferencia de los demás componentes de esa mezcla. El método perfectamente selectivo para un analito o grupo de analitos se denomina específico. En laboratorio, el término específico designa el máximo de selectividad.

cuantitativa: Grado en que otras sustancias interfieren en la identificación de una sustancia por medio de un determinado procedimiento; **cuantitativa:** este adjetivo se utiliza con un sustantivo (por ejemplo, coeficiente constante, índice, factor, número) para definir cuantitativamente las interferencias.

sensibilidad: a) Diferencia en la concentración del analito que corresponde a la menor diferencia de respuesta del método susceptible de ser detectada. Está representada por la pendiente de la curva de calibración. También equivale a tres veces el promedio del ruido de fondo de muestras en blanco del máximo de fuentes distintas posible (cinco como mínimo, pero lo ideal serían 20). A veces se emplea erróneamente con el significado de límite de detección.

b) Porcentaje de resultados positivos acertados cuando se analizan muestras que se sabe que contienen el analito [11].

c) Evaluación de la respuesta de un instrumento de medición en función de la evolución del estímulo.

sistema analítico (sistema de medición)*: Conjunto completo de instrumentos de medición, y otro equipo, ensamblados para realizar una medición concreta [4]. En el contexto del análisis de drogas fiscalizadas en materiales incautados o especímenes biológicos, el sistema analítico está formado por balanzas de laboratorio, medidores de pH, cromatógrafos, equipo de cromatografía en capa delgada, etc., que utiliza el analista para desempeñar sus funciones.

técnica*: Una técnica es un principio científico, por ejemplo, la cromatografía en fase gaseosa o la espectrometría ultravioleta, que se puede utilizar para obtener datos sobre la composición de un material. No es frecuente aplicar directamente una técnica a una muestra, ya que muchas veces es necesaria una extracción u otra operación. Por tanto, una técnica se utiliza en la última etapa de un método analítico que normalmente es la de decisión final.

umbral: Cantidad, nivel o límite particular y significativo a partir del cual algo comienza a ocurrir o a producir efectos. Véase concentración crítica.

validación (validación de métodos)*: Confirmación, mediante el examen y la aportación de pruebas objetivas, de que se cumplen todos los requisitos particulares del uso específico al que se pretende destinar el método [8]. La Pharmacopoeia de los Estados Unidos define la validación de un método analítico como el proceso que permite establecer, mediante estudios de laboratorio, que las características de funcionamiento del método satisfacen los requisitos

que han de cumplir los análisis previstos. Como definición de trabajo debe retenerse la idea de que un método válido:

- ha de ser apropiado (fiable) para los fines previstos;
- ha de proporcionar datos analíticos útiles en una determinada situación;
- ha de cumplir los requisitos preestablecidos (especificaciones) para resolver el problema analítico;
- ha de ofrecer el nivel de resultados establecidos (exactitud, coherencia, fiabilidad);
- ha de hacer lo que se supone que hace.

valor: Expresión de una magnitud en términos de un número y una unidad de medición apropiada.

valor verdadero: Valor que caracteriza una magnitud perfectamente definida en las condiciones existentes cuando se examina esa magnitud. El valor verdadero de una magnitud es un concepto ideal y, en general, no puede conocerse exactamente.

Valor conforme con la definición de una magnitud determinada.

verificación: Confirmación mediante el examen y la aportación de pruebas objetivas de que se han cumplido los requisitos especificados.

verificación (o calificación) del funcionamiento*: Método oficial y rastreable nacionalmente de evaluación del funcionamiento de un instrumento en función de procedimientos y especificaciones definidos previamente. La verificación del funcionamiento debe implicar la utilización de pruebas que no sean específicas de un método concreto y para las que se utilicen calibradores y estándares rastreables nacionalmente.

Bibliografía

National Institute for Drug Abuse, *Urine Testing for Drugs of Abuse*, Research Monograph 73 (Rockville, Maryland, Department of Health and Human Services, 1986).

IUPAC, Compendium of Analytical Nomenclature, The Orange Book – 3rd Edition, J. Inczedy, T. Lengyel, y A.M. Ure, Blackwell Science, 1998 [ISBN 0-632-05127-2], disponible en línea http://old.iupac.org/publications/analytical_compendium/.

Comité Olímpico Internacional/Comité de Materiales de Referencia de la Organización Internacional de Normalización, “Quality control of analytical data produced in chemical laboratories”, publicación 271, proyecto de protocolo presentado al Quinto simposio internacional sobre la armonización de los planes internos de garantía de calidad para laboratorios analíticos, Washington, D.C., 23 de julio de 1993.

Organización Internacional de Normalización, *International Vocabulary of Basic and General Terms Used in Metrology* (Ginebra, 1984).

Comunidad Europea, *Guideline Criteria for Reference Methods*, BNL SP/Lab/div (92) 5 (1992), pág. 27.

Comité Olímpico Internacional/Comité de Materiales de Referencia de la Organización Internacional de Normalización, “Quality control of analytical data produced in chemical laboratories”, publicación 271, presentada al Quinto simposio internacional sobre la armonización de los planes internos de garantía de calidad para laboratorios analíticos, Washington, D.C., 23 de julio de 1993.

Diccionario de inglés Chambers, W & R Chambers Ltd., Edimburgo (1990).

Organización Internacional de Normalización /Sistema de Información para el Desarrollo 8402, *Quality Management and Quality Assurance Vocabulary* (Ginebra, 1991).

G.T. Wernimont, en W. Spendley (Ed.), *Use of Statistics to Develop and Evaluate Methods*, Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, págs. 78 a 82 (1985).

Quality Assurance: The Route to Efficiency and Competitiveness, 3ª ed., L. Stebbing, Ellis Horwood (1993).

R.S. Galen y S.R. Gambino, *Beyond Normality: The Predictive Value and Efficiency of Medical Diagnoses*, John Wiley & Sons, Nueva York, 1975.

L. Huber, *Validation of Computerized Analytical Systems*, Interpharm Press Inc., Buffalo Grove, IL, 1996.



UNODC

Oficina de las Naciones Unidas
contra la Droga y el Delito

Vienna International Centre, PO Box 500, 1400 Vienna, Austria
Tel.: (+43-1) 26060-0, Fax: (+43-1) 26060-5866, www.unodc.org