

# ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD EN LOS LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN EN TOXICOLOGÍA



PRONACES  
AGENTES TÓXICOS Y  
PROCESOS CONTAMINANTES



Octavio Gaspar Ramírez / Claudia Alvarado Osuna  
EDITORES



CONAHCYT  
CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES  
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS





ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD EN LOS  
LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN EN TOXICOLOGÍA



ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD  
EN LOS LABORATORIOS DE  
INVESTIGACIÓN EN TOXICOLOGÍA

Octavio Gaspar Ramírez  
Claudia Alvarado Osuna  
EDITORES

***Aseguramiento de la calidad en los laboratorios de investigación en toxicología***

Editores: Octavio Gaspar Ramírez / Claudia Alvarado Osuna

México: Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del estado de Jalisco, A. C.

1ª. edición

84 p.: 3 ilustraciones; 17 x 21.5 cm

Primera edición, 2024

D.R. © 2024, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C.

Av. Normalistas 800, Colinas de La Normal, 44270 Guadalajara, Jal.

Tel: (33) 33455200 ext. 3019

<http://www.ciatej.mx>

Está permitido descargar y compartir esta obra citando y acreditando correctamente a la misma, más no está permitido cambiarla de forma alguna ni usarla comercialmente. Atribución-NoComercial-SinDerivadas: CC BY-NC-ND .  
Código legal: <https://creavecommons.org>

ISBN versión electrónica: 978-607-8734-76-4

DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14340412>

Hecho en México

# Contenido

<b>Agradecimientos</b>	9
<b>Capítulo 1. Introducción</b>	11
<b>Capítulo 2. Gestión de la información en el Laboratorio de Investigación</b>	15
2.1. Procedimientos Técnicos	16
2.2 Registros técnicos	18
2.3. Conclusiones	20
<b>Capítulo 3. Infraestructura y Recursos del Laboratorio de Investigación</b>	21
3.1 Instalaciones	21
3.2 Equipamiento	25
3.3 Materiales y reactivos	27
<b>Capítulo 4. Validación y verificación de métodos analíticos.</b>	
<b>Descripción general de parámetros de validación</b>	31
4.1 Introducción	31
4.2 Plan de validación de métodos	33
4.3 Parámetros de validación del método	34
4.3.1 <i>Selectividad</i>	34
4.3.2 <i>Límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC)</i>	35
4.3.3 <i>Intervalo de trabajo, intervalo lineal y sensibilidad analítica</i>	36
4.3.4 <i>Veracidad (sesgo y recobro)</i>	38
4.3.5 <i>Precisión (repetibilidad y precisión intermedia)</i>	40
4.3.6 <i>Robustez</i>	41
4.4 Conclusión	44

<b>Capítulo 5. Muestreo y manejo de ítems de ensayo</b>	47
5.1 Introducción	48
5.2 Muestreo y manejo de ítems de ensayo	48
5.3 Conclusiones	54
<b>Capítulo 6. Aseguramiento de la calidad de los resultados de laboratorios de investigación</b>	57
6.1. Control de calidad interno	58
6.2 Control de calidad externo	65
6.3. Conclusiones	68
<b>Capítulo 7. Evaluación de la toxicidad en sistemas biológicos</b>	71
7.1 Introducción	72
7.2 Clasificación de evaluaciones de toxicidad en modelos biológicos	73
7.3 Normatividad y Vigilancia	77
7.4 Conclusiones	80

# Agradecimientos

Esta obra se ha materializado gracias al apoyo del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) a través del financiamiento del proyecto F003/321080: “Diagnóstico nacional para la mejora de las capacidades científico-analíticas y de la gestión de la calidad de laboratorios toxicológicos”.

Agradecemos al Centro de Investigación y Desarrollo Agroalimentario de Michoacán (CIDAM) por su interés y acompañamiento a lo largo del proyecto, así como su contribución a la presente obra.

Nuestro reconocimiento al Lic. Enrique Rentería Méndez por el impecable trabajo realizado en el seguimiento a cada etapa de la obra a través del Consejo Editorial de CIATEJ.

Los autores agradecen al Lic. Luis Gerardo González Alvarado por el apoyo en la elaboración de la figura para la portada.



# Capítulo 1. Introducción

*Octavio Gaspar Ramírez<sup>1</sup>*

El Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAH-CYT), a través del Programa Nacional Estratégico (PRONACES) Agentes Tóxicos y Procesos Contaminantes pone a disposición la presente guía para aquellos laboratorios de investigación que cuentan con ensayos y/o servicios de interés en el área de la toxicología y que tienen entre sus principales propósitos generar datos de alta calidad y confiables mediante el uso de mediciones analíticas exactas, precisas y adecuadas. Para ello, la ISO/IEC-17025:2017 (IMNC, 2018) establece los requisitos necesarios para que un laboratorio de ensayo o de calibración demuestre su competencia técnica. Para demostrar que una organización dispone de un sistema de gestión de la calidad técnicamente competente y capaz de producir resultados válidos, esta debe someterse a un proceso denominado acreditación. En México la Entidad Mexicana de Acreditación (EMA) y la Mexicana de Acreditación A.C. (MAAC) son las entidades autorizadas para la acreditación de laboratorios de ensayo.

De acuerdo con los resultados del proyecto: Diagnóstico nacional de las capacidades científico-analíticas y de la gestión de la calidad de laboratorios toxicológicos (Proyecto 321080, 2023) de los laboratorios que cuentan con ensayos toxicológicos, el 40.9 % reporta realizar solamente investigación, el 53.4 % realiza investigación y ofrece servicios y el resto (5.7 %) sólo ofrece servicios. Sin embargo, sólo el 11.4 % reporta tener al menos una acreditación bajo la ISO/IEC-17025:2017 (IMNC, 2018). Estos datos señalan

---

<sup>1</sup> Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. (CIA-TEJ). Subsede Noreste. ogramirez@ciatej.com.mx. teléfono 33 33455200

que existe un área de oportunidad importante para los laboratorios de investigación de implementar los estándares básicos de la gestión de la calidad.

Para aquellos laboratorios de la rama de investigación existe un alcance de acreditación flexible con base en las definiciones y guías indicadas en el documento ILAC-G18:01/2024 (ILAC, 2024). Cuando a un laboratorio se le concede un “alcance flexible”, se le permite incluir actividades adicionales estipuladas en el alcance de su acreditación sobre la base de sus propias validaciones sin necesidad de contar con una evaluación del organismo de acreditación previa a la realización de la actividad permitida. La posibilidad de introducir métodos nuevos, métodos modificados o métodos desarrollados en el marco de su alcance flexible no incluye la introducción de nuevos principios de medición para el ensayo no cubiertos previamente por el alcance de la acreditación (EMA, 2017).

Para garantizar la confiabilidad de los datos, el laboratorio debe contar con dos aspectos indispensables: 1) la validación del método y 2) un proceso de gestión de aseguramiento de la calidad, que abarque un sistema de control en las mediciones, uno de evaluación y uno de sistema de documentación, que proporcionen evidencia objetiva respecto a la calidad del proceso<sup>3</sup>. Para ello, debe contar con capital humano calificado e infraestructura adecuada que permita realizar las mediciones de las sustancias tóxicas en el agua, aire, suelo, alimentos y muestras biológico-humanas y no humanas con exactitud y precisión.

Entre los principales retos en la investigación toxicológica en México se encuentran subsanar la falta de información toxicológica, la carencia de capacidades analíticas y de datos generados con estándares de calidad. En este contexto, el PRONACES Agentes Tóxicos y Procesos Contaminantes tiene entre sus principales propósitos impulsar el fortalecimiento de las capacidades y la confiabilidad analítica e identificar y articular estas capacidades de los laboratorios que realizan estudios toxicológicos en el territorio nacional para, de manera conjunta con los diferentes actores sociales y gubernamentales, hacer frente a los complejos problemas socioambientales y sanitarios que enfrentamos.

El presente documento se realiza tomando como base las aportaciones y experiencia del personal del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ) y del Centro de Investigación y Desarrollo Agroalimentario de Michoacán (CIDAM). Va dirigido al personal científico y administrativo que toma decisiones en el proceso de planeación y operación. Pretende mostrar un panorama general de los principios básicos que deben regir a los laboratorios para generar datos confiables, de calidad, precisos y exactos.

## Referencias

- Entidad Mexicana de Acreditación. (2017). *Manual de procedimientos. Criterios de aplicación de la ISO/IEC 17025:2017 para laboratorios de investigación. Guía*. [http://consultaema.mx:75/pqtinformativo/GENERAL/investigacion/Carpeta\\_1\\_Procedimientos\\_y\\_Políticas/MP-FE010\\_Criterios\\_Aplicacion\\_17025\\_Investigacion.pdf](http://consultaema.mx:75/pqtinformativo/GENERAL/investigacion/Carpeta_1_Procedimientos_y_Políticas/MP-FE010_Criterios_Aplicacion_17025_Investigacion.pdf)
- Instituto Mexicano de Normalización y Certificación AC. (2018). *NMX-EC-17025-IMNC-2018-ISO/IEC17025:2017. Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración*. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/668831/NMX-EC-17025-IMNC-2018.pdf>
- International Laboratory Accreditation Cooperation. (2024). *ILAC-G18:04. Guideline for the formulation of scopes of accreditation for laboratories*. [file:///C:/Users/HOME/Downloads/ILAC\\_G18\\_01\\_2024%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/HOME/Downloads/ILAC_G18_01_2024%20(1).pdf)
- Proyecto 321080 CONAHCYT. (2023). *Diagnóstico nacional de las capacidades científico-analíticas y de la gestión de la calidad de laboratorios toxicológicos-etapa 2*. Informe de resultados. Apodaca N.L.



# Capítulo 2. Gestión de la información en el Laboratorio de Investigación

*Elsa Leticia Ramírez Cerda<sup>1</sup>*

## Resumen

La información que se genera en un laboratorio de investigación puede incluir: documentos de calidad, registros informáticos, datos almacenados de instrumentos automatizados, bitácoras, fotografías, gráficas, diagramas, informes, normas, registros de calidad, registros técnicos documentación de soporte, etc. Su principal propósito es facilitar el desarrollo de los procesos instaurados y que todos los datos correspondientes a muestras, determinaciones y resultados obtenidos queden registrados de forma permanentemente para respaldar la veracidad de un estudio o servicio, por ende, la información debe estar controlada y almacenada adecuadamente.

La implementación de un sistema de gestión de calidad bajo estándares reconocidos como la ISO 9001, aplicable a cualquier tipo de organización con disposiciones para el control de la documentación o la ISO/EIC 17025 de competencia en laboratorios que realizan ensayos, permite la administración adecuada de la información en un laboratorio de investigación.

En esta sección se describen los procedimientos y registros técnicos más comunes, llevados a cabo en laboratorios que realizan investigación y brindan servicios externos o para proyectos propios o institucionales.

**Palabras clave:** Procedimiento técnico, formato, registro.

---

<sup>1</sup> Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco. Av. Normalistas No. 800 CP 44270, Guadalajara, Jalisco México. eramirez@ciatej.com.mx. Número de teléfono 33 33455200

## 2.1. Procedimientos Técnicos

La Norma ISO 17025 plantea, dentro de los requisitos para su observancia, el desarrollo de manuales, políticas, procedimientos, instructivos y formatos que deben estar documentados, autorizados, controlados y disponibles para el personal, que permitan, por tanto, el control de procesos, cumplimiento a los requisitos mínimos y necesarios en laboratorios acreditados y la capacitación constante del personal. En la Tabla 2.1 se describen los procedimientos requeridos en la ISO 17025 para laboratorios acreditados, que deben ser documentados como lo indica su apartado 5.5: “El laboratorio debe documentar sus procedimientos en la extensión necesaria para asegurar la aplicación coherente de sus actividades y la validez de los resultados” y ser parte del sistema de gestión de calidad establecido por el laboratorio, como lo refiere su apartado 7.2: “El laboratorio debe usar métodos y procedimientos apropiados para todas las actividades del laboratorio”.

Para los laboratorios de investigación no se acreditan métodos de pruebas o ensayos normados, se maneja como acreditable un alcance flexible, el cual permite introducir métodos nuevos, modificados o desarrollados en el marco de su alcance (sin que estén obligados a informar con antelación al organismo de acreditación), siempre y cuando no se incorporen nuevos principios de medición, que no estén cubiertos en la descripción original del alcance.

El alcance es resultado de la combinación de información (parámetros de alcance) en relación con el ámbito de la actividad (por ejemplo: pruebas), el producto/objeto de prueba y los métodos utilizados. Mientras que la flexibilidad puede ser relativa al objeto/matriz/muestra (cambio de matrices dentro de un procedimiento validado), a los parámetros/componentes/analitos (cambios con respecto a los parámetros a medir) o al método (adopción de métodos que son equivalentes a los acreditados).

Se describen a continuación algunos ejemplos de alcances, para los cuales se han elaborado procedimientos técnicos específicos en laboratorios de investigación:

- Determinación de trazas de elementos específicos por espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS)
- Análisis de mezclas y compuestos simples por GC-MS
- Determinación de compuestos orgánicos en matrices diversas por espectroscopía UV-Visible

Los procedimientos técnicos (métodos de ensayo) pueden estar basados en prácticas de medición publicadas por el fabricante del equipo (cuando aplique), documentos técnicos (guías, artículos, publicaciones, etc.) o información proporcionada por el cliente para el desarrollo de un método de ensayo, siempre y cuando el procedimiento a implementar indique los detalles específicos que no estén incluidos en el documento técnico, como por ejemplo: instalaciones, equipo, preparación, cuidado y disposición del elemento o sujeto a ensayo, etc.

**Tabla 2.1 Documentación técnica para laboratorios de investigación**

<b>Etapa</b>	<b>Procedimientos</b>	<b>Registros</b>
<b>Pre-analítica</b>	Transporte, recepción, manipulación, resguardo, almacenamiento, conservación, disposición o devolución de los ítems del ensayo*.	Información de toma de muestra, preservación química, contenedores de muestreo, tiempos de conservación, condiciones de almacenamiento y recepción en el laboratorio.
	Revisión de solicitudes, ofertas y contratos*.	Listado de servicios, cotizaciones, propuestas, cadena de custodia, comunicados con el cliente estimación de la capacidad instalada, etc.
	Solicitud de productos y servicios suministrados externamente*.	Recepción de reactivos y materiales, evaluación de cumplimiento del proveedor (integridad de empaque, verificación de certificado corresponde al producto, fecha de caducidad vigente, condiciones de envío).
	Establecimiento de prácticas y políticas para la contratación, formación, promoción y permanencia del personal*.	Hoja de vida de cada empleado, descripción del puesto, programa de capacitación, pruebas de desempeño técnico, compromiso de confidencialidad.

<b>Análítica</b>	Manipulación, transporte, almacenamiento, uso y mantenimiento del equipo*.	Hojas de trabajo, bitácora de condiciones ambientales, inventarios, programas, certificados de calibración y verificación de equipos e instrumentos.
	Validación, verificación de métodos, estimación de la incertidumbre de las mediciones.	Reportes de validación. verificación y estimación de incertidumbre de los métodos. Especificaciones técnicas, calibraciones, declaraciones de validez de resultados.
	Procedimientos técnicos (métodos de ensayo), Aseguramiento y Control de calidad, elaboración de informes.	Datos de mediciones, listado de supervisión, cartas control, resultados de ejercicios interlaboratorios o ensayos de aptitud. Informes de resultados.
<b>Post-analítica</b>	Documentación de trabajo no conforme y atención a quejas.	Informes de resultados, evaluación de satisfacción de clientes, quejas, aclaraciones, etc.

**Fuente:** elaboración propia, \*Procedimientos obligatorios de la NMX-EC-17025

## 2.2 Registros técnicos

El sistema de registro del laboratorio debe garantizar la trazabilidad de los datos analíticos y del personal que participó en cada etapa del proceso (muestreo, recepción, preparación del ítem, realización del ensayo y liberación del informe).

Los registros pueden ser elaborados a mano, estar impresos o en formato electrónico. En caso de llenar a mano, es conveniente aplicar buenas prácticas de documentación como lo son: uso de tinta indeleble, no usar corrector, ser legible, estar completos y no alterarse (en caso necesario anotar fecha y firma o iniciales del personal que hizo el cambio). Se puede hacer uso de bitácoras, cuadernos o formatos que aseguren la integridad de la información (foliados, con fecha consecutiva, etc.).

