

# Aplicación de la norma de acreditación ISO 17025 en un laboratorio de genética y biología forenses

**Cláudia Vieira da Silva**

Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses

SERVIÇO DE GENÉTICA E Biologia Forenses

Lisboa, Portugal

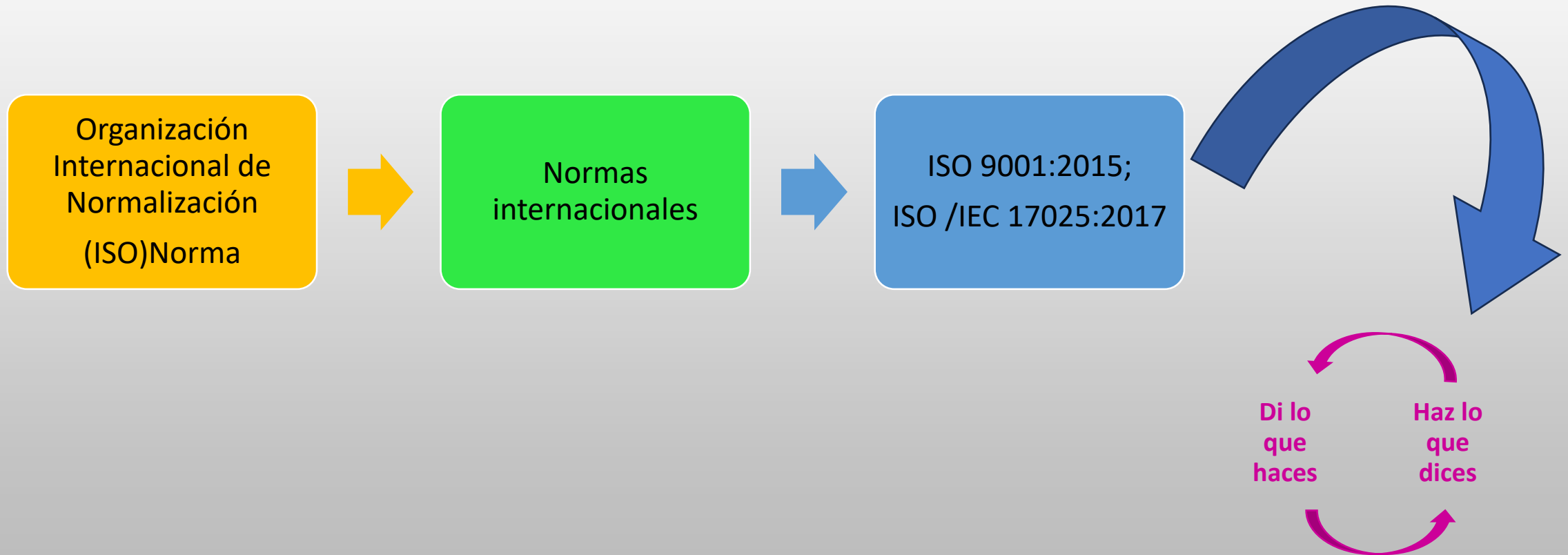




# índice

1. **¿Qué es la acreditación?**
2. **¿Por qué considerar la acreditación? Ventajas y inconvenientes**
3. **¿Cómo implementar un sistema de gestión de calidad para la acreditación (SGQ)?**
4. **¿Cómo implementar un sistema de Gestión de Calidad en el Laboratorio de Biología Forense?**
5. **¿Cómo validar las metodologías forenses y aplicación en la rutina forense?**
6. **Trabajo no conforme y acciones correctivas**
7. **Consideraciones finales**

# ¿Qué es acreditación y la norma ISO 17025:2017?





# Historia de ISO/IEC : 17025

- 1978: ISO crea la Guía ISO/IEC 25:
- 1978, con requisitos para los laboratorios de ensayo;
- 1982: se publica la segunda versión de la Guía 25, en la que también se incluyen los laboratorios de calibración;
- 1993: tercera versión de la Guía 25, también publicada por la ABNT (ABNT NBR ISO/IEC Guía 25:1993);
- 1999: se revisa la Guía 25 y se sustituye por la norma ISO/IEC 17025:1999;
- 2001: La norma ISO 17025 es adoptada por la ABNT como ABNT NBR ISO/IEC 17025:2001.
- 2005: La norma 17025 es revisada y alineada con la norma ISO/IEC 9001:2000;
- 2017: Se publica una nueva versión de la norma ISO/IEC 17025, que incluye laboratorios de muestreo con calibración seguida de ensayo.

# ¿Por qué considerar la acreditación? Ventajas y inconvenientes



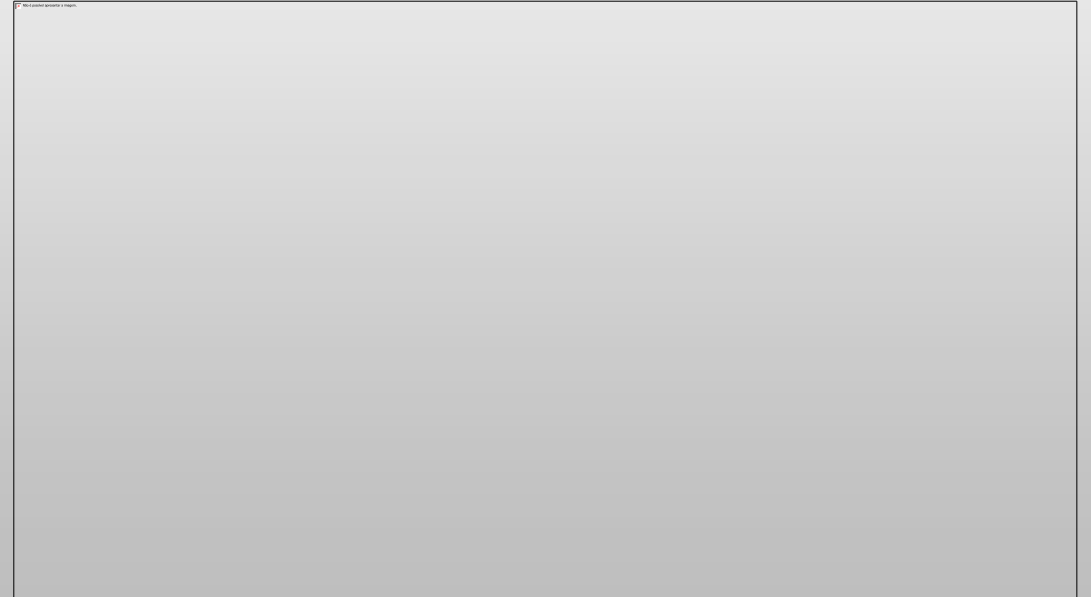
ISO 17025 desarrollada por la Organización Internacional de Normalización (ISO) y la Comisión Electrotécnica Internacional (CEI) que establece los requisitos generales para la competencia técnica de los laboratorios de ensayo y calibración. (ISO/IEC 17025:2017)

## Ventajas:

- Mayor confianza del personal en su trabajo;
- Mayor garantía y credibilidad de los resultados;
- Aumento de la eficacia operativa;
- La aceptación mutua de resultados entre distintos laboratorios y organizaciones.

## Inconvenientes:

Costos (financieros y tiempo)



## ¿Como implementar um sistema de Gestão da Qualidade?



- 1 • Conozca la norma
- 2 • Evaluar la situación actual
- 3 • Desenvolhar um sistema de gestão de calidad
- 4 • Competencia técnica
- 5 • Control y calibración del equipo
- 6 • Validación de métodos y garantía de calidad de los resultados
- 7 • Auditorias internas
- 8 • Evaluación externa

# VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE LABORATORIO ¿QUÉ MÉTODOS ELEGIR?



- El laboratorio debe utilizar métodos que se adapten a sus fines y, cuando sea necesario, evaluar la incertidumbre de la medición mediante análisis estadísticos de los datos generados.

Ej. SeraQuant

- Si el laboratorio no sigue una determinada metodología reconocida (norma), es necesario llevar a cabo la validación del método.

Ej. Kits de STRs

- Cuando sea necesario desarrollar/validar un método, el laboratorio debe tener un procedimiento de desarrollo de métodos que presente toda la planificación y todos los recursos necesarios





## VALIDACIÓN DE MÉTODOS

- La validación es la confirmación, mediante el examen y la aportación de pruebas objetivas, de que se cumplen los requisitos específicos para un determinado uso previsto.



**Resultados adecuados según la necesidad prevista**

- Existen dos tipos de métodos para validar: **métodos normalizados y métodos no normalizados**

**Método normalizado:** cualquier método de ensayo que se ajuste a lo indicado en una norma o documento normativo elaborado por un organismo de normalización o por un organismo sectorial compuesto por representantes del sector técnico.

**Método no normalizado:** los métodos no incluidos en la definición de método normalizado, cualquier método desarrollado, modificado o adaptado a partir de métodos normalizados y válidos



## ¿ LA VALIDACIÓN?



**Métodos Normalizados** – El laboratorio debe estudiar los parámetros relativos a la recuperación/tendencia y la precisión en todo el intervalo de trabajo, el límite de detección y el límite de cuantificación, siempre que los parámetros de validación estén indicados en los métodos en cuestión y sean adecuados para el uso previsto.

Si se modifica un método existente para cumplir requisitos específicos o se desarrolla un método completamente nuevo



**hay una serie de parámetros que deben evaluarse para garantizar que el método es adecuado para el uso previsto**





## PASOS DE LA VALIDACIÓN

- Selección del método a validar;
- Estudio de la base teórica del método;
- Estudio de los parámetros de validación;
- Registro de los resultados de la validación en forma de informe;
- Descripción y documentación detallada del método, en forma de procedimiento;
- Participación en ensayos Inter laboratorios para seguir demostrando su idoneidad.





## PARÁMETROS QUE DEBEN TENERSE EN CUENTA AL VALIDAR UN MÉTODO

- **Muestras a considerar - Selección de la muestra o del lugar- plan de muestreo;**
- La preparación y el tratamiento de las muestras biológicas usadas para la validación del método de laboratorio;
- Fecha y hora del muestreo.
- Identificar y describir la muestra.
- Informar de quién ha realizado el muestreo.
- Describir el equipo utilizado.
- Condiciones ambientales o de transporte.
- Describir cómo se identifica el lugar de muestreo, por ejemplo mediante un plano o diagrama del lugar.
- Describir cualquier desviación, adición o supresión del plan de muestreo, anotando cualquier observación.





## PASOS DE LA VALIDACIÓN- ESPECIFICIDAