

T7: ASSEGURAMENT DE LA QUALITAT:

Validació de mètodes analítics. **QC:** control de qualitat. **QA:** assegurament de la qualitat:

Activitats del laboratori s'han de realitzar en condicions organitzades que garanteixin una feina sota control.

Política de qualitat: assegura/garanteix unes bones pràctiques de laboratori per tal de disminuir l'error dels resultats analítics.

Més enllà de l'elecció del mètode correcte, conceptes clau:

- **Traçabilitat:** els resultats analítics s'han d'associar amb valors de referència, estàndard.
 - Comparar amb bones referències. Cadena ininterrompuda de comparacions
 - Mantenir evidències, documentar les accions que es realitzen.
- **Validació de nous mètodes** analítics: accions que permeten confiar que els resultats obtinguts amb el mètode nou s'han de comparar amb el mètode oficial o l'original de la seva adaptació.
- **Incertesa:** l'error global de les contribucions aleatòries i sistemàtiques ha de ser avaluat. Són dades reals o no. Fonts de diferència.

Per poder obtenir els resultats fiables hi ha eines essencials:

Materials de referència: matriu, diferents laboratoris, estabilitat.

Comparació interlaboratori... Assegurar un control intern de la qualitat, més una comparació externa per assegurar la qualitat.

Traçabilitat

Comparació: amb referències establertes. Propietats dels resultats mesurats d'un estàndard mitjançant la relació que poden tenir amb referències establertes. A través d'una interrompuda cadena de comparacions, Cadena de traçabilitat, amb la qual es calcula la incertesa

Documentació: històrica dels resultats. Us d'accions registrades, evidències i identificacions.

Traçabilitat de resultats analítics: traçabilitat d'estàndards

Traçabilitat instruments

Exemple: mesura de masses. Balances es calibren empesos certificats referents una massa estàndard. Treballem amb una balança analítica perquè té un error aleatori inferior. L'estàndard espanyol és 1 kg de l'estàndard internacional a sÈvres.

Referents analítics:

Patrò: és un material que es fa servir com a referència per tal de calibrar instruments, i contrastar i garantir la traçabilitat de les mesures.

Material de referència: té una o més propietats amb un valor homogeni, estable i ben establert que permet el seu ús per tal de calibrar un instrument, avaluar un mètode o assignar valors a altres materials. Es fan servir en controls la quantitat qualitat. QMC.. Serveix per estandarditzar altres materials. És analitzat per diferents laboratoris. Sempre conté la matriu, és mirar el factor de recuperació.

Material de referències certificat: CRM Amb un certificat de garantia que el valor central d'un o més paràmetres han sigut establerts d'acord amb traçabilitat i amb la corresponent incertesa per a un nivell de confiança. Valors certificat sovint s'originen per un acord de laboratoris experts set o vuit

RM (QCM): controls estadístics, mateix laboratori diferent temps. Es fan en absència d'un CRM. Interlaboratori.

CRM: validesa de mètodes, avaluació d'incertesa, calibrar instruments i materials.

Producció de materials de referència:

1. Estudis de variabilitat nou anàlits i matrius
2. Selecció del material de referència ex. matriu, analit, espècies químiques.
3. Preparació del material
4. Estudi d'homogeneïtat
5. Estudis d'estabilitat
6. Assignar valor (informe).

Informes:

- Nom i codi del material
- Data de preparació i de caducitat

- Descripció del material
- Mètode que es va fer servir → numero de tècniques que s'han emprat
- Valors certificats: mitjana i incertesa
- Irm: anivell d'Europa
- Possibles camps d'aplicació
- Condicions de transport i emmagatzematge
- Com manipular-lo
- Resultats d'homogeneïtat i estudis d'estabilitat
- Referències.

Validació de mètodes: processos sistemàtics a nivell de laboratori del qual mostra que el mètode analític té les característiques adequades per una aplicació determinada.

Mètode pot ser vàlid només en unes condicions donades.

Extensió vàlida: depèn del mètode i de les dades derivades

S'estableixen paràmetres de qualitat

Es fan al rang de concentracions adients al mètode.

Validacions de totes les matrius on es pot aplicar el mètode.

AVALUACIÓ I OPTIMITZACIÓ DE : VERACITAT, PRECISIÓ, LOD i LOQ, RANG DE CONCENTRACIONS DE TREBALL, SELECTIVITAT I ESPECIFICITAT, ROBUSTESA.

AVALUACIÓ DE LA VERACITAT.

El paràmetre es igual volem conèixer el valor. Donar una dada veraç es l'objectiu de l'anàlisi. La veracitat normalment s'associa a error sistemàtic però també pot variar per un error aleatori.

1. Ús de materials de referència certificats → millor forma per fer-ho.

- Una millor aproximació quan el CRM apropiat està disponible.
- El CRM s'analitza amb el mètode que s'ha de validar (replicats).
- Comparació dels resultats obtinguts amb els valors certificats (test t)

→ Limitacions: nombre de CRMs disponibles (matrius, espècies, nivell de concentració).

2. Comparació de mètodes: comparació dels resultats obtinguts amb el mètode que s'ha de validar i els que venen del mètode de referència, normalitzat, oficial, estandarditzat. Quan no disposes de materials de referència.

- Ús de mètodes estàndards, : AOAC, EPA, Food Chemical Codex, farmacopeïes, UNE-EN ISO...)
- Comparació basada en el test t

→ El mètode de referència s'ha d'implementar prèviament (i validar) al laboratori.

→ Errors sistemàtics no han d'afectar d'igual manera als dos mètodes: s'han d'evitar.

3. Estudis de recuperació amb mostres fortificades: afegir

Limitacions: és una mostra que no hi ha anàlit d'interès. I afegim una concentració coneguda d'anàlit. Simular de la millor forma la mostra que hem d'analitzar.

→ L'anàlit addicionat no s'ha de comportar d'una manera similar a l'anàlit original present a la mostra: com la fortificació es duu a terme és el factor més significat per ser examinat.

→ Es requereixen **blancs** de matriu.

A mida que la matriu es més complicada, com fortifico la mostra esdevé cabdal.

AVALUACIÓ DE LA PRECISIÓ: A diferents nivells de compromís.

1. **Repetibilitat:** mateix mètode, mateixa matriu, mateix laboratori, mateixes condicions de treball (reactius, equipaments, analista), intervals petits de temps (mateixa sessió de treball). RSD_r
No s'accepta la desviació estàndard de les rèpliques. → passar a reproductibilitat intermitja.
2. **Reproductibilitat intermitja** (mateix laboratori): mateix mètode, mateixa matriu, mateix laboratori, diferents condicions de treball (reactius, equipaments, analista), intervals llargs de temps (diferents dies).

3. **Reproductibilitat** (Entre laboratoris): mateix mètode, mateixa matriu, diferents laboratoris. Informació s'ha d'obtenir a través d'exercicis d'intercomparació. RSD_R
- Influència** màxima de factors que afecten la variabilitat aleatòria del mètode.
- Precisió s'ha d'avaluar a concentracions diferents, amb l'interval de concentració del mètode. No podem descartar l'error sistemàtic.

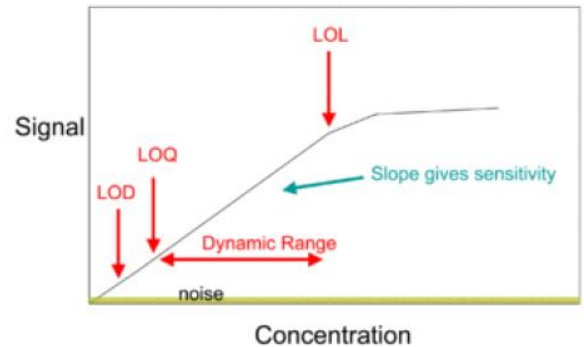
LÍMITS DE DETECCIÓ I QUANTIFICACIÓ

- LOD i LOQ han de ser comprovats experimentalment.

Interval de concentració de treball

Interval lineal:

- És el pendent constant per a tot l'interval de concertació objectiu?
- Hem de modificar l'estratègia de calibratge o model?



Selectivitat (Especificitat) i robustesa:

Selectivitat: extensió de les interferències causades per altres substàncies.

Especificitat: l'anàlit és l'única espècie responsable de la senyal analítica. Poques vegades.

→ examinar els efectes de matriu i interferències.

Robustesa: habilitat del mètode de no ser afectat per petites variacions en les condicions d'operació.

- Selecció de factors que s'han d'avaluar: pH, [x], reactius, matriu
- Tractament estadístic dels resultats (ANOVA, test t)

Quin factor afecta i quin factor no afecta.

CONTROL DE QUALITAT INTERN: bones pràctiques de laboratori

- **Control de qualitat:** accions internes i externes compromeses a complir els requeriments per tal d'assegurar la qualitat dels resultats.
- **Control de qualitat intern:** una vegada el mètode es valida, la qualitat dels resultats s'ha de garantir al llarg del temps:
 - Estratègies específiques per a anàlisi de traces
 - Anàlisi de blancs
 - Anàlisi de control i mostres cegues
 - Gràfics de control: informen si mètode està validat i sota control o no

Anàlisi de traces:

Concentració d'anàlit <0,01% (100 ppm)

Riscs i amenaces:

- Contaminació de la mostra i pèrdua d'anàlit durant el tractament de la mostra.
- Efectes de matriu en la determinació de la mostra
- Concentracions pròximes o inferiors que els límits de quantificació.

Es requereix:

- Preconcentració i eliminació d'interferències
- Mesures preventives en la conservació i tractament de la mostra

FONTS DE CONTAMINACIÓ

- Rt afegits
- Ambient de treball
- Contaminació creuada

Fons de pèrdues:

- Adsorció/difusió a les parets del contenidor
- Volatilització
- Fotodegradació
- Bio)químiques reaccions

Qualitat del reactiu: pur, analític, suprapur

Us de filtres HEPA!! Laminar flow cabinets, us d'acer inoxidable, orgànic compostos.

Contenidors i materials: plàstic, polietileno, polipropilè, teflon: org i inor

Congelar estades curtes.

Us de blancs obligatori.

Fortificar: analiti de química interna al meu (patr intern) per corregir resultats i quantificar pèrdues

Mostres de control

- Analitzades periòdicament
- Característiques similars a les mostres que s'analitzaran
- Tenir prou quantitat disponible per tal d'analitzar-la al llarg del temps. QCM. S'acaba la correlació temporal amb el temps.

Controls cecs: exactament la mateixa mostra que les control

- Mostres de composició desconeguda excepte per la persona que la sotmet a l'anàlisi. Son processades de la mateixa manera que les mostres problema. L'analista pot no saber el seu ús per al control de qualitat

GRÀFICS DE CONTROL

Per veure d'una forma molt intuïtiva i molt ràpida per prendre decisions si el mètode funciona.

Preparació de gràfiques: es basa en un valor central i unes gràfiques de dispersió.

CRM: té un valor central i un valor de dispersió. Que em permet saber si la dada que obtinc es igual al valor central i l'error es aleatori o hi ha una tendència sistemàtica al llarg del temps. També hi ha una mostra de control he d'establir el valor central i la desviació analitzada 10,15 vegades la mateixa mostra.

Límits de control: que estableixo per validar el mètode, equilibri entre error alfa i beta. El valor obtingut es igual accepto H0 error beta, o rebutjo H0 error alfa.

DIAGRAMA DE ONTROL SENZILL. SHEWHART:

Marca com a zona central (no cal que estigui normalitzat amb z) posar valor certificat o mitjana aritmètica establerta per l'anàlisi previ. Marco les barreres d'una vegada i dues vegades positiva i negativa la desviació estàndard. Marco zones on es pot moure el resultat que obtindrè. Si els punts es una sola rèplica ja està bé. **Si treball amb replicats he de corregir dividint s/arrel de n.**

El valor central per sobre del $\pm 2s$ marca les zones d'alarma, avís.

Quan superem 3 vegades la s ja es una zona d'acció, de control. Alguna cosa greu està passant.

NORMES

1. Si un sol punt està més enllà del límit d'acció $\pm 3s$ → hem de parar. Rebutjar H0.
2. 6 punts consecutius amb una tendència creixent o decreixent. Si hi ha una tendència cap resultat obtingut dins de la tendència o després de la tendència no son fiables perquè perds el control del mètode.
3. 2 de cada 3 punts consecutius a la zona de control ($\pm 3s$).
4. 9 punts consecutius a la mateixa banda del valor central.

Control de qualitat extern: exercicis d'intercomparació

Exercicis d'Intercomparació (interlaboratori): procés programat on un nombre de laboratoris analitzen la mateixa mostra amb propòsits de comparació.

Diferents nivells per exercicis interlaboratori: competència tècnica, certificació (quan tens reputació),...

Test de competències: avaluació externa de la competència tècnica dels laboratoris.

- Estratègia externa per comprovar l'exactitud dels resultats d'un laboratori donat
- Estimulen l'interès per treballar amb requeriments de qualitat
- Establir els patrons i desviació estàndard de les dades: ús de CRMs, derivat dels resultats dels participants;...

Avaluació de resultats dels tests de competències:

Tractament estadístic de les dades és molt similar a la detecció d'anòmals.

z-score:

$$z = \frac{x_{\text{ref}} - x_{\text{lab}}}{\sigma}$$

x_{lab} = laboratory result
 x_{ref} = reference value
 σ = precision parameter (standard deviation)

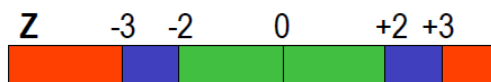
material de referència certificat.

Evaluation of laboratory competence:

$|Z| \leq 2$: Satisfactory

$3 < |Z| < 2$: Acceptable

$|Z| > 3$: Not satisfactory



U-score: té en compte totes les incerteses: les del lab i les del propi material de referència.

$U_{\text{score}} = \frac{ x_{\text{ref}} - x_{\text{lab}} }{\sqrt{(u_{\text{ref}}^2 + u_{\text{lab}}^2)}}$	$U < 1.64$	no significant differences (90 %)
	$1.64 < U < 1.96$	probably they do not differ (90 – 95 %)
	$1.96 < U < 2.58$	more results are recommended (95 – 99 %)
	$2.58 < U < 3.29$	probably they differ (99 – 99.7 %)
	$U > 3.29$	significant differences (> 99.7 %)

1,96: 2s

Resultats obtinguts per mesurar la pesa de mostra a 500°C.

Cap laboratori queda fora (major que 2s). Ens fa pensar perquè tenim valors molt diferents.

14% - 24% associat al contingut de matèria orgànica.

No era un material certificat de referència perquè calculem la mitjana aritmètica a partir dels participants.

INCERTESA.