El laboratorio de investigación debe instaurar formatos adecuados, que cuenten con una identificación a través de un nombre, clave o código, con la finalidad de asegurar que cada uno de los registros generados incorporen espacios definidos que permitan colocar la información mínima necesaria que incluye

por ejemplo: fecha de elaboración del registro (que por lo general se localiza en la parte superior derecha del documento), observaciones, datos, cálculos (que se registran en el momento y forman parte del cuerpo del documento), identificación del personal responsable de su elaboración, así como de quién lo aprueba (frecuentemente se encuentran ubicados en el cierre o término del formato), entre otros. Además, en caso necesario, es preciso incluir fechas de recolección de datos, instrucciones, información relevante del consentimiento informado, detalles del diseño, tipo de estudio, etc.

Así mismo, en registros técnicos procedentes del aseguramiento de calidad, es indispensable incluir datos de mediciones de muestras control, blancos, duplicados, cartas control, ejercicios de interlaboratorios o ensayos de aptitud productos de estudio, etc.

Los procedimientos y registros deben llevar una identificación, la cual puede ser a través del nombre del documento y una clave o código. Es preciso incluir las fechas de recolección de datos, cualquier instrucción que se le hubiese dado a los participantes y cómo ha sido conseguido el consentimiento informado (si fuese relevante) y, finalmente, detallar el diseño y tipo del estudio, etc.

La adecuada disponibilidad, preservación y protección de la información es imprescindible, por ello es necesario establecer: medidas técnicas (quien archiva, en que sitio), administrativas (quien recibe, como se organiza, que garantiza la confidencialidad y su seguridad), ambientales (humedad, temperatura) y tecnológicas (digitalización, generación de respaldos). De igual manera, es indispensable definir un criterio de conservación, tomando en cuenta el tipo de documentación (contable, fiscal, laboral, técnico) y la normatividad aplicable que procede para la eliminación de la información y/o documentación (destrucción física o eliminación). En este sentido, la entidad mexicana de acreditación ha definido dentro de sus criterios de conservación de registros técnicos (MP-FE005-13) un periodo mínimo de 4 años.

La generación de un procedimiento para el control de registros y de una lista maestra que describa el nombre, código, número de revisión, recuperación (papel, electrónico), tiempo de retención de la información y

documentación se consideran una herramienta útil para para la optimización del proceso.

### **2.3. Conclusiones**

La adecuada documentación de los procedimientos técnicos y analíticos en el laboratorio aseguran que la aplicación del proceso sea consistente. Es un gran desafío documentar cada método desarrollado por el laboratorio de investigación; sin embargo, la generación, aplicación, resguardo y disponibilidad de toda la información necesaria, relevante y actualizada que cumpla con la normativa es crucial para el trabajo realizado cotidianamente en el laboratorio.

### **Referencias**

- Instituto Mexicano de Normalización y Certificación AC. (2018). *NMX-EC-17025-IMNC-2018-ISO/IEC17025:2017. Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración*. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/668831/NMX-EC-17025-IMNC-2018.pdf>
- Instituto Mexicano de Normalización y Certificación AC. (2015). *NMX-CC-9001-IMNC-2015 Sistemas de gestión de calidad. Requisitos ISO 9001*. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/668835/NMX-CC-9001-IMNC-2015.pdf>

# Capítulo 3. Infraestructura y Recursos del Laboratorio de Investigación

*Norma Susana Pano Farías<sup>1</sup>, Elsa Leticia Ramírez Cerda<sup>2</sup>*

## Resumen

Las instalaciones físicas de los laboratorios son un factor muy importante en el proceso analítico que afecta directamente a las mediciones y como consecuencia a los resultados. El laboratorio para su operación óptima debe tener un ambiente apropiado para la funcionalidad del equipamiento y el desempeño del personal.

En este capítulo se abordan características generales de las instalaciones y los factores a controlar. Se incluye una sección sobre el tipo de servicios a realizar en los equipos e instrumentos para mantener su estado y garantizar su óptima operación y se concluye con los requerimientos para los reactivos y materiales involucrados en mediciones analíticas.

**Palabras clave:** infraestructura analítica, instalaciones, equipamiento.

## 3.1 Instalaciones

El diseño y distribución del laboratorio está en función del tipo de trabajo a realizar y del equipamiento a instalar (Tabla 3.1). Un área debe estar cerca de otra cuando se realicen trabajos relacionados o progresivos, evitando

<sup>1</sup> Centro de Innovación y Desarrollo Agroalimentario de Michoacán (CIDAM). Kilómetro 8 antigua carretera a Pátzcuaro S/N. C.P. 58341. Morelia, Michoacán de Ocampo. México. nsusana21@hotmail.com. 3121113591.

<sup>2</sup> Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco. Av. Normalistas No. 800 CP 44270, Guadalajara, Jalisco México. eramirez@ciatej.com.mx. Número de teléfono 33 33455200

actividades incompatibles con la finalidad de prevenir la contaminación o interferencias. Por lo regular son espacios abiertos con mesetas centrales o laterales y ventanales internos que permiten visualizar el trabajo. Las ventanas externas se limitan para evitar la luz solar directa sobre instrumentos y tener un mejor control de la temperatura.

El acceso a las áreas técnicas debe estar restringido al personal autorizado para mantener la integridad de las muestras y del proceso analítico. Para ello puede implementarse el uso de seguros electrónicos controlados desde el exterior mediante código, tarjetas de barras, huella dactilar o alguna otra característica biométrica como el reconocimiento facial o mediante el registro de ingreso en bitácora bajo la supervisión de personal. Para asegurar su cumplimiento, asignar la responsabilidad para el alta y baja.

Cuando se haga uso de áreas compartidas es conveniente establecer lineamientos, controles y capacitar en temas como: documentación, manejo de equipos, uso de registros, seguridad, etc. previo al uso de las instalaciones. Estudiantes y visitantes podrán ingresar a secciones particulares del laboratorio cuando cumplan los criterios predefinidos.

Según el apartado 6.3.3 del estándar NMX-EC-17025: “el laboratorio debe realizar el seguimiento, controlar y registrar las condiciones ambientales de acuerdo a las especificaciones, los métodos de prueba o procedimientos pertinentes, o cuando influyen en la validez de los resultados”, otros requisitos de este apartado se muestran en la Figura 3.1.

Las fluctuaciones de la temperatura generalmente afectan algunos instrumentos analíticos y existen casos donde las muestras sufren alteración durante el proceso de preparación. Un control de temperatura de  $\pm 3$  °C es normal en los laboratorios; sin embargo, en los que se realizan mediciones químicas de alta exactitud, como la cuantificación a fracciones de masa a niveles de trazas, el control de temperatura es de  $\pm 1$  °C (CENAM, 2007). Una temperatura estable se obtiene mediante sistemas de aire acondicionado.

En cuanto a la humedad relativa en los laboratorios, los valores extremos no son convenientes para los equipos. La alta humedad afecta la óptica de algunos instrumentos acelerando la corrosión, mientras la baja

humedad conduce a cargas estáticas que impactan en equipos electrónicos. Usualmente se recomiendan en la mayoría de los manuales de operación de los instrumentos mantener la humedad relativa en el laboratorio de 40 a 60 %. (CENAM, 2007). Es conveniente consultar el manual del equipo instalado en el laboratorio para verificar las condiciones de temperatura y humedad relativa recomendada para el óptimo funcionamiento del mismo.

Para la mayoría de los instrumentos y equipos, la instalación eléctrica debe contemplar tomas de corriente alterna de 115 volts con circuito de 15 amperes y tomas múltiples de 20 a 30 amperes y 230 a 240 volts para instrumentos de mayor consumo. Los equipos de ventilación y los equipos de plasma acoplado inductivamente (ICP) requieren voltajes altos, estos últimos generan grandes cantidades de radio frecuencia u otros ruidos eléctricos que son transmitidos a través de la línea de electricidad, por lo tanto, requieren un seguimiento particular que debe ser contemplado en la calificación de instalación para una operación adecuada.

En general, en las instalaciones de los laboratorios debe considerarse la normativa vigente del país en el cual se encuentre ubicado. En México debe dar cumplimiento a especificaciones de iluminación (NOM-025-STPS), ruido (NOM-011-STPS), manejo y almacenamiento de reactivos (NOM-018-STPS; NMX-R-019-SCFI) y condiciones de seguridad (NOM-017-STPS; NOM-026-STPS; NOM-030-STPS). Es conveniente disponer de dos salidas de emergencia por módulo e instalar sensores y alarmas apropiados para los riesgos que pudieran generarse: incendio, calor, humo, radiación, biológicos, tóxico, químicos, etc.

El laboratorio puede requerir otros servicios como: agua caliente y aire comprimido. Algunos equipos como cromatógrafos de gases, espectrofotómetros o ICP requieren para su operación gases de alta pureza como nitrógeno, helio, argón. Los cilindros o tanques pueden ser confinados en un área central e instalar tuberías dirigidas hacia donde se necesiten. Todos estos servicios requieren mantenimiento planificado para su adecuada operación.

**Tabla 3.1 Áreas o secciones comunes en laboratorios de investigación**

Área	Actividades	Infraestructura mínima
Recepción de muestras y entrega de resultados	Atención de clientes, elaboración de cotizaciones, alta y rotulación de muestras, elaboración y envío de informes de resultados.	Computadora, impresora, scanner, teléfono, escritorio, balanza, termómetro.
Cuarto de pesado o Balanzas	Pesado de muestras y reactivos.	Pesado de muestras y reactivos.
Preparación de muestras.	Acondicionamiento, submuestreo, preparación (digestión y/o extracción de analitos), dilución, filtración, etc.	Gabinets de seguridad biológica, bancos de trabajo limpio, campanas de extracción de gases, hornos, digestores, parrillas.
Laboratorio(s) de análisis	Análisis, identificación y cuantificación de analitos haciendo uso de técnicas físicas, instrumentales, microbiológicas, moleculares, etc.	Equipamiento en función de las técnicas a implementar, líneas de corriente reguladas o supresores de ruido en la fuente, control de temperatura ambiental, capacidad de carga del piso más grande para mayor rigidez y menos vibración.
Oficina(s) del personal	Realizar cálculos, registrar y revisar resultados.	Escritorio(s), archiveros, computadora, teléfono.
Gases especiales	Colocar gases de alta pureza y estándares de calibración para alimentar equipo analítico que lo requiera: cromatógrafos de gases, espectrómetros de masas, de flama (absorción atómica), por plasma, analizadores de gases, analizadores orgánicos, analizadores de carbono y azufre, etc.	Reguladores de presión, tubería para suministro de gases, sujetadores de cilindros, sistema de detección de fugas
Almacenamiento de reactivos	Guardar reactivos y materiales nuevos y en uso.	Refrigerador, congelador, anaqueles para reactivos, gabinetes de seguridad para líquidos inflamables, pesticidas, sensor de temperatura y humedad.

**Fuente: elaboración propia.**



Figura 3.1 Requisitos para las instalaciones conforme a la ISO 17025:2017

### 3.2 Equipamiento

Los equipos son recursos esenciales para que los laboratorios de investigación puedan realizar sus ensayos analíticos. Por lo tanto, para el control del equipamiento se debe considerar generar un inventario de equipo. También se debe disponer de un expediente individual con la siguiente información: identificación asignada por el laboratorio, versión del software, fabricante, modelo, número de serie, descripción técnica del equipo, ubicación, registros de ajustes realizados después de una calibración y/o verificación, registro de fallas presentadas, evidencias de mantenimientos preventivo y correctivo, fecha de instalación, calificación y puesta en marcha.

Para garantizar un funcionamiento adecuado, cada equipo involucrado en los ensayos analíticos debe tener un procedimiento o instructivo de operación que detalle las indicaciones de uso, mantenimiento preventivo, verificación, calibración, condiciones ambientales de uso y almacenamiento y cualquier aspecto específico declarado por el fabricante (NMX-EC-17025-IMNC-2018).

El mantenimiento de los equipos se enfoca en prevenir una falla que produzca una desviación en los resultados o una interrupción de la realización de los ensayos analíticos, por lo que es importante establecer la frecuencia del mantenimiento preventivo. La programación depende de su uso, que puede establecerse en función de las horas de operación o la cantidad de muestras analizadas. También se requiere considerar las especificaciones del fabricante para establecer los periodos de mantenimiento, así como las acciones que pueden efectuarse por el analista y aquellas que realizará un técnico experto, como por ejemplo verificación y calibración, respectivamente.

La calibración permite: “establecer una relación entre los valores y sus incertidumbres de medida asociadas obtenidas a partir de los patrones de medida” (CEM, 2012). Lo anterior significa que al calibrar un equipo se conocerá la diferencia de los valores medidos con este equipo con respecto a un patrón de referencia. Así pues, se podrá determinar si la diferencia obtenida es insignificante o si se requiere aplicar un factor de ajuste o corrección a los datos obtenidos con el equipo para que los resultados sean confiables. Se deben calibrar los equipos cuya medición influya directamente en los resultados obtenidos, por ejemplo, una balanza usada para pesar los ítems de ensayo. La calibración de equipos es periódica y se lleva a cabo por un laboratorio de calibración acreditado para esta actividad.

El laboratorio debe establecer un programa de calibración de los instrumentos (pipetas de pistón, balanzas, termómetros, etc.). La finalidad de este programa es comprobar que las mediciones realizadas en estos instrumentos sean confiables y conocer el sesgo de la medición “real” del instrumento con respecto al valor nominal. Por lo tanto, para los equipos calibrados se deben revisar los certificados o informes emitidos y decidir sobre los resultados reportados en función de los criterios de aceptación definidos por el laboratorio.

La verificación es una comprobación intermedia del correcto funcionamiento del equipo. Este procedimiento tiene como objetivo identificar si existe alguna desviación de las mediciones realizadas con el instrumento, y en caso de ser así tomar acciones pertinentes, por ejemplo, recalibración y/o mantenimiento del equipo.

La calificación de equipo de instrumentos analíticos (CEIMA) tiene como objetivo comprobar que las especificaciones técnicas del equipo y su desempeño son apropiadas para el uso previsto de este (CENAM, 2004). Se consideran los siguientes tipos de calificación de equipos: diseño, instalación, operación y desempeño. La calificación de diseño e instalación se realizan al adquirir un nuevo equipo en el laboratorio o cuando se realiza la adición de un nuevo módulo al equipo o cambio del lugar donde está instalado el instrumento. Las calificaciones de operación y desempeño se realizan de manera periódica durante la vida útil del equipo. Para más detalle de este tema se puede consultar la Guía sobre la calificación de equipo de instrumentos analíticos, DI-2-PTC-620-RAT-001-2004 o las guías del General European Network (<https://www.edqm.eu/en/quality-management-qm-documents>).

Los periodos de calibración y verificaciones se deben de establecer en función de las especificaciones del fabricante y frecuencia de uso. Para establecer los periodos de calibración y verificación se pueden consultar las guías de calibración de International Laboratory Accreditation Cooperation (ilac, <https://ilac.org/>), International Organization of Legal Metrology (OIML, <https://www.oiml.org/en>), y CENAM (<https://www.cenam.mx/publicaciones/>).

La identificación y fecha del último servicio de mantenimiento o calibración (cuando aplique) de cada equipo debe estar visible; para lo cual se puede colocar una etiqueta con esta información. Así también, cuando se detecta alguna falla de funcionamiento, el equipo debe ser señalado para evitar su uso y generar alguna desviación en los resultados. En este caso, se puede colocar una etiqueta visible con alguna leyenda de advertencia, por ejemplo “Equipo Fuera de Uso” (NMX-EC-17025-IMNC-2018).

### **3.3 Materiales y reactivos**

Todo método analítico requiere un grupo de materiales y reactivos de laboratorio para ser ejecutado, por ejemplo, estándares de referencia, disolventes, cristalería, etc. Esto insumos deben cumplir con las especificaciones propias de cada método para obtener resultados reproducibles.

Para los laboratorios de análisis de agentes tóxicos orgánicos o inorgánicos en diferentes matrices ambientales (agua, suelo, aire, tejido biológico) es importante la cuantificación de estos compuestos. Por lo tanto, los materiales de referencia o estándares utilizados deben ser de concentración conocida y certificada con trazabilidad a patrones internacionales, asegurando así la confiabilidad de los resultados obtenidos. Los materiales de referencia pueden ser adquiridos de proveedores acreditados para la producción de estos estándares, que cumplen con la norma ISO 17034:2016 (NMX-EC-17025-IMNC-2018). Los laboratorios pueden elaborar sus soluciones de trabajo a partir de los compuestos puros, usando instrumentos y material volumétrico calibrados, documentando y registrando este proceso.

Otros reactivos críticos utilizados deben cumplir con las especificaciones que indique el método analítico para evitar desviaciones del resultado, por ejemplo: alta pureza de disolventes, sales anhidras, ácidos libres de metales, etc.

El laboratorio debe asegurar que los reactivos críticos para el método se almacenen a las condiciones especificadas por el fabricante; asegurando así que no haya degradación o contaminación.

Los materiales de referencia usados directamente en la cuantificación del analito deben ser verificados al inicio y periódicamente durante su uso. De esta manera se genera evidencia de que no hay degradación o contaminación que influyan en el resultado final.

## Referencias

- Arvizu, R. (2004). *DI-2-PTC-620-RAT-001-2004. Guía sobre la calificación de equipo de instrumentos analíticos*. Centro Nacional de Metrología. [https://www.cenam.mx/publicaciones/descarga/default.aspx?arch=/GUIA\\_CALIFICACION\\_EQUIPOS-2004.pdf](https://www.cenam.mx/publicaciones/descarga/default.aspx?arch=/GUIA_CALIFICACION_EQUIPOS-2004.pdf)
- Arvizu, R., Moreno G., & González N. (2007). *CNM-MRD-PT-008-CENAM-2007. Manual de Buenas Prácticas de Laboratorio (3ª edición)*. Centro Nacional de Metrología. <https://www.cenam.mx/publicaciones/descarga/default.aspx?arch=/mbpraclab.pdf>

- Centro Español de Metrología. (2012). *JCGM 200:2012. Vocabulario Internacional de Metrología Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados (VIM) (3ª edición)*. España. NIPO: 074-13-004-1 (Edición digital). [https://www.cem.es/sites/default/files/vim-cem-2012web\\_0.pdf](https://www.cem.es/sites/default/files/vim-cem-2012web_0.pdf)
- Instituto Mexicano de Normalización y Certificación AC. (2018). *NMX-EC-17025-IMNC-2018-ISO/IEC17025:2017. Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración*. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/668831/NMX-EC-17025-IMNC-2018.pdf>
- Secretaría de Economía. (03 de junio 2011). *DECLARATORIA DE VIGENCIA DE LA NORMA MEXICANA NMX-R-019-SCFI-2011, SISTEMA ARMONIZADO DE CLASIFICACION Y COMUNICACION DE PELIGROS DE LOS PRODUCTOS QUIMICOS*. Diario Oficial de la Federación. [www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5193142&fecha=03/06/2011#gsc.tab=0](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5193142&fecha=03/06/2011#gsc.tab=0).
- Secretaría del Trabajo y Previsión Social. (17 de abril 2002). *NORMA Oficial Mexicana NOM-011-STPS-2001, Condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo donde se genere ruido*. Diario Oficial de la Federación. [www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=734536&fecha=17/04/2002#gsc.tab=0](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=734536&fecha=17/04/2002#gsc.tab=0).
- Secretaría del Trabajo y Previsión Social. (9 de diciembre 2008). *NORMA Oficial Mexicana NOM-017-STPS-2008, Equipo de protección personal-Selección, uso y manejo en los centros de trabajo*. Diario Oficial de la Federación. [www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5072773&fecha=09/12/2008#gsc.tab=0](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5072773&fecha=09/12/2008#gsc.tab=0).
- Secretaría del Trabajo y Previsión Social. (09 de octubre 2010). *NORMA Oficial Mexicana NOM-018-STPS-2015, Sistema armonizado para la identificación y comunicación de peligros y riesgos por sustancias químicas peligrosas en los centros de trabajo*. Diario Oficial de la Federación. [www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5411121&fecha=09/10/2015#gsc.tab=0](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5411121&fecha=09/10/2015#gsc.tab=0).
- Secretaría del Trabajo y Previsión Social. (30 de diciembre 2008). *NORMA Oficial Mexicana NOM-025-STPS-2008, Condiciones de iluminación en*

*los centros de trabajo*. Diario Oficial de la Federación. [www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5076393&fecha=30/12/2008#gsc.tab=0](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5076393&fecha=30/12/2008#gsc.tab=0). Secretaría del Trabajo y Previsión Social. (03 de diciembre 2021). *Norma Oficial Mexicana NOM-026-STPS-2008, Colores y señales de seguridad e higiene, e identificación de riesgos por fluidos conducidos en tuberías*. Diario Oficial de la Federación. [www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5637289&fecha=03/12/2021#gsc.tab=0](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5637289&fecha=03/12/2021#gsc.tab=0). Secretaría del Trabajo y Previsión Social. (18 de septiembre 2009). *PROY-NOM-030-STPS-2009, Servicios preventivos de seguridad y salud en el trabajo-Funciones y actividades*. Diario Oficial de la Federación. NOM-030-STPS-2009. [www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5110426&fecha=18/09/2009#gsc.tab=0](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5110426&fecha=18/09/2009#gsc.tab=0).

# Capítulo 4. Validación y verificación de métodos analíticos. Descripción general de parámetros de validación

*Dra. Norma Susana Pano Farías<sup>1</sup>, M.C. María Elena Heras Ramírez<sup>2</sup>*

## Resumen

Para asegurar la confiabilidad de los resultados analíticos, los métodos de análisis deben ser validados. La validación comprende demostrar que el desempeño del método es adecuado para su uso previsto. En este capítulo se definen los diferentes parámetros a determinar en una validación; así también, se describe cómo realizar la evaluación de estos parámetros.

**Palabras clave:** toxicología, validación, desempeño del método.

## 4.1 Introducción

Las actividades en el laboratorio relacionadas con la verificación y validación de métodos analíticos, han cobrado gran importancia debido al continuo desarrollo y/o actualización de técnicas y equipos analíticos más complejos (con mejor tecnología) y por el interés de los investigadores en garantizar la calidad de sus procedimientos y fiabilidad de los resultados. Es por ello que en esta guía se describen las definiciones de validación, verificación y

---

<sup>1</sup> Centro de Innovación y Desarrollo Agroalimentario de Michoacán (CIDAM). Kilómetro 8 antigua carretera a Pátzcuaro S/N. C.P. 58341. Morelia, Michoacán de Ocampo. México. nsusana21@hotmail.com. 3121113591.

<sup>2</sup> Investigador asociado al Pronaces Agentes Tóxicos. San Jerónimo 705. Jardines de San Patricio. Apodaca, Nuevo León. México. heras.ramirez.elena@gmail.com. 6622053061.

los parámetros recomendados para cada tipo de método, así como algunos ejemplos de cómo llevarlas a cabo en la práctica.

La validación de un método analítico es la confirmación, a través de evidencia objetiva, de que este método es adecuado para su uso previsto. Por otro parte, la verificación es la confirmación de que un laboratorio puede efectuar de manera correcta un método normalizado, previamente validado (Magnusson & Örnemark, 2014).

Un método normalizado es un procedimiento publicado en alguna norma nacional (norma NOM, NMX), internacional o por un organismo de normalización, por ejemplo, ISO, AOAC, ASTM. Es importante mencionar que la verificación de un método requiere que no se efectúe ninguna modificación en el procedimiento de referencia (Magnusson & Örnemark, 2014).

La validación se efectúa para métodos no normalizados, es decir, para métodos desarrollados por el laboratorio, métodos normalizados modificados (cambio del protocolo, ampliación del alcance de analitos y/o matriz) o procedimientos basados en publicaciones científicas (Magnusson & Örnemark, 2014). En la Tabla 4.1 se presentan los parámetros necesarios que se emplean en la validación o verificación de los métodos según sea el caso.

**Tabla 4.1** Parámetros de validación y verificación por tipo de método

Parámetro	Tipo de método			
	Cuantitativo		Cualitativo	
	Validación	Verificación	Validación	Verificación
Selectividad	✓	✓	✓	✓
Límite de detección	✓	✓	X	X
Límite de cuantificación	✓	✓	X	X
Intervalo de trabajo y lineal	✓	✓	X	X
Sensibilidad analítica	✓	✓	✓	✓
Veracidad (sesgo y recobro)	✓	✓	✓	✓
Precisión (repetibilidad y precisión intermedia)	✓	✓	✓	✓
Incertidumbre de medida <sup>a</sup>	✓	✓	✓	✓
Robustez	✓	X	✓	X

<sup>a</sup> La incertidumbre de medida no es una característica del desempeño de un procedimiento de medida particular, pero sí de los resultados obtenidos al usar dicho procedimiento.

**Fuente:** Magnusson & Örnemark, 2014; NATA, 2012

Todo método analítico debe ser validado o verificado antes de ser empleado para el análisis de muestras reales (ítems de ensayo). Como parte de esta validación/verificación se debe documentar cómo se realiza el proceso, generar los registros pertinentes y un informe final con los resultados de la validación o verificación del método (NMX-EC-17025-IMNC-2018).

## 4.2 Plan de validación de métodos

La validación requiere de una planeación para cumplir satisfactoriamente con el objetivo establecido. Una recomendación es efectuar ensayos preliminares a la validación para familiarizarse con el método analítico y realizar su optimización. Es importante mencionar que tanto los ensayos preliminares y el plan de validación deben documentarse.

El plan de validación debe especificar los equipos, materiales y consumibles necesarios para el proceso. Los equipos usados en la validación de un método deben estar calificados, calibrados y/o verificados según aplique.

Las características técnicas de los materiales de referencia, reactivos (sales, disolventes o cualquier otro reactivo utilizado), consumibles y equipos e instrumentos deben describirse en el plan. Es importante en esta etapa calcular la cantidad necesaria de cada material durante todo el proceso de validación para evitar su interrupción. En el caso de requerir la compra de materiales, se debe considerar el tiempo de llegada de estos en el proceso de validación.

La estimación del periodo de tiempo de duración de la validación se debe describir en el plan, incluyendo la redacción del informe final. El procedimiento de evaluación de cada parámetro de validación o desempeño del método también se debe especificar en el plan.

En la literatura se pueden encontrar guías de validación específicas para algunos analitos y matrices; por ejemplo, para el análisis de plaguicidas en alimentos se utiliza la guía Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed-SANTE/11312/2021. A continuación, se describen los procedimientos generales para evaluar los parámetros de desempeño del método.

### **4.3 Parámetros de validación del método**

#### *4.3.1 Selectividad*

La selectividad es la capacidad que tiene un método para determinar a analitos particulares en una mezcla o matriz sin interferencia de otros compuestos de características similares. Para la evaluación de selectividad se recomienda (Magnusson & Örnemark, 2014):

- Analizar un ítem de ensayo (como pueden ser muestras de suelo, agua o alimento) que contenga el analito o analitos de interés, también analizar los materiales de referencia (estándares puros y matrices con concentración conocida del analito) usando el método a validar y otro método independiente (por ejemplo, que tenga diferente método de extracción o se utilice un equipo diferente para analizar). El método es selectivo si la cantidad medida por ambos métodos es igual.

- Otra opción es analizar con el mismo método a validar un ítem de ensayo que contenga al analito de interés e interferencias parecidas a este. El método será selectivo si las interferencias no influyen en la identificación y cuantificación del analito de interés.

Si se demuestra que el método no es selectivo se requiere regresar a la etapa de optimización del método.

#### 4.3.2 Límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC)

El Límite de detección (LD) es la concentración más baja detectada del analito por el método a un determinado nivel de confianza. El límite de cuantificación (LC) es la concentración más baja del analito que puede ser cuantificada por el método a un determinado nivel de confianza. A continuación, se presentan algunas opciones para el cálculo del LD y LC (Magnusson & Örnemark, 2014).

**Opción 1:** Se realizan 10 mediciones de matrices blanco (muestra o ítem de ensayo que no contiene al analito) procesadas por el método que se requiere validar. Los cálculos a realizar son:

- Desviación estándar  $s_{\theta}$  de las mediciones, expresada en unidades de concentración.
- Desviación estándar  $s_{\theta}'$  de las mediciones.  $s_{\theta}' = \frac{s_{\theta}}{\sqrt{n}}$ ;  $n$  es el número de réplicas realizadas al analizar muestras reales por el método a validar.
- $LD = 3 \times s_{\theta}'$
- $LC = k_Q \times s_{\theta}'$

El valor asignado a  $k_Q$  es:

- 10 cuando  $s_{\theta}'$  es  $\leq 10\%$ .
- 6 cuando  $s_{\theta}'$  es  $> 10\%$  pero  $\leq 17\%$ .
- 5 cuando  $s_{\theta}'$  es  $> 17\%$  pero  $\leq 20\%$ .

**Opción 2:** Analizar una serie de niveles de concentración baja del analito en la matriz. Para cada nivel de concentración se recomienda realizar entre 5 y 7 réplicas. Se puede usar una matriz blanco adicionada con concentraciones bajas conocidas del analito y someterla al procedimiento de análisis. Se evalúa la relación señal/ruido (S/R) de los niveles de concentración con respecto al blanco de matriz. Los límites se estiman considerando la concentración más baja que cumpla con los siguientes requerimientos:

- Para LD,  $S/R \geq 3$ , desviación estándar relativa  $< 20\%$ .
- Para LC,  $S/R \geq 10$ , desviación estándar relativa  $< 20\%$ , recobro entre 70 y 120%.

Los criterios de aceptación anteriores se establecen considerando que, en el análisis de componentes tóxicos, orgánicos e inorgánicos, en matrices ambientales, las concentraciones analizadas están en el rango de partes por billón (ng/mL, ng/g) (European Commission, 2007).

#### *4.3.3 Intervalo de trabajo, intervalo lineal y sensibilidad analítica*

El intervalo de trabajo es el intervalo de concentraciones en el cual se obtienen resultados con incertidumbre aceptable por el método que se está validando. El intervalo lineal corresponde al intervalo de concentraciones donde se obtiene una respuesta instrumental proporcional a las concentraciones del analito.

El extremo inferior incluye el LC y el extremo superior está definido por concentraciones a las cuales se observan anomalías significativas en la sensibilidad analítica (Magnusson & Örnemark, 2014). Para la evaluación de estos parámetros se recomiendan las siguientes indicaciones (Magnusson & Örnemark, 2014):

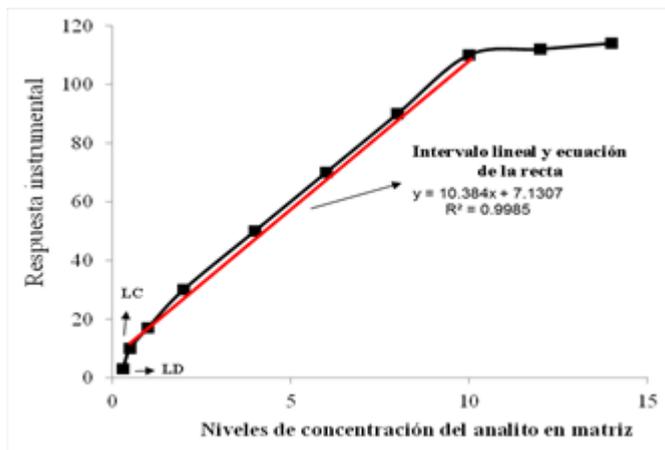
- Analizar entre 6 y 10 niveles de concentraciones del analito en matriz adicionada. Las concentraciones de las muestras deben cubrir todo el rango de interés. Se deben realizar entre 2 y 3 réplicas de cada nivel de

concentración y aplicar todo el método de análisis. Se debe incluir el LD y LC del método. La concentración más alta puede ser 10 o 20% mayor a la concentración máxima esperada en la mayoría de las muestras reales.

- Se registran las respuestas instrumentales obtenidas y se grafica concentración (eje x) contra respuesta (eje y).
- Calcular el modelo matemático de ajuste lineal. El intervalo lineal es aquel donde el coeficiente de correlación  $r$  es  $> 0.99$  y el porcentaje absoluto de desviación entre concentración y respuesta calculadas y reales (residuales) es menor al 20% (para analitos en rango de concentración de partes por billón).
- Graficar los valores de concentración real contra concentración calculada, calcular los parámetros de la ecuación de la recta. El intervalo de trabajo es aquel donde el coeficiente de correlación  $r$  es  $> 0.99$ , pendiente cercana a 1 y el porcentaje absoluto de residuales es menor al 20% (para analitos en rango de concentración de partes por billón).

En la Figura 4.1 se presenta gráficamente el concepto de intervalo lineal y de trabajo. Se pueden observar las variables e inspección del gráfico que se describe en las viñetas anteriores.

a)



b)

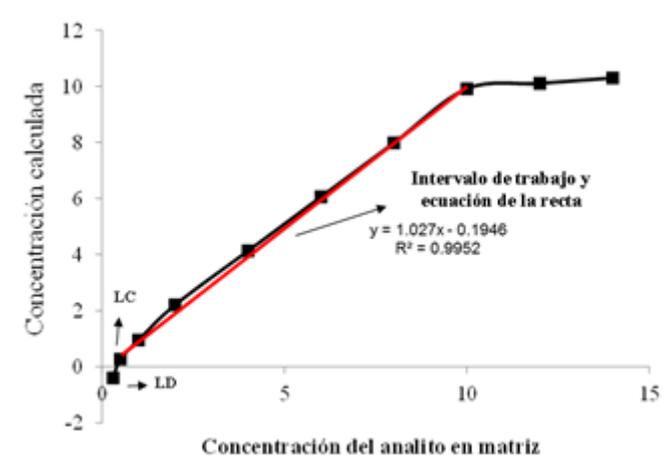


Figura 4.1. Intervalo lineal (a) y de trabajo (b)

Se calcula un % residual para cada nivel de concentración en relación con su respectiva respuesta (instrumental). La fórmula usada es:

$$\% \text{ residual} = \left| \frac{(\text{Resp Int} - ((C \text{ matriz adicionada} * m) + b))}{\text{Resp Int}} \right| * 100 \quad (4.1)$$

La sensibilidad analítica mide la variación de la respuesta instrumental con relación a la magnitud de la concentración de un analito, es decir, el gradiente de la curva de respuesta. Este parámetro corresponde a la pendiente de la ecuación de la recta del intervalo lineal (Magnusson & Örnemark, 2014).

#### 4.3.4 Veracidad (sesgo y recobro)

La veracidad se define como la proximidad de un resultado a un valor de referencia (CEM, 2012). Este parámetro se evalúa como sesgo y recobro. El sesgo es el: “valor estimado de un error sistemático” (Centro Español de Metrología, 2012). Por otra parte, el recobro o recuperación es la medida de la porción de analito de un material de referencia certificado (MRC) cuantificada por el método a validar.

Para la evaluación del sesgo y recobro se requiere de un MRC de la matriz; es decir, un MRC de una muestra igual o muy parecida a la muestra del alcance del método con una concentración conocida del analito (suelo, agua, alimento). Los MRC de diferentes matrices se pueden adquirir comercialmente con proveedores como Centro nacional de metrología (CENAM) en México y el National Institute of Standards and Technology (NIST) en Estados Unidos, entre otros. En caso de que no haya un MRC de la matriz de interés, el laboratorio puede realizar las evaluaciones usando matriz blanco (muestra o ítem de ensayo que no contiene al analito) adicionada con el analito de interés, preparada en el laboratorio (Magnusson & Örnemark, 2014). El procedimiento recomendado para evaluar el sesgo y recobro es el siguiente (Magnusson & Örnemark, 2014):

Analizar entre 7 y 10 réplicas independientes del MCR o matriz adicionada con el método a validar. De preferencia realizar análisis a dos niveles o tres niveles de concentración diferentes: bajo, medio y alto del intervalo lineal. Determinar las concentraciones de cada medición y realizar los siguientes cálculos:

$$b = \bar{x} - x_{ref} \quad (4.2)$$

$$b (\%) = \frac{\bar{x} - x_{ref}}{x_{ref}} * 100 \quad (4.3)$$

$$R (\%) = \frac{\bar{x}}{x_{ref}} * 100 \quad (4.4)$$

$$R_{\text{Matriz Adicionada}} (\%) = \frac{\bar{x} - \bar{x}_{\text{Blanco Matriz}}}{x_{\text{Adicionada}}} * 100 \quad (4.5)$$

Donde  $b$  es el sesgo,  $R (\%)$  es el porcentaje de recobro,  $\bar{x}$  es el promedio de las concentraciones determinadas,  $x_{ref}$  es la concentración conocida del MRC,  $\bar{x}_{\text{Blanco Matriz}}$  es la concentración del analito en el blanco de matriz (debe ser muy pequeña o cero),  $x_{\text{Adicionada}}$  es la concentración adicionada al blanco de matriz en el laboratorio.

El sesgo y sesgo relativo se calculan con las ecuaciones 4.2 y 4.3, respectivamente. Cuando se trabaja con matriz adicionada  $x_{ref}$  es igual a la concentración adicionada. El porcentaje de recobro usando MRC y matriz adicionada se calculan con las ecuaciones 4.4 y 4.5, respectivamente.

El sesgo obtenido debe ser lo más cercano a cero. Para el recobro en la determinación de componentes tóxicos, orgánicos e inorgánicos, en matrices ambientales, las concentraciones analizadas están en el rango de partes por billón, por lo que se puede considerar aceptable entre 70 y 120% (European Commission, 2007).

#### 4.3.5 Precisión (repetibilidad y precisión intermedia)

Este parámetro mide la dispersión de una serie de mediciones obtenidas por el método a validar. La repetibilidad mide la dispersión de resultados ante pequeñas variaciones en las condiciones de análisis, como es la ejecución en un corto periodo de tiempo por el mismo analista usando los mismos equipos y con el mismo o diferente lote de reactivos.

La precisión intermedia es una medida de la dispersión de resultados haciendo variaciones moderadas en las condiciones de análisis, como es el cambio de analistas que ejecuten el mismo método, usando los mismos equipos, en un periodo de tiempo corto y con el mismo o diferente lote de reactivos.

Una tercera medida de la precisión es la reproducibilidad que mide la dispersión de resultados ante grandes variaciones en las condiciones de análisis, como es la ejecución del mismo método en diferentes laboratorios. A continuación, se describe el proceso general de estimación de repetibilidad y precisión intermedia (Magnusson y Örnemark, 2014).

Realizar entre 7 y 10 réplicas independientes del MCR o matriz adicionada con el método a validar. De preferencia realizar análisis a dos niveles o tres niveles de concentración diferentes: bajo, medio y alto del intervalo lineal.

Para la repetibilidad realizar las réplicas con el mismo analista y equipo en un plazo de tiempo corto, por ejemplo, realizar los análisis en días consecutivos. Para la precisión intermedia realizar las réplicas con diferente analista mismo equipo en un plazo de tiempo medio, por ejemplo, realizar

los análisis en semanas consecutivas. Si es posible, utilizar diferentes lotes de reactivos.

Calcular para cada parámetro la desviación estándar ( $s$ ) de las concentraciones obtenidas, desviación estándar relativa o coeficiente de variación (DER o CV) y límite de precisión ( $r$ ):

$$s_{Intermedia} = \sqrt{s_{Analista\ 1}^2 + s_{Analista\ 2}^2} \quad (4.6)$$

$$DER = \frac{s}{\bar{x}} * 100 \quad (4.7)$$

$$r = \sqrt{2} * t * s \quad (4.8)$$

Donde  $\bar{x}$  es la concentración media de las réplicas,  $t$  es el valor de Student a dos colas para  $n-1$  grados de libertad a un 95% de confianza ( $n$  es la cantidad de réplicas realizadas) y  $\sqrt{2}$  refleja la diferencia entre dos mediciones.

Para el análisis de compuestos tóxicos en matrices alimentarias se considera aceptable  $DER < 20\%$  (European Commission, 2007). El límite de precisión indicará cuál es la diferencia permitida entre las mediciones realizadas. Se recomienda revisar criterios de aceptación de precisión específicos para cada tipo de método (según el tipo de analitos, matriz y técnica instrumental).

#### 4.3.6 Robustez

La robustez mide la capacidad de un método analítico para no verse afectado por variaciones pequeñas premeditadas de las variables (factores) de análisis (Magnusson & Örnemark, 2014). Es importante identificar las variables que influyen en el proceso.

Para evaluar la robustez se hacen cambios en las variables de influencia importantes en el método y se determina el efecto en los resultados obtenidos. Se utiliza la prueba de robustez de Youden y Steiner que se basa en un diseño factorial fraccional para determinar la interacciones entre las diferentes

variables del método. La prueba consiste en seleccionar un subconjunto de ocho combinaciones de variables, generando la siguiente matriz de la Tabla 4.2. Se realiza cada experimento (del 1 al 8) y se resuelven las ecuaciones de la Tabla 4.3 (Karageorgou & Samanidou, 2014).

**Tabla 4.2. Matriz de Youden y Steiner para la evaluación de robustez**

Variables seleccionadas			Combinaciones/ número de experimentos							
Variable	Valor nominal	Modificación	1	2	3	4	5	6	7	8
No. 1	A	a	A	A	A	A	a	a	a	a
No. 2	B	b	B	B	b	b	B	B	b	b
No. 3	C	c	C	c	C	c	C	c	C	c
No. 4	D	d	D	D	d	d	d	d	D	D
No. 5	E	e	E	e	E	e	e	E	e	E
No. 6	F	f	F	f	f	F	F	f	f	F
No. 7	G	g	G	g	g	G	g	G	G	g
<b>Resultados (concentraciones obtenidas)</b>			<b>s</b>	<b>t</b>	<b>u</b>	<b>v</b>	<b>w</b>	<b>x</b>	<b>y</b>	<b>z</b>

Fuente: Karageorgou y Samanidou, 2014

**Tabla 4.3. Ecuaciones para evaluar la robustez**

Variable		Ecuación
No. 1	4.9.1	$(A-a) = 1/4 (s+t+u+v) - 1/4 (w+x+y+z)$
No. 2	4.9.2	$(B-b) = 1/4 (s+t+w+x) - 1/4 (u+v+y+z)$
No. 3	4.9.3	$(C-c) = 1/4 (s+u+w+y) - 1/4 (t+v+x+z)$
No. 4	4.9.4	$(D-d) = 1/4 (s+t+y+z) - 1/4 (u+v+w+x)$
No. 5	4.9.5	$(E-e) = 1/4 (s+u+x+z) - 1/4 (t+v+w+y)$
No. 6	4.9.6	$(F-f) = 1/4 (s+v+w+z) - 1/4 (t+u+x+y)$
No. 7	4.9.7	$(G-g) = 1/4 (s+v+x+y) - 1/4 (t+u+w+z)$

Fuente: Karageorgou y Samanidou, 2014

Para considerar que el método es robusto, la diferencia de cada variable debe ser menor a 2 veces la desviación estándar de la precisión intermedia

del método. En caso de que una variable no cumpla con este requisito, se debe tener bajo control para que no produzca alguna desviación en el resultado obtenido por el método.

Para considerar que el método es robusto, la diferencia de cada variable debe ser menor a 2 veces la desviación estándar de la precisión intermedia del método. En caso de que una variable no cumpla con este requisito, se debe tener bajo control para que no produzca alguna desviación en el resultado obtenido por el método.

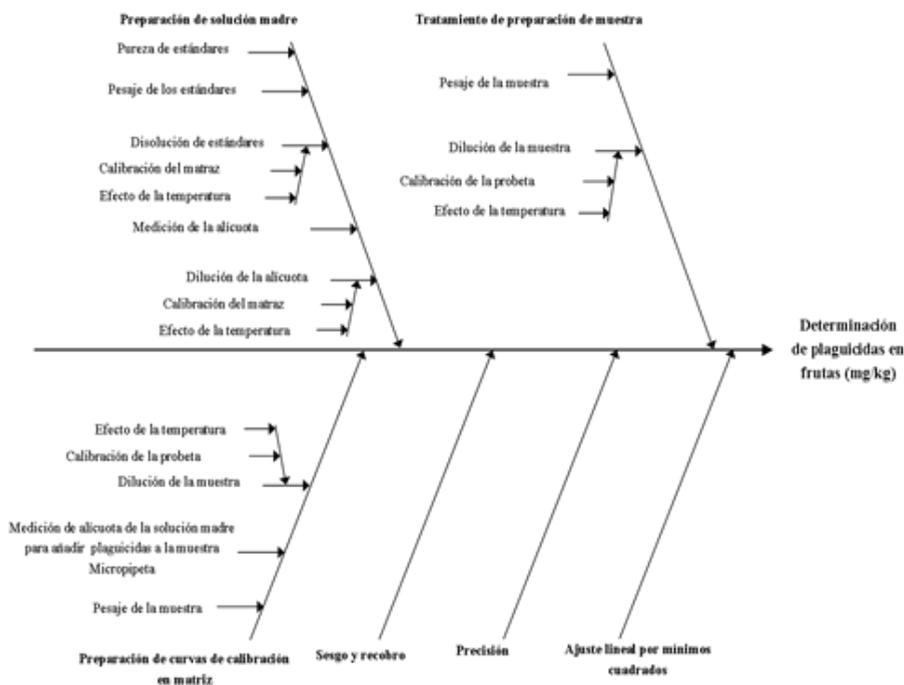


Figura 4.2. Diagrama de causa-efecto de las fuentes de incertidumbre del análisis de plaguicidas en frutas

De cada fuente incertidumbre se calcula su contribución a la incertidumbre combinada del método. La incertidumbre combinada ( $u_c$ ) del método se calcula a partir de las aportaciones (en unidades de concentración) de cada fuente ( $u_1, u_2, u_3, \dots$ ) (Ecuación 4.9).

$$u_c = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2 \dots} \quad (4.9)$$

Para asociar la incertidumbre del método a un resultado obtenido, se calcula la incertidumbre expandida ( $u_e$ ). La  $u_e$  indica un intervalo de valores en donde se encuentra el valor de un resultado con un nivel de confianza determinado. La Ecuación 4.10 muestra el cálculo de  $u_e$ ; generalmente el factor de cobertura ( $k$ ) que se utiliza es 2 e implica un nivel de confianza del 95%.

$$u_e = k * u_c \quad (4.10)$$

Para el estudio a detalle de este tema se recomienda consultar la guía *Eurachem/CITAC guide Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 2012* (Ellison & Williams, 2012).

#### 4.4 Conclusión

El análisis toxicológico de diferentes compuestos en matrices ambientales es importante para monitorear el riesgo de exposición a agentes nocivos. Los resultados obtenidos en los laboratorios de toxicología pueden ser usados para la toma de decisiones; por lo tanto, la confiabilidad de sus resultados es crítica. Es por esto que los laboratorios deben realizar la validación de sus métodos analíticos antes de usarlos para el estudio de muestras reales.

## Referencias

- Centro Español de Metrología. (2012). *JCGM 200:2012. Vocabulario Internacional de Metrología Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados (VIM) (3ª edición)*. España. NIPO: 074-13-004-1 (Edición digital). [https://www.cem.es/sites/default/files/vim-cem-2012web\\_0.pdf](https://www.cem.es/sites/default/files/vim-cem-2012web_0.pdf)
- Ellison, S.L.R. & Williams, A. (eds). (2012). *QUAM:2012.P1. Eurachem/CITAC guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement (3ª edición)*. EURACHEM/CITAC. [www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/QUAM2012\\_P1.pdf](http://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/QUAM2012_P1.pdf)
- Instituto Mexicano de Normalización y Certificación AC. (2018). *NMX-EC-17025-IMNC-2018-ISO/IEC17025:2017. Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración*. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/668831/NMX-EC-17025-IMNC-2018.pdf>
- Karageorgou, E., & Samanidou, V. (2014). Youden test application in robustness assays during method validation. *Journal of Chromatography A*, 1353, 131–139. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.01.050>
- Magnusson, B. & Örnemark, U. (eds.). (2014). *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. Eurachem. [https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV\\_guide\\_2nd\\_ed\\_EN.pdf](https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf)
- National Association of Testing Authorities. (2012). *Technical note 17. Guidelines for the validation and verification of quantitative and qualitative test methods*. <https://www.demarcheiso17025.com/document/Guidelines%20for%20the%20validation%20and%20verification%20of%20quantitative%20and%20qualitative%20test%20methods.pdf>
- Tuija P. (coord.). (2007). *Method validation and quality control procedures for pesticide residue analysis in food and feed. SANCO*. [https://eurl-pesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance\\_Sanco\\_2007\\_3131.pdf](https://eurl-pesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance_Sanco_2007_3131.pdf)



# Capítulo 5. Muestreo y manejo de ítems de ensayo

*Elisa López Loeza<sup>1</sup>*

## Resumen

Para los laboratorios que realizan investigación, el muestreo y manejo de los ítems de ensayo son actividades clave para contar con un resultado técnicamente válido. La toma de decisión sobre la conformidad de un ensayo o de un producto recae sobre la confiabilidad del mismo, y este tiene como principio el muestreo y un subsecuente transporte, almacenaje y recepción en el laboratorio para el subsiguiente ensayo.

El proceso de muestreo, dependiendo del analito, de la matriz, si es de tipo cualitativo o cuantitativo, debe basarse en métodos de muestreo estadísticos apropiados, apegados a las normas o estándares establecidos por organizaciones nacionales o internacionales.

La competencia del personal, el control del equipamiento y control de registros son directrices fundamentales, que previamente se deben considerar para un correcto muestreo y manejo de los ítems de ensayo, logrando con ello que el ítem sea representativo de la población donde haya sido extraído. El manejo de los ítems de ensayo forma parte de los procesos operativos fundamentales para garantizar la protección de la muestra y evitar el deterioro, pérdida o contaminación del mismo.

La norma NMX-EC-17025-IMNC:2018 refiere que el laboratorio debe contar con un plan y método de muestreo, por lo que se recomienda que estén

---

<sup>1</sup> Centro de Innovación y Desarrollo Agroalimentario de Michoacán. Km 8 Antigua Carretera a Pátzcuaro, Morelia Michoacán. elopez@cidam.org. (443)3957461.

basados en métodos de muestreo estadísticos apropiados, representativos del polígono o área delimitada

**Palabras clave:** muestreo, ítem.

## **5.1 Introducción**

La validez técnica y confiabilidad de los resultados de ensayos de un laboratorio de investigación se basan en el cumplimiento de diversos procesos operativos y de recursos. Los procesos operativos tienen requisitos fundamentales relacionados con el desarrollo de planes y métodos de muestreo, manejo de los ítems de ensayo y el control de todos los registros técnicos que se generan de estos procesos. Los procesos de recursos consideran la competencia del personal y la gestión del equipamiento utilizado durante el muestreo y los ensayos posteriores.

El muestreo y manejo de los ítems de ensayo son actividades clave para contar con un resultado técnicamente válido. La toma de decisión sobre la conformidad de un ensayo o de un producto recae sobre la confiabilidad del mismo y este tiene como principio el muestreo y la cadena de custodia que consiste en el transporte, almacenaje y recepción en el laboratorio para el subsiguiente ensayo

## **5.2 Muestreo y manejo de ítems de ensayo**

Parte fundamental de garantizar la validez técnica del resultado de un ensayo es realizar un correcto muestreo y adecuado manejo de las muestras. La principal razón de llevar a cabo un muestreo es conseguir que el análisis toxicológico sea representativo de lo que está sucediendo en el sitio de interés. Debido a que para la mayoría de los métodos tanto cualitativos como cuantitativos utilizados en los laboratorios de ensayo se requieren porciones de material muy pequeñas, reviste una importancia fundamental el hecho de que esas pequeñas porciones sean representativas de la zona o polígono de la que hayan sido extraídas.

Los laboratorios de ensayo que consideren como parte de su alcance el realizar muestreo de alguna sustancia, material o producto que subsecuente-mente se utilizará para el ensayo, deben contar con planes y métodos de muestreo que permitan que el resultado sea preciso y pueda ser utilizado para la toma de decisiones.

Para todo el personal que realiza muestreos es necesario que el laboratorio cuente con procedimientos y conserve registros para determinar sus requisitos de competencia, formación de personal, supervisión tanto en campo como en gabinete y realizar seguimiento de su competencia. Antes de realizar la actividad, el personal debe estar lo suficientemente capacitado para comprender el proceso y su importancia para los resultados de laboratorio.

En el plan de entrenamiento documentado del laboratorio deben estar incluidos los muestreadores. Este entrenamiento puede ser impartido por muestreadores experimentados y puede incluir asistencia de conferencias/seminarios/cursos, operación de equipos para el muestreo, seminarios por internet y revisión de literatura científica y otros métodos de autoaprendizaje, así como ejercicios prácticos en campo bajo la supervisión del muestreador experto.

Se debe gestionar el equipamiento utilizado para llevar a cabo el muestreo. Otro factor muy importante que coadyuva en la garantía de los resultados es el control que se tenga sobre los equipos y consumibles (equipamiento), actividades que incluyen el mantenimiento, calibración, verificación y registro de uso de los equipos, así como la adquisición de materiales de referencia certificados. Los procedimientos y manuales de operación del equipamiento deben estar disponibles en los sitios donde se llevará a cabo el muestreo, de igual manera el equipo debe alcanzar la exactitud de medición e incertidumbre requeridas, incluirse en los programas de calibración, verificación y mantenimiento preventivo de ser necesario. Los materiales y consumibles deben ser los adecuados, tendientes a evitar la contaminación, pérdida o deterioro de las muestras. Los requisitos técnicos de los materiales y consumibles pueden variar en función al tipo de muestra. Algunas de las características relevantes son el tipo de material, clase, contenido de preservantes, tamaño, tipo de cierre, entre otras.

Durante las actividades de muestreo es necesario que se consideren todos los factores a controlar por parte del personal del laboratorio. Estos factores pueden incluir la profundidad, temperatura, la humedad, limpieza, etc. De igual manera, se recomienda inspeccionar el lugar o espacio físico donde se llevará a cabo el muestreo a fin de determinar cualquier variación como color o textura que pudiera ser relevante registrar.

Con la finalidad de que el método y planes de muestreo sean consultados por los analistas o responsables del muestreo designados por el laboratorio, resulta necesario que estos documentos estén disponibles en los sitios en los cuales se llevará a cabo el muestreo.

El uso de un sistema de muestreo o plan de muestreo aprobado ayuda también a economizar tiempo y recursos valiosos al reducir el número de determinaciones innecesarias, por lo que se recomienda que estén basados en métodos de muestreo estadísticos apropiados.

Algunos de los aspectos indispensables que debe contener el plan de muestreo son (NMX-AA-132-SCFI, 2016):

- El objetivo.
- Lugar y fecha de elaboración.
- Características y superficie del área de estudio.
- Los tipos de muestreo a realizar y su justificación (exploratorio, detalle, fondo, final comprobatorio).
- Métodos para la distribución de puntos de muestreo y su justificación (dirigido, estratificado o zonificado, sistemático o aleatorio simple).
- Número de puntos de muestreo y su cantidad.
- Planos georreferenciados que indiquen la superficie de estudio y ubicación de los puntos.
- Las medidas y equipo de seguridad.
- Aseguramiento de la calidad del muestreo incluyendo la cadena de custodia.

El muestreo debe realizarse según las normas que apliquen establecidas por organizaciones regionales o internacionales, por ejemplo, si el muestreo se realizará en cuerpos receptores de agua, considerar la NOM-AA-014-1980; en sistemas de abastecimiento público, la NOM-230-SSA1-2002, Agua para uso y consumo humano, procedimientos sanitarios para el muestreo o bien estándares como NOM-AA-132-SCFI-2016, Muestreo de suelos para la identificación y la cuantificación de metales y metaloides y manejo de la muestra.

En casos de muestreos en cuerpos receptores de agua o sistemas de abastecimiento público, previo al muestreo, con ayuda de una sonda multiparamétrica, se deben realizar mediciones temperatura, oxígeno disuelto, pH y salinidad, registrando los datos en forma inmediata (López, 2022).

Inmediatamente después del muestreo, los contenedores con los ítems deben cerrarse, sellarse y rotularse debidamente. Se deben tomar medidas para mantener la integridad de la muestra, por ejemplo, utilizando un sello de seguridad estampado o impreso con el sello departamental que permita ver si fue adulterado. Es importante que el cliente presencie el sellado de los contenedores y firme el rótulo.

Los ítems de ensayo deben ser identificados sin ambigüedades. Para lo anterior, el laboratorio debe contar con un sistema de identificación confiable, que permita asegurar que los ítems no se confundan físicamente o cuando se haga referencia a ellos en registros o en otros documentos. En caso de ser necesario, el sistema debe permitir la subdivisión y transferencia de ítems.

Cuando un ítem no cumpla con la descripción suministrada o exista alguna discrepancia entre el ítem y la documentación, el laboratorio debe consultar al cliente para obtener instrucciones adicionales, antes de proceder a su análisis teniendo el cuidado de registrar el resultado de esta consulta. Cualquier desviación debe ser registrada e informada al cliente de forma inmediata. En caso de que el cliente requiera que se ejecute el ensayo admitiendo una desviación de las condiciones especificadas, el laboratorio debe incluir un descargo de responsabilidad en el informe en el que indique qué resultados pueden ser afectados por la desviación.

Una vez realizado el muestreo, el laboratorio deberá tener disponible un procedimiento para el transporte, recepción, manipulación, protección, almacenamiento, conservación y disposición final de los ítems de ensayo, incluidas todas las disposiciones necesarias para proteger su integridad, cuidando los intereses del laboratorio y del cliente.

Una vez llenado el formato de registro o cadena de custodia de las muestras, el transportista y responsables del laboratorio son los encargados de transportar las muestras al laboratorio asegurando que no sean abiertas ni adulteradas durante el transporte. Dependiendo de su naturaleza, algunas veces las muestras se trasladan en bolsas de material sintético, sobres o hieleras. A estos contenedores se recomienda integrar un adquisidor para el registro de temperatura y humedad que genere registros durante todo el transporte. Para muestras sensibles podría ser necesario inclusive colocar también un sistema de monitoreo satelital, que permita revisar la ruta y tiempo de llegada al laboratorio.

El transporte en el laboratorio es igualmente importante para evitar el daño y deterioro de las muestras, por lo que también se debe tener procedimientos o instrucciones para el traslado en el interior de las instalaciones que considere cómo se realizará el traslado interno, equipo de protección personal que se deberá usar para evitar la contaminación de la muestra y si se modificará o integrará una nueva clave de identificación que evite la pérdida o confusión de muestras similares.

Una persona autorizada deberá recibir e inspeccionar cuidadosamente las muestras y los documentos que le acompañan para garantizar que se trata de las mismas muestras y que existe correspondencia con los documentos recibidos.

Es necesario que en el laboratorio considere todos aquellos escenarios distintos para el almacenaje de los ítems. En este caso, o en el que el ítem requiera ser acondicionado bajo condiciones ambientales especificadas, se debe mantener, realizar y registrar estas condiciones. Todas las medidas tendientes a evitar el daño o deterioro deberían realizarse y vigilarse por parte de todos los colaboradores del laboratorio.

Las condiciones de almacenaje más comunes son temperatura ambiente, temperatura de refrigeración, temperatura de congelación o ultracongelación. De ser necesario, estos equipos térmicos o espacios de resguardo (bodegas de evidencia) deberán ser cerrados con sistemas de seguridad (candados o contraseñas de acceso), utilización de videocámaras y un estricto control del acceso a las muestras.

Una vez analizada la muestra, la utilidad que se le pueda dar al resultado de una medición por parte del solicitante o de alguna autoridad estará en función de una adecuada interpretación del resultado del ensayo, considerando en la mayoría de los casos la incertidumbre de medida.

Para todos los métodos cuantitativos, los laboratorios de ensayos deben estimar la incertidumbre de medición, considerando todas las contribuciones que son significativas, incluyendo aquellas que surgen del muestreo, utilizando métodos apropiados de análisis. Esta incertidumbre de medida también le permitirá al personal autorizado emitir una declaración de conformidad de la muestra o del producto, por lo que resulta indispensable realizar un análisis minucioso de las contribuciones que pudieran provenir del muestreo e integrarlas a la estimación de la incertidumbre del método, con la finalidad de no sobreestimarla o subestimarla y que esto pudiera provocar un riesgo consistente en falsa aceptación o falso rechazo.

Para demostrar la trazabilidad de los resultados obtenidos es necesario conservar los registros de los datos del muestreo que forman parte del ensayo que se realiza. Estos registros deben incluir cuando sea pertinente (NMX-EC-17025-IMNC, 2018):

- Referencia al método de muestreo utilizado.
- Fecha y hora del muestreo.
- Los datos para identificar y describir la muestra (Ej número, cantidad, nombre, contenedor, entre otros).
- Identificación del personal que realiza el muestreo.
- La identificación del equipo utilizado.
- Las condiciones ambientales del transporte.

- Diagramas u otros medios equivalentes para identificar la ubicación del muestreo cuando sea apropiado.
- Las desviaciones, adiciones al o las exclusiones del método y del plan de muestreo.
- Cadena de custodia de las muestras.
- Bitácoras de campo.

Es necesario llevar a cabo el control preciso de los registros generados antes y durante el muestreo, ya que deberán ser indicados y/o incluidos en el informe de ensayo.

### **5.3 Conclusiones**

El muestreo tiene por objetivo lograr que el resultado del ensayo sea representativo de la del polígono o zona donde fue extraído. Es necesario que el laboratorio implemente estrategias de muestreo que lo lleven a mejorar sus prácticas de trabajo y a economizar tiempo y recursos valiosos al reducir el número de determinaciones innecesarias. El muestreo debe realizarse apegados a los principios establecidos en normas o estándares emitidos por organizaciones regionales o internacionales.

En la medida que los laboratorios puedan garantizar la competencia del personal, la confiabilidad de los equipos e insumos, contar con planes y métodos de muestreo estadísticos apropiados, un adecuado embalaje, transporte, manipulación y recepción de los ítems de ensayo con su correspondiente control de los registros técnicos, se contribuirá a la confiabilidad y utilidad de los resultados emitidos por el laboratorio de investigación.

### **Referencias**

Botello, F., Vázquez C., Mayani F., Vega E., & Morales P. (2022). *Protocolo para el monitoreo ecosistémico de cuerpos lóticos (ríos y arroyos) en Áreas Naturales Protegida. Comisión Nacional de Áreas Naturales.*

[https://simec.conanp.gob.mx/manuales/protocolos/Protocolo\\_Cuerpos\\_1%C3%B3icos.pdf](https://simec.conanp.gob.mx/manuales/protocolos/Protocolo_Cuerpos_1%C3%B3icos.pdf)

Instituto Mexicano de Normalización y Certificación AC. (2018). *NMX-EC-17025-IMNC-2018-ISO/IEC17025:2017. Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración*. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/668831/NMX-EC-17025-IMNC-2018.pdf>

Secretaría de Economía. (06 de marzo 2017). *DECLARATORIA DE VIGENCIA DE LA NORMA MEXICANA NMX-AA-132-SCFI-2016, “MUESTREO DE SUELOS PARA LA IDENTIFICACIÓN Y LA CUANTIFICACIÓN DE METALES Y METALOIDES, Y MANEJO DE LA MUESTRA (CANCELA A LA NMX-AA-132-SCFI-2006)”*. Diario Oficial de la Federación. [www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5475373&fecha=06/03/2017#gsc.tab=0](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5475373&fecha=06/03/2017#gsc.tab=0)

Secretaría de Salubridad y Asistencia. (6 de noviembre 1992). *NORMA MEXICANA NMX-AA-14-1980 “CUERPOS RECEPTORES.- MUESTREO”*. Diario Oficial de la Federación. [https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=4859277&fecha=05/09/1980](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4859277&fecha=05/09/1980)

Secretaría de Salud. (12 de julio 2005). *NORMA Oficial Mexicana NOM-230-SSAI-2002, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano, requisitos sanitarios que se deben cumplir en los sistemas de abastecimiento públicos y privados durante el manejo del agua. Procedimientos sanitarios para el muestreo*. Diario Oficial de la Federación. [www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=2081772&fecha=12/07/2005#gsc.tab=0](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=2081772&fecha=12/07/2005#gsc.tab=0)



# Capítulo 6. Aseguramiento de la calidad de los resultados de laboratorios de investigación

*Elsa Leticia Ramírez Cerda<sup>1</sup>*

## Resumen

La garantía de calidad es una actividad que no puede manejarse de manera opcional si se quiere proporcionar confianza adecuada cuando se realizan ensayos como parte de un proyecto de investigación o se brindan servicios, por lo tanto, debe ser planificada, supervisada y sus resultados utilizados para tomar decisiones en beneficio del laboratorio.

“Control de calidad” y “Aseguramiento de calidad” son términos que los laboratorios utilizan de acuerdo al contexto. De forma práctica, el aseguramiento de calidad se refiere a todas las medidas de carácter preventivo y sistemáticas que se establecen para asegurar y regular la calidad de un resultado, mientras que el control de calidad comprende actividades y técnicas individuales relacionadas con el seguimiento y control de operaciones particulares (CENAM, 2005). El control de calidad (CC) tiene como objetivo detectar las deficiencias en las mediciones, mientras que el aseguramiento de la calidad es un término de mayor alcance y cubre todos los procesos necesarios para evitar que se produzcan.

Dentro de los factores que pueden afectar en mayor medida a la calidad de un resultado involucran al personal que realiza las mediciones, la muestra,

---

<sup>1</sup> Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco. Av. Normalistas No. 800 CP 44270, Guadalajara, Jalisco México. eramirez@ciatej.com.mx. Número de teléfono 33 33455200

los procedimientos de análisis, el estado de los equipos o instrumentos, las instalaciones y condiciones ambientales. Los programas de capacitación del personal, mantenimiento y calibración de equipos, control de calidad, soportados por información documentada, son esenciales para un seguimiento adecuado de las actividades de un laboratorio con un sistema de calidad establecido.

Un laboratorio de investigación que decida trabajar bajo un sistema de aseguramiento de la calidad de sus resultados analíticos puede seguir lo indicado en el inciso 7.7 de la norma NMX-EC-17025. En este documento se señalan los siguientes puntos como controles para el aseguramiento de la validez de resultados:

- a. uso de materiales de referencia o materiales de control de calidad;
- b. uso de instrumentos alternativos que han sido calibrados para obtener resultados trazables;
- c. comprobaciones funcionales del equipamiento de ensayo y de medición;
- d. uso de patrones de verificación o patrones de trabajo con gráficos de control, cuando sea aplicable;
- e. comprobaciones intermedias en los equipos de medición;
- f. repetición del ensayo o calibración utilizando los mismos métodos o métodos diferentes;
- g. reensayo o recalibración de los ítems conservados;
- h. correlación de resultados para diferentes características de un ítem;
- i. revisión de los resultados informados;
- j. comparaciones intralaboratorio;
- k. ensayos de muestras ciegas.

**Palabras clave:** aseguramiento de calidad, control de calidad.

## **6.1. Control de calidad interno**

Después de la validación del método y considerando su implementación rutinaria para analizar muestras de origen desconocido, es necesario aplicar

controles que nos permitan confirmar que el método se mantiene dentro de las especificaciones que se dieron en su origen y, por lo tanto, que se está desempeñando de acuerdo a lo esperado.

El tipo y el número de muestras de control de calidad, así como su frecuencia dependen de lo crítico del análisis, de la dificultad de la prueba, del tamaño del lote de muestras, del grado de automatización del método y de la experiencia obtenida del proceso de validación. Deben indicarse en la metodología o en una sección del manual de calidad o procedimiento, incluyendo criterios de aceptación para que estos puedan ser consultados por el personal del laboratorio.

La norma mexicana NMX-AA-051-SCFI menciona siete elementos para el control de calidad en los laboratorios, los cuales se complementan con información para facilitar su implementación:

1. Certificación de la competencia del analista: demostración inicial y continua de la capacidad del personal que realiza ensayos, capacitación técnica, supervisión y evaluaciones.
2. Recuperación de las adiciones conocidas: matriz fortificada, blanco fortificado.
3. Análisis de los patrones suministrados externamente y/o patrones internos preparados de forma independiente a los patrones utilizados en la curva de calibración.
4. Análisis de blancos: blanco de reactivo, blanco fortificado, etc.
5. Calibración con patrones: evaluación de la estandarización inicial (curva de calibración). Verificar el rango operacional o calibrar el instrumento con patrón de concentración conocida que de preferencia sea trazable a un patrón nacional o emitido por organismo de certificación.
6. Análisis de duplicados: duplicado de matriz fortificada o muestra duplicada.
7. Mantenimiento de cartas de control. Existen dos tipos de cartas comunes en los laboratorios: 1) de exactitud (medias por ejemplo de blancos de reactivos, % de recuperación de estándar de curva de calibración etc.)

y 2) de precisión (rangos) construidas del promedio y desviación estándar de un número especificado de mediciones para réplicas o análisis duplicados. Se establecen límites en la carta (convencionalmente, los “límites de aviso o advertencia” se colocan a  $\pm 2\sigma$  ( $\pm 2s$ ) del valor de la media y los “límites de acción” se colocan a  $\pm 3\sigma$  ( $\pm 3s$ ) del valor de la media. Una vez graficados los valores de control de calidad con los límites asignados según las reglas existentes, podrá observarse si el control de calidad es satisfactorio o no (Guía Eurachem, 2016).

En la Tabla 6.1 se describen algunas alternativas de control de calidad interno que pueden ser aplicados por laboratorios de investigación.

**Tabla 6.1 Medidas de control de calidad utilizadas regularmente en ensayos fisicoquímicos para evidenciar que el proceso se encuentra dentro de lo especificado**

Elemento de control	Descripción	Uso
Muestra duplicada	Repetición de la misma muestra o dos muestras tomadas al mismo tiempo, útil para confirmar precisión (inter o intra laboratorio). Permiten verificar la repetibilidad. Proporcionan un medio de verificar los cambios en la precisión en un proceso analítico, los cuales podrían afectar el resultado de forma adversa.	Realizar un duplicado por lote de cada 10 muestras. Las réplicas pueden ser consecutivas en una corrida (para verificar la repetibilidad) o tomadas en forma aleatoria (para verificar el sesgo).
Blanco de reactivos	Este control consta de agua y todos los reactivos que normalmente están en contacto con una muestra durante todo el procedimiento de análisis. Permite determinar qué tanto contribuyen los reactivos y las etapas analíticas; monitorear posible contaminación y confirmar la estabilidad de la línea base (cuando aplique).	Como mínimo, incluya un blanco de reactivo con cada lote de muestras o en una base del 5 %, lo que sea más frecuente. Puede analizarse después de un estándar de calibración o muestras altamente contaminadas para descartar remanentes, por lo general los resultados son sospechosos si la respuesta del analito es mayor que el límite de cuantificación.

<b>Blanco de muestra*</b>	Matrices que no contienen el analito de interés, son difíciles de obtener, pero útiles para estimar las interferencias que pudieran encontrarse durante el análisis de las muestras. Permite corregir valor de muestra y eliminar cualquier contribución a la respuesta que no se le atribuya al analito.	Analizar como otra muestra.
Blanco de muestra fortificada o adicionada*	Permite estimar el porcentaje de recuperación o efectos de la matriz.	Añadir una cantidad conocida de analito a una muestra blanco para aumentar su concentración y calcular en términos de la cantidad agregada (asumiendo 100% de recuperación). Nota: puede que el analito no esté tan fuertemente ligado a la matriz de la muestra, por lo tanto, la recuperación puede estar sobreestimada.
Muestra de control de calidad	Muestra típica que se caracteriza por ser estable y homogénea. Analizadas a intervalos en una corrida analítica indicarán el sesgo del sistema.	Incorporar en la secuencia analítica, de preferencia de forma ciega o desconocida.
Material de referencia	Material o sustancia en el cual uno o más valores de sus propiedades son suficientemente homogéneas y bien definidas para ser utilizadas para la calibración de aparatos, la evaluación de un método de medición o para asignar valores a los materiales. Verificar exactitud o sesgo.	Ayudarán a asegurar la trazabilidad y la compatibilidad con otros que realizan medidas similares. Incorporar en la secuencia analítica.
Material de referencia certificado	Material caracterizado con valores asignados a la concentración del analito y a la incertidumbre de medida indicados en un certificado o informe.	Incorporar en la secuencia analítica cuando se valida o confirma un método. Puede usarse para calibrar o como material para el control de la veracidad de la medida.
Confirmación de linealidad	Evaluación del intervalo de trabajo del instrumento para confirmar que sigue una respuesta lineal.	Estimar coeficiente de correlación de curvas de calibración.

Verificación de concentración conocida de estándar	Se utiliza para comprobar la estabilidad de la línea base y para verificar que el instrumento mantenga en forma aceptable las condiciones iniciales de calibración.	Fortificar al punto medio de la curva. Colocar a intervalos dentro de una corrida analítica para verificar que la respuesta del analito durante el proceso analítico es estable.
Análisis ciego	Forma efectiva de realizar análisis repetidos y proporciona una ruta para verificar la precisión.	Analizar réplicas de porciones de prueba colocadas dentro de una corrida analítica por personal supervisor o de calidad, las cuales son de origen desconocido para el analista.

**Fuente: Elaboración propia con información de CCAYAC 2019, Eurachem 2016.**

Debido a la diversidad de pruebas de control de calidad y criterios específicos por técnica, no es posible definir estas en su totalidad. Sin embargo, sobre la base de un tamaño de lote de muestra arbitrario de diez muestras, se describen en la Tabla 6.2 algunos ejemplos de elementos de control de calidad descritos en métodos normalizados (no recomendaciones).

**Tabla 6.2 Elementos de control de calidad de métodos normalizados para determinaciones en agua**

Determinación	Control de calidad	Referencia
pH en agua	Duplicado de muestra. Usar potenciómetro con electrodos que funcionen adecuadamente para obtener una precisión de +0.02 unidades de pH y exactitud de +0.05. Correr una muestra duplicada por lote. Cuando se realicen mediciones esporádicas estandarice con buffer comerciales trazables (NIST) antes de cada uso. Si el pH de la muestra varía ampliamente estandarice con cada muestra. Reportar la temperatura de medición.	
Metales en agua por ICP-MS	Calibrar el instrumento usando un mínimo de tres estándares de calibración y un blanco de calibración. Verificar coeficiente de correlación > 0.99. Analizar un estándar de calibración del instrumento con una frecuencia del 10 % y al final de la corrida. Recuperación del 90 al 110% del valor verdadero.	ASTM D5673

---

Metales en agua	Elaborar curva de calibración con un blanco y tres a cinco patrones. La curva debe estar dentro del intervalo lineal de trabajo. Para la verificación de línea base y curva de calibración analizar un blanco entre las lecturas de las muestras y una de las soluciones patrón de la curva cercana a la concentración de la muestra.	NMX-AA-051-SCFI
-----------------	--	-----------------

---

**Fuente: Elaboración propia con referencias consultadas.**

Es ampliamente aceptado que, para análisis de rutina, un nivel de control de calidad interno del 5% sea considerado como razonable, es decir, por cada 20 muestras analizadas deberá existir una muestra de control. Sin embargo, para métodos de rutina robustos, con un gran número de muestras, puede ser razonable un nivel menor. Para procedimientos más complejos no es raro un nivel del 20% y en ocasiones puede requerirse hasta un 50% (CENAM, 2005).

La precisión y estabilidad de las calibraciones se controlan estableciendo criterios de aceptación para lo siguiente, según corresponda:

- Uso de equipo calibrado
- Muestra reactivo o estándar equivalente
- Suficiente número de estándares para curva de calibración
- Estándar a bajas concentraciones (menos de diez veces el límite de detección)
- Blanco de reactivos utilizados para respuesta cero
- Ajuste de curva apropiado
- Estándar interno
- Estándar de control para verificar la precisión y la estabilidad
- Límites de control asociados y acciones especificadas para desviaciones

En las Tablas 6.3, 6.4 y 6.5 se describen criterios de aceptación generales para recuperación en muestras fortificadas, repetibilidad y precisión publicados por organismos internacionales.

**Tabla 6.3 Porcentajes de recuperación en alimentos y agua**

Concentración del Analito	Intervalo
0.01 %	85-110 %
0.1 %	90-108%
1 %	92-105%
10 %	95-102%
100%	98-101%

**Fuente:** AOAC. Guidelines for single laboratory Validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals. 2013.

**Tabla 6.4 Porcentajes de recuperación para residuos y contaminantes en alimentos y agua**

Concentración	Unidades	% recuperación <sup>2</sup>
100	100% (100g/100g)	98 – 102
≥10	≥ 10% 10g/100g	98 – 102
≥1	≥ 1% (1g/100g)	97 – 103
≥0.1	≥ 0.1% (1mg/g)	95 – 105
0.01	100 mg/kg	90 – 107
0.001	10 mg/kg	80 – 110
0.0001	1 mg/kg	80 – 110
0.00001	100 µg/kg	80 – 110
0.000001	10 µg/kg	60 – 115
0.0000001	1 µg/kg	40 – 120

**Fuente:** FAO & WHO. (2023). *Codex Alimentarius Commission Procedural Manual*. Pag.59

**Tabla 6.5 Repetibilidad y precisión intermedia para residuos y contaminantes en alimentos y agua**

Concentración del Analito	Intervalo
< 1 µg/kg o µg/L	CV ≤ 35%
> 1 µg/kg o µg/L	CV ≤ 30%

<sup>2</sup> Para la evaluación de la conformidad, debería utilizarse preferentemente material de referencia certificado.

>10 < 100 µg/kg o µg/L	CV ≤ 20%
> 100 < 1000 µg/kg o µg/L	CV ≤ 15%
> 1000 µg/kg o µg/L	CV ≤ 10 %

**Fuente:** FAO. Guidelines for single laboratory validation of analytical methods for trace level concentrations of organic compounds.

## 6.2 Control de calidad externo

Este control o evaluación de calidad es realizado por organismos externos. El laboratorio puede mostrar evidencia de su desempeño participando en evaluaciones organizadas por organismos competentes en la materia como ensayos de aptitud (EA) cuando estén disponibles y sean apropiados o mediante comparaciones interlaboratorio diferentes a los ensayos de aptitud (NMX-EC-17025). Las diferencias en este tipo de ejercicios las describe la ISO/IEC 17043:2010:

- Ensayos de aptitud, es la evaluación del desempeño del participante frente a criterios preestablecidos mediante comparaciones interlaboratorios.
- Comparación interlaboratorios es la organización, realización y evaluación de las mediciones o ensayos en los mismos o similares ítems por dos o más laboratorios u organismos de inspección de acuerdo con condiciones predeterminadas.

Una valoración independiente de la capacidad de medición, mediante la participación en este tipo de ejercicios, da una idea de qué tan bien está el desempeño del laboratorio cuando se compara con sus pares y da una mayor certeza a las empresas que contratan los servicios y que exportan productos. Por lo tanto, es un requisito indispensable de los procesos del aseguramiento de la calidad.

A nivel nacional e internacional se encuentran disponibles proveedores que ofertan ensayos de aptitud para diferentes determinaciones y alcances. En la Tabla 6.6 se describen los distribuidores de EA de México y algunos que envían EA hacia nuestro país. A menudo puede ser que no existan esquemas

disponibles que sean relevantes para los tipos de análisis que el laboratorio desea verificar, especialmente si se está trabajando aisladamente. Si bien algunos ensayos de aptitud están diseñados para atender un método particular, eso no limita que los laboratorios de investigación puedan evaluar los métodos desarrollados y su capacidad para detectar los analitos de interés.

**Tabla 6.6 Proveedores de ensayo de aptitud nacionales e internacionales con alcances para laboratorios toxicológicos**

Organizador/país de origen	Alcance	Contacto
CENAM/México	Alimentos, agua (Plaguicidas, Físicoquímicos, emisiones a la atmósfera por Fuentes Fijas.)	<a href="http://www.cenam.mx">www.cenam.mx</a>
SENA/México	Agua residual, residuos (metales, físicoquímicos)	<a href="http://www.sena.mx">www.sena.mx</a>
Normalización y Certificación NYCE, S.C.	Residuos (Bifenilos policlorados)	<a href="http://www.nyce.org.mx/ensayos-de-aptitud/">www.nyce.org.mx/ensayos-de-aptitud/</a>
SENASICA/México	Alimentos (residuos, metales, pesticidas, Bifenilos policlorados)	<a href="http://www.gob.mx/senasica">www.gob.mx/senasica</a>
ERA (A Waters Company)/USA	Agua residual, residuos (metales, Prueba de Extracción para compuestos Tóxicos, físicoquímicos, hidrocarburos, etc.)	<a href="http://www.eraqc.com">www.eraqc.com</a>
Fapas-Fera/Inglaterra	Agua residual, suelos y química ambiente (compuestos orgánicos e inorgánicos)	<a href="http://www.fapas.com/">www.fapas.com/</a>
LGC/Reino Unido	Ambientales, toxicología ambiental	<a href="http://www.lgcstandards.com">www.lgcstandards.com</a>
BIPEA/Francia	Contaminantes, aguas, residuos (Plaguicidas, metales, etc.)	<a href="http://www.bipea.org">www.bipea.org</a>
MOL LABS LTDA/Colombia	Aguas, Agua residual, alimentos (físicoquímicos)	<a href="http://www.mollabs.com">www.mollabs.com</a>
AOAC/USA	Alimentos (pesticidas)	<a href="https://www.aoac.org/scientific-solutions/proficiency-testing/">https://www.aoac.org/scientific-solutions/proficiency-testing/</a>

**Fuente:** Elaboración propia

Los laboratorios que participan en un ensayo de aptitud reciben una muestra identificada de manera individual, un protocolo y formatos para la captura de resultados o el acceso a un sistema para registrar los datos obtenidos en el análisis de la muestra, el cual debe realizarse dentro del periodo indicado para esta actividad.

En estos estudios la estabilidad para los elementos de ensayo es crítica. Es frecuente que los ítems viajen a otros países y permanezcan en aduana hasta su liberación en condiciones diferentes a las de un laboratorio. La homogeneidad y trazabilidad son la base para lograr resultados estadísticamente reproducibles; si el organizador se encuentra acreditado para esta actividad hay mayor certeza de su competencia. A continuación, se citan algunas posibles causas que pueden ocasionar un desempeño No satisfactorio en un ensayo de aptitud:

#### Errores analíticos

- Calibración de equipos de medición involucrados en la técnica analítica.
- Pureza y estabilidad de los materiales de referencia utilizados como controles internos.
- Imprecisiones de dilución, al momento de preparar las soluciones de trabajo, en los métodos que requieren de estándares de comparación para relacionar la señal analítica de la muestra a una concentración.
- Problemas instrumentales (software, longitud de onda, sistema óptico, etc.).
- Eliminación de interferencias.
- Experiencia del analista en la aplicación del método (errores sistemáticos o aleatorios).
- Incertidumbre (sobreestimada o subestimada).

#### Errores no-analíticos

- Cálculos
- Unidades

- Transcripción al formato de reporte de resultados.
- No considerar lo indicado en los protocolos del ensayo de aptitud.

Para la evaluación del desempeño de los laboratorios participantes se utiliza regularmente el puntaje z-score. De acuerdo con la norma ISO/IEC 17043, este permite evaluar el sesgo reportado por el participante con respecto al valor de referencia asignado para el ítem de ensayo utilizado, considerando la desviación estándar esperada para el ensayo de aptitud. También es utilizado el estadístico zeta que involucra el valor de incertidumbre cuando el valor asignado se asocia a la incertidumbre de su estimación. En este caso se considera que el laboratorio con resultado de un valor  $[\text{zeta}] \leq 2$  tiene un desempeño aceptable para la medición de ese mesurando. Si un laboratorio obtiene resultados no satisfactorios debe investigar la(s) causa(s) e implementar acciones para eliminar el problema y prevenir la recurrencia.

### 6.3. Conclusiones

El control de calidad puede tomar una gran variedad de formas, tanto dentro del laboratorio (interno) como entre el laboratorio y otros laboratorios (externo). Los tipos de control de calidad que adopte el laboratorio deben estar suficientemente soportadas para asegurar la validez de los resultados.

Al documentar implementar y mantener los requisitos para el aseguramiento de la validez de los resultados, el laboratorio y su personal corresponden a la confianza del cliente proporcionando resultados que han demostrado ser “adecuados a su propósito”.

### Referencias

- American Society for Testing and Materials. (2016). *ASTM D5673. Standard Test Method for Elements in Water by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry*. <https://www.astm.org/d5673-16.html>
- Association of Official Agricultural Chemists. (2013). *Guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and*

- botanicals*. <https://www.farmacia.ufmg.br/wp-content/uploads/2015/06/AOAC-Guidelines-for-Single-Laboratory.pdf>
- Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura. (2019). *CCA-YAC-CR-03/0. Criterios para la validación interna y verificación de métodos Físicoquímicos*. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS).
- Fajgelj, A., & Ambrus, A. (2000). *Guidelines for single laboratory validation of analytical methods for trace level concentrations of organic compounds. 2000-2010 analytical chemistry subject collection*. The Royal Society of Chemistry
- Food and Agriculture Organization / World Health Organization. (2023). *Codex Alimentarius Commission Procedural Manual*. <https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/cc5042en>
- Guajardo, J.A., & Mercader, F.E. (2005). *CNM-MRD-PT-030. Métodos analíticos adecuados a su propósito. Publicación técnica (3ª edición)*. Centro Nacional de Metrología.
- Instituto Mexicano de Normalización y Certificación AC. (2005). *NMX-CH-152-IMNC-2005. Metrología en química-Vocabulario*. Ciudad de México.
- Instituto Mexicano de Normalización y Certificación AC. (2010). *NMX-EC-17043-IMNC-2010/ISO/IEC17043:2010. Evaluación de la conformidad - Requisitos generales para los ensayos de aptitud*. Ciudad de México.
- Instituto Mexicano de Normalización y Certificación AC. (2018). *NMX-EC-17025-IMNC-2018-ISO/IEC17025:2017. Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración*. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/668831/NMX-EC-17025-IMNC-2018.pdf>
- International Organization for Standardization. (1994). *ISO/TC176/SC1. Quality management and quality assurance Vocabulary (2ª edición)*.
- Lipps, W., & Baxter, T. (2002). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (22th Edition)*. American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation.
- Morillas, P. (2016). *Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados (1ª ed.)*. Eurachem. Recuperado de [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org)

Secretaría de Economía. (07 de diciembre 2017). *DECLARATORIA de vigencia de la Norma Mexicana NMX-AA-051-SCFI-2016*. Diario Oficial de la Federación. [www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5464459&fecha=07/12/2016#gsc.tab=0](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5464459&fecha=07/12/2016#gsc.tab=0)

Secretaría de Economía. (16 de octubre 2015). *DECLARATORIA de vigencia de las normas mexicanas NMX-AA-115-SCFI-2015 y NMX-AA-143-SCFI-2015*. Diario Oficial de la Federación. [www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5411873&fecha=16/10/2015#gsc.tab=0](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5411873&fecha=16/10/2015#gsc.tab=0)

# Capítulo 7. Evaluación de la toxicidad en sistemas biológicos

*Claudia Alvarado Osuna<sup>1</sup>*

## Resumen

La evaluación de la toxicidad por exposición a xenobióticos es un tema de prioridad internacional dada la responsabilidad de los gobiernos para identificar y regular su presencia en el ambiente con fines de protección a la salud. Las evaluaciones incluyen un amplio espectro de pruebas tanto de cuantificación directa, pero también de análisis en sistemas biológicos, estudios de los mecanismos de toxicidad, colección de información sobre dosis de exposición y acumulación y evaluación de riesgos poblacionales. Con el fin de obtener información útil para la toma de decisiones y la construcción de políticas públicas, es menester el fortalecimiento del área académica y científica, pero también la generación de espacios de diálogo entre academia y grupos parlamentarios. Es posible apoyarse de esquemas propuestos por organismos internacionales como la OMS, a fin de avanzar en la construcción de mecanismos para vigilancia y monitoreo de ambientes saludables para la población.

**Palabras clave:** toxicología, sistemas biológicos, modelo toxicológico, xenobiótico.

---

<sup>1</sup> Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. Camino Arenero 1227, El Bajío, Zapopan Jal. CP 45019. calvarado@ciatej.mx

## 7.1 Introducción

Los xenobióticos son sustancias ajenas a los organismos e incluyen pesticidas, cosméticos, compuestos químicos industriales y contaminantes del medio ambiente. La toxicología estudia la exposición de los organismos a xenobióticos, y en su sentido más amplio abarca desde la investigación básica sobre identificación del mecanismo de acción, hasta la evaluación e interpretación de pruebas para determinar el efecto dañino de dichos compuestos (Holmberg et al., 1998).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que el 23% de las muertes a nivel mundial se deben a factores ambientales modificables como la exposición a sustancias químicas tóxicas (Prus-Hustun et al., 2016). La evaluación del riesgo a la salud por exposición a sustancias químicas requiere un escrupuloso trabajo de identificación de las causas, compilación e integración de información sobre toxicidad de compuestos, nivel de exposición y efectos adversos. La evaluación de la toxicidad a su vez puede llegar a ser muy controversial tanto por las extrapolaciones de resultados provenientes de modelos *in vitro* y modelos animales hacia el humano, así como por las implicaciones éticas del uso de seres vivos para su evaluación. El presente capítulo enumera la gama de evaluaciones toxicológicas que se dispone para su análisis.

Las estimaciones de los niveles de toxicidad para compuestos de exposición crónica derivan del “nivel sin efectos adversos observados” (NOAEL) y a partir de este se han desarrollado diferentes índices de medición como por ejemplo: el “consumo diario aceptable” (ADI), el “consumo provisional tolerable semanal” (PTWI) y el “consumo tolerable diario” (TDI). El PTWI es un cálculo derivado de la multiplicación de la concentración en la que se presenta en un alimento, por la cantidad de alimento ingerido y el número de veces que se consume semanalmente, la cifra derivada es contrastada con una referencia base y se expresa en porcentaje en referencia a esta (Speijers, 1999). La OMS ha publicado listados de límites para aditivos alimentarios y compuestos de ingreso vía oral que se utilizan como base para determinar la toxicidad (WHO, 2023) y realiza constantemente actualización de las

recomendaciones para armonizar los conceptos sobre toxicidad de xenobióticos y su evaluación de riesgos (OMS, 2022). La toxicología estudia los mecanismos celulares y fisiológicos mediante los cuales los compuestos ejercen daño en los organismos y cómo llegan esos xenobióticos al medio ambiente, para lo cual se apoya de múltiples metodologías. Inicialmente se procura la detección del compuesto o sus metabolitos en alimentos, agua, tierra, aire o ambiente o bien el efecto de su presencia mediante la asociación con los potenciales daños, no solo agudos, sino crónicos acumulables. Esta información será posteriormente multiplicada en base a tiempo de contacto, concentración y mecanismos de toxicidad, a fin de establecer los riesgos y para lo cual la toxicología hace uso de evaluaciones biológicas.

## **7.2 Clasificación de evaluaciones de toxicidad en modelos biológicos**

Entre la gran gama de métodos para la evaluación de estudios de toxicidad en medios biológicos, una clasificación general es la siguiente:

a. Test *in vitro*

• Mutagenicidad en células procariotas

El fundamento es la evaluación de la capacidad de un compuesto para ocasionar mutaciones en el material genético de un organismo. Para el caso del Test de Ames, el más empleado a nivel internacional, se emplea *Salmonella typhimurium* con una mutación, y en este caso se mide la reversión de dicha mutación como potencial mutagénico. También están disponibles ensayos utilizando *E. coli* como microorganismo indicador. Cuando el ensayo es llevado apropiadamente con sus controles es un método preciso y reproducible; sin embargo, se reconoce que para extrapolaciones cuantitativas solo es apropiado para un tercio de los compuestos evaluados (Hodgson E, 1987; Barruecos et al., 1999).

- Mutagenicidad en células eucariotas

Este tipo de evaluaciones se realiza utilizando segmentos de plantas (Trades-cantia) o bien líneas celulares. En general ofrecen mejor información que la simple cuantificación y las evaluaciones en procariontes, ya que el efecto se manifestará en células compartimentalizadas y con organelos; sin embargo, su alcance tiene limitantes en la extrapolación a organismos superiores. Las evaluaciones en líneas son útiles para detección de toxicidad directa, pero incapaces de evaluar la activación de tóxicos, porque el metabolismo de las líneas celulares carece de las rutas enzimáticas de organismos complejos e incluso de tejidos, debido a su diferenciación celular (Villalobos et al., 1990).

El ensayo de micronúcleos en células animales es otro muy empleado como medida de la inestabilidad genética inducida por agentes tóxicos y existe una amplia diversidad de líneas a emplearse, como linfocitos de origen murino y humano, células de mucosas humanas y líneas celulares de cáncer de mamíferos (Zalacain et al., 2005; Torres & Ramos 2013).

La evaluación de daño cromosómico mediante mutagenicidad del gen timidín-cinasa en células de linfoma de ratón L5178Y tiene más recientemente una versión para evaluar en células de linfoma humanas TK6. El ensayo se basa en la aparición de células con mutaciones que le confieren capacidad de resistir y formar colonias en presencia de bromodeoxiuridina, azaguanine o tioguanine, compuestos normalmente tóxicos. Este ensayo es de los más extendidos internacionalmente y está incluido en las baterías de genotoxicidad para la toma de decisiones con propósitos regulatorios, se emplea para detectar una amplia gama de daños genéticos, desde mutaciones puntuales hasta alteraciones cromosómicas (Cobb et al., 1989; Chen et al., 2022).

b. Test *in vivo*:

- Estudios cromosómicos en modelos animales

Estos estudios incluyen los realizados en mosca *Drosophila* y las aberraciones cromosómicas en ratón. Aquí se incluye organismos completos, pero las

principales desventajas al momento de extrapolar son las enormes diferencias entre sistemas hormonal, metabólico e inmunológico, así como la diferencia entre la naturaleza, especificidad e inducibilidad del citocromo P-450 entre las especies (Barruecos et al., 1999; Marín et al., 2022).

- Estudios de letalidad

Evaluaciones que entran en esta clasificación se encuentran tasa de mortalidad y estudios patológicos postratamientos agudos realizados en animales vivos. La dosis letal 50 (LD50) y la concentración letal ambiental 50 (LC50) son consideradas pruebas de toxicidad aguda. (Barruecos et al., 1990).

- Efectos ecológicos en laboratorio

Otro tipo de estudio se lleva a cabo bajo condiciones controladas seleccionando mamíferos, aves, peces e invertebrados a fin de detectar los efectos en tejidos específicos o efectos fisiológicos en laboratorio. Los modelos de estudio son amplios y pueden emplearse animales convencionales o con manipulación de genes a fin de estudiar rutas metabólicas específicas y mecanismos de acción de los xenobióticos, bajo condiciones controladas. Se incluyen aquí evaluaciones como irritación en ojos, sensibilización dérmica, estudios de fertilidad y estudios de teratogenicidad en animales (Gong et al., 2005; Garban et al., 2005; Macías-Macías et al., 2020).

Las evaluaciones subcrónica, crónicas de compuestos sobre la actividad diversa como toxicidad, potenciación, evaluación del metabolismo, toxicocinética y afectaciones a la conducta se encuentran incluidas en este apartado (Barruecos et al., 1990).

- Exposición ambiental in situ en vida silvestre y en humanos

Estudios realizados en los sitios de exposición y donde se realiza la cuantificación del xenobiótico implicado tanto den mamíferos, aves, peces o invertebrados para calcular la bioacumulación en tejidos específicos o sus efectos fisiológicos. En este enfoque se realizan estimaciones sobre la acumulación y movilidad de los compuestos dentro de los ecosistemas a través

de los factores de bioconcentración. En México se han reportado estudios en metales pesados en peces que se encuentran en cuerpos de agua contaminados en los cuales se estudia de manera transversal o longitudinalmente la bioacumulación en diferentes órganos en organismos que se introducen y se siguen dentro del ambiente (Torres et al., 2014; Alvarado et al., 2021).

Todos los estudios finalmente tienen el objetivo de comprender cómo afecta la presencia de xenobióticos en el ambiente y cómo llega al humano. Se han reportado estudios de exposición directa en humanos, en los cuales se analizan muestras de sangre, orina y cabello (Flores et al., 2012; Trasande et al., 2021).

- El reto de la integración de información

Existen numerosos factores que afectan la respuesta de un organismo frente a un xenobiótico en concomitancia con los niveles de su presencia. Las concentraciones de compuestos a niveles crónico o subcrónico no letales obliga a realizar estudios integrales a dosis “bajas”. La toxicocinética estudia los mecanismos de transformación, inactivación, distribución, detoxificación y excreción a nivel tejido y a nivel de órganos. Por tal motivo, muchos de los estudios son llevados a cabo en diferentes tejidos como hígado, riñón y pulmón que son los principales órganos depuradores de animales superiores. En paralelo, muchos de los efectos no detectables a corto plazo se manifiestan en la función reproductiva, en la descendencia, en la reducción de la respuesta inmune y en disfunciones en los comportamientos asociados a la memoria, la defensa, la limpieza y el aprendizaje (Timbrell JA, 2009).

Los biomarcadores de exposición son otro tipo de enfoque en el que se analizan xenobióticos y que se utilizan para conocer el nivel de la exposición en humanos en todo tipo de ambientes incluido el laboral. A toda la información deben sumarse los estudios epidemiológicos y las relaciones estructura química-actividad biológica que son utilizados para evaluar sujetos o poblaciones susceptibles, la exposición profesional y las alertas centinela de compuestos ambientales.

### 7.3 Normatividad y Vigilancia

En virtud de la enorme cantidad de compuestos químicos que las industrias producen y la amplia variedad de mecanismos que tienen estas para ocasionar daño, es responsabilidad de los gobiernos identificar y regular su presencia en el ambiente con fines de protección a la salud de las poblaciones.

La información para construcción de legislaciones que evalúen y vigilen las fuentes de emisión de xenobióticos se encuentra construida de muy diversas formas en cada país. En los Estados Unidos (EE.UU.) la vigilancia está distribuida en cuatro agencias: el ministerio de Alimentos y Drogas (US-FDA), la Agencia de Protección al Ambiente (EPA), la Agencia de Higiene y Seguridad en el Trabajo (OSHA) y la Comisión de Seguridad del Consumo de Productos (CPSC). Estados Unidos da especial atención a la identificación de neurotoxicidad y toxicidad en la reproducción, dados los antecedentes de exposiciones profesionales y ambientales a neurotóxicos como plomo, mercurio o pesticidas.

A manera de ejemplo se muestran los cuatro niveles de exposición a compuestos en contacto incidental con alimentos que no son ni alimento ni ingrediente y denominadas como sustancias en contacto con alimentos (FCS por sus siglas en inglés) que señala la agencia Norteamericana de Alimentos y Drogas (US-FDA). Estas sustancias pueden ser plastificantes, aditivos, grasas de equipos y maquinaria, desinfectantes en bandas de la línea de producción, entre otros. Para la evaluación de la toxicidad de FCS debe estimarse una dosis de exposición por persona por día. El riesgo de exposición y de generación de efectos tóxicos incrementa conforme crece la dosis de exposición.

La FDA ha establecido cuatro niveles de exposición a FCS y en cada uno se solicitan diferentes estudios para verificar la toxicidad (FDA, 2022):

- Exposiciones acumulativas  $< 0.5$  ppb o  $< 1.5$   $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$ . Solo respaldo de la seguridad mediante información documental de la estructura química del compuesto, reportes de toxicidad y potencial carcinogénico del compuesto.

- Exposición acumulativa  $> 0.5$  ppb  $< 50$  ppb o  $> 1.5$   $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$   $< 150$   $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$ . En este caso la batería de ensayos solicitados es in vitro: Evaluación de genotoxicidad mediante ensayos de mutagenicidad en bacterias, daño cromosómico en células de mamífero o mutación del gen timidín-cinasa en células de linfoma de ratón.
- Exposiciones acumulativas  $> 50$  ppb y  $< 1$  ppm o  $> 150$   $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$  y  $< 1$  ppm. Se requiere alguno de los ensayos de genotoxicidad in vitro como los ya mencionados y adicionalmente evaluar in vivo aberraciones cromosómicas en roedores.
- Exposiciones acumulativas  $> 1$  ppm o  $> 3$  mg/persona/día. Realizar una “petición sobre análisis” de FCS (FAP por sus siglas en inglés) directamente a la FDA para su evaluación por expertos.

Durante los años 2000 a 2006 fueron evaluados 383 FCS, encontrándose que el 85% de ellos tuvieron una exposición menor a 150  $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$  (FDA, 2022).

En el caso de Japón, el gobierno es responsable de la identificación del peligro de sustancias que son conocidas, mientras que las empresas que introducen nuevas sustancias al mercado se hacen responsables de la identificación del peligro de dichas sustancias. La aplicación de la ley queda a cargo de los ministerios de Salud y Bienestar y el de Comercio Internacional e Industria. El ministerio de Medio Ambiente puede emitir opiniones en algunos casos. En los parámetros de ensayo para la ley de Japón se encuentran el esquema similar al mencionado para la FDA con la adición de evaluaciones de biodegradación en lodo activado, la de bioacumulación en carpas por ocho semanas y la administración en dosis repetida durante 28 días en ratas (Silbergeld EK, 1998).

En México la vigilancia sobre productos químicos, toxicidad y dosis de aplicación está distribuida en tres secretarías dependiendo del sector y ámbito de sus atribuciones. La Comisión Federal para Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), organismo desconcentrado de la Secretaría de Salud, se encarga de evaluar la seguridad de fármacos y plaguicidas. La Secretaría de Medio

Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) está a cargo de la vigilancia de los Residuos Peligrosos, así como de la información sobre toxicidad de los plaguicidas utilizados y su impacto en el medio ambiente. Y el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, dentro de la Secretaría de Desarrollo Rural (SADER), está encargada de la verificación y opinión técnica sobre la efectividad de los insumos fitosanitarios como los plaguicidas y los nutrientes vegetales empleados en la producción agrícola. Aunque existen normatividades, se observan vacíos en el entramado legal y fragmentación de funciones, lo que entorpece la actividad de vigilancia de la toxicidad, limitándose a la revisión de la información que remite el productor o el importador.

Resulta un reto enorme contar con estrategias de identificación, cuantificación y evaluación de toxicidad y posteriormente de riesgos de exposición a xenobióticos. Para este fin la OMS ha publicado un “Kit de herramientas para la evaluación de riesgos a peligros químicos que afectan a la salud humana”. De manera global se establece que el “análisis de riesgos” debe incluir tres aspectos: 1) evaluación de riesgo, 2) gestión del riesgo y 3) comunicación del riesgo (OMS, 2022).

La sola evaluación de riesgo a su vez consta de cuatro pasos: 1) identificación de peligros, b) descripción de peligros, c) evaluación de exposición y d) descripción de riesgos. Este esquema constituye una visión panorámica que transita desde la detección, medición y evaluación de la toxicidad de los compuestos, los determinantes que provocan su emisión al medio ambiente y hasta los procesos de usos de sustancias, transporte, transformación, destino, niveles de exposición, mecanismos de acción y hasta la cuantificación del riesgo (OMS, 2022). Como se observa un reto monumental que requiere resolverse por beneficio de la salud de las poblaciones.

Es tarea de los académicos y científicos al servicio del gobierno desarrollar métodos confiables que proporcionen conocimiento para la toma de decisiones en materia de toxicidad hacia personas, poblaciones y medio ambiente. Evidentemente es un tema delicado que requiere una inversión económica y de capital humano nada despreciable.

## 7.4 Conclusiones

Es responsabilidad de los gobiernos establecer los mecanismos para el monitoreo, identificación y vigilancia de los xenobióticos potencialmente tóxicos para la población. En virtud de la enorme cantidad de compuestos químicos que las industrias producen y la amplia variedad de mecanismos que tienen éstos para ocasionar daño, resulta todo un reto dar cumplimiento con esta función.

La toma de decisiones requiere de la integración de estudios documentales sobre los compuestos y su análisis, evaluación de su aparición en el medio ambiente, estimación de los riesgos para las personas y poblaciones y gestión y comunicación de dichos riesgos. El área científica a cargo de las evaluaciones debe estar fortalecida con conocimientos y capacidades para garantizar su confiabilidad.

La formación de grupos de expertos con capacidad para evaluar, interpretar y extrapolar los resultados en el contexto de nuestro país es una apuesta que debe realizarse. El primer paso es generar redes que optimicen la información existente y generen mayor conocimiento, así como la generación de espacios para el diálogo entre académicos expertos y funcionarios gubernamentales.

## Referencias

- Alvarado, C., Cortez-Valladolid, D.M., Herrera-López, E., Godínez, X., & Ramírez, J.M. (2021). Metal bioaccumulation by carp and catfish cultured in Lake Chapala, and weekly intake assessment. *Applied Sciences*, *11*,6087.
- Barruecos, C., Guadaño, A., Caballo, C., Herrera, A., Valcarce, E., de la Peña, E. (1999). Evaluación mutagénica y genotóxica de los productos químicos En de la Peña E, Burguete I, & Guadaño A. (eds.) *Evaluación mutagénica y genotóxica* (271-288). Dirección General de Enseñanza Superior e Investigación Científica, Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental.

- Chen, T., Dusinska, M., & Elespuru, R. (2022). Thymidine Kinase +/- mammalian cell mutagenicity assays for assessment of nanomaterials. *Frontiers in Toxicology*, 4, 864753. DOI:10.3389/ftox.2022.864753.
- Cobb, R.R., Martin, J., Korytynski, E., Monteith, L., & Hughes, T. J. (1989). Preliminary molecular analysis of the TK locus in L5178Y large- and small-colony mouse lymphoma cell mutants. *Mutation Research Letters*, 226, 253-258. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(89\)90078-X](https://doi.org/10.1016/0165-7992(89)90078-X)
- Gobierno de México. (s.f.). *Marco jurídico de la COFEPRIS*. <http://transparencia.cofepris.gob.mx/index.php/es/marco-juridico#:~:text=La%20Comisi%C3%B3n%20Federal%20para%20la,y%20dem%C3%A1s%20disposiciones%20jur%C3%ADdicas%20aplicables>
- U. S. Food & Drug Administration. (2021). *Guidance for Industry: Preparation of Food Contact Substance Notifications (Toxicology Recommendations)*. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-preparation-food-contact-substance-notifications-toxicology-recommendations>
- Flores, R., Rico, E., Núñez, J.E., García, E., Carrizales, L., Illizaliturri, C., & Díaz-Barriga, F. (2012). Exposición infantil al plomo en sitios contaminados. *Salud Pública de México*, 54, 383-392.
- Gârban, G., Ghibu, G.D., Avacovici, A., Baltă, C., Hădărugă, N.G., Ciurlea, S.A., Ahmadi-Vincu, M., Velciov, A.B., & Gârban, Z. (2011). Animal models used in the investigation of xenobiotics of food interest and pharmaceutical interest. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 17(1), 98-104. [https://journal-of-agroalimentary.ro/admin/articole/89601L18\\_Zeno\\_Garban\\_Vol.17\(1\)\\_2011.pdf](https://journal-of-agroalimentary.ro/admin/articole/89601L18_Zeno_Garban_Vol.17(1)_2011.pdf)
- Gong, H., Sinz, M. W., Feng, Y., Chen, T., Venkataramanan, R., & Xie, W. (2005). Animal models of xenobiotic receptors in drug metabolism and diseases. *Methods in enzymology*, 400, 598-618. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(05\)00034](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(05)00034)
- Hodgson, E. (1987). Measurement of Toxicity. En Hodgson E. & Levi P. E. (eds.) *Modern Toxicology* (pp. 233-285). Elsevier.

- Holmberg, B., Hogberg, J., Johanson, G. (1998). Principios generales de la Toxicología En: Stellman, J.M. (ed.) *Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo* (pp. 33). Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales.
- Macías-Macías, J.O., Tapia-Rivera, J.C., De la Mora, A., Tapia-González, J.M., Contreras-Escareño, F., Petukhova, T., Morfin., N, & Guzman-Novoa, E. (2020). Nosema ceranae causes cellular immunosuppression and interacts with thiamethoxam to increase mortality in the stingless bee *Melipona colimana*. *Scientific Reports*, *10*,17021. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74209-3>.
- Marín, L.F., Gayoso, E., Rivarola, C., Nuñez, C. (2022). Evaluación mutagénica de tres herbicidas a base de glifosato empleando el test de mutación y recombinación somática en *Drosophila melanogaster*. *Reportes Científicos de la FACEN*, *13*,41-50.
- Organización Mundial de la Salud. (2022). *Kits de herramientas de la OMS para la evaluación de riesgos que afectan a la salud humana: peligros químicos (2a edición)*. International Programme on Chemical Safety. <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1416422/retrieve>
- Gobierno de México. (s.f.). *Permiso de importación de plaguicidas y sustancias tóxicas sujetos a control por SEMARNAT*. [www.gob.mx/tramites/ficha/permiso-de-importacion-de-plaguicidas-y-sustancias-toxicas-sujetos-a-control-por-semarnat/COFEPRIS732](http://www.gob.mx/tramites/ficha/permiso-de-importacion-de-plaguicidas-y-sustancias-toxicas-sujetos-a-control-por-semarnat/COFEPRIS732)
- Pruss-Ustun, A., Wolf, J., Corvalán, C., Bros, R., Neira, M.P. (2016). *Preventing disease through healthy environments: a global assessment of the burden of disease from environmental risks*. Editorial Vivien Stone. <https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=HQ8LD-gAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Preventing+disease+through+healthy+environments+WHO&ots=QGZFjBhHdp&sig=X6AfgUE1ZEs-vOEoxx5uD80fNE0#v=onepage&q=Preventing%20disease%20through%20healthy%20environments%20WHO&f=true>
- Silbergeld, E.K. (1998). Toxicología En: Stellman JM. (ed.) *Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo* (pp. 331-338). Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales.

- Speijers, G.J.A. (1999). Precision of estimates of an ADI (or TDI or PTWI). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 30(2), 87-93. <https://doi.org/10.1006/rtph.1999.1331>
- Timbrell J.A. (2009). Factors affecting toxic responses: Metabolism En Timbrell, J.A. (ed.) *Principles of Biochemical toxicology (4a ed.)* (pp. 75-126). Informa Healthcare.
- Torres, O. & Ramos, M. A. (2013). Utilidad de las pruebas de micronúcleos y anomalías nucleares en células exfoliadas de mucosa oral en la evaluación de daño genotóxico y citotóxico. *International Journal of Morphology*, 31(2), 650-657. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/ijmorphol/v31n2/art50.pdf>
- Torres, Z., Mora, M. A., Taylor, R. J., Álvarez-Bernal, D., Buelna, H. R., & Hyodo, A. (2014). Accumulation and hazard assessment of mercury to waterbirds at Lake Chapala, Mexico. *Environmental science & technology*, 48(11), 6359–6365. <https://doi.org/10.1021/es4048076>
- Trasande, L., Cortes, J.E., Pandrigan, P.J., Abercrombie, M.I., Bopp, R.F., Cifuentes, E. (2010). Methylmercury exposure in a subsistence fishing community in Lake Chapala Mexico: an ecological approach. *Environmental Health*, 9,1. doi:10.1186/1476-069x-9-1.
- VillalobosPietrini, R., FloresMárquez, A. R., Sánchez, M., & GómezArroyo, S. (1990). Micronuclei induced in Tradescantia by arsenic. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 6(1), 75-78. <https://www.redalyc.org/pdf/370/37060106.pdf>
- World Health Organization. (s.f.). *Evaluations of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JEFCA)*. Recuperado de <https://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/Home/>
- Zalacain, M., Sierrasesúмага, L., & Patiño, A.. (2005). El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 28(2), 227-236. [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1137-66272005000300007&lng=es&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272005000300007&lng=es&tlng=es).



**GOBIERNO DE  
MÉXICO**



**CONAHCYT**  
CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES  
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS



### Revisión y dictaminación

El contenido de la presente guía es producto de un trabajo profesional de recopilación, síntesis e integración de información en un esfuerzo por transmitir los principios básicos de calidad que deben reunir los laboratorios analíticos en el campo de la toxicología.

Se convocó a especialistas de diferentes instituciones para realizar una revisión imparcial y desinteresada, con el objetivo de garantizar la calidad, confiabilidad, integridad y consistencia de la información. Concluido el trabajo de revisión, se emitió un dictamen y se afinó el material.

Agradecemos el apoyo invaluable que brindaron los revisores:

- Dra. Leticia Yáñez Estrada. Profesora-Investigadora de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Dr. Juan Carlos Fernández Macías. Investigador por México de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Dra. Fabiola Lara Espinosa. Investigadora por México del PRONACES Agentes tóxicos.
- M.C. Suhey Ponce Hernández. Tecnóloga del CIATEJ-Subsede Noreste.
- Dra. Brenda Berenice Jurado Manzano. Profesora de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Dr. Kelvin Saldaña Villanueva. Investigador Asociado del PRONACES Agentes tóxicos.

**A t e n t a m e n t e**

**Dr. Octavio Gaspar Ramírez**  
Editor

**Dra. Claudia Alvarado Osuna**  
Editora

Los Programas Nacionales Estratégicos (PRONACES) son una iniciativa del nuevo Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), que tiene como propósito organizar y articular los esfuerzos de investigación en torno a problemáticas nacionales concretas. Entre estos se encuentra el PRONACES Agentes Tóxicos y Procesos Contaminantes, que tiene entre sus objetivos brindar atención inmediata a los problemas socio-ambientales y sanitarios derivados de la exposición cotidiana de compuestos tóxicos en asentamientos humanos. Debido a su complejidad, el abordaje exige la articulación de diferentes capacidades incluyendo academia, gobierno y sociedad organizada.

Uno de los retos principales en la investigación e incidencia es la carencia de información epidemio-toxicológica, la falta de capacidades analíticas, pero también la necesidad de reforzar las capacidades existentes con estándares con el fin de generar datos precisos, de calidad y útiles para la toma de decisiones y la construcción de políticas ambientales y de salud. Es por ello que el PRONACES Agentes Tóxicos y Procesos Contaminantes pone a disposición la primera edición de la presente Guía elaborada por especialistas del área analítica que considera el estándar internacional ISO/IEC-17025. La Guía muestra un panorama general sobre los requisitos que deben regir a los laboratorios de ensayo y/o de investigación para generar resultados confiables y de alta calidad.

La confiabilidad analítica es una oportunidad de mejora para el reconocimiento internacional de las competencias técnicas de los laboratorios de investigación en México, pero también una necesidad demandada por gobierno y sociedad, en cumplimiento a garantizar el derecho humano a la ciencia y el acceso a información confiable, en pro de la justicia ambiental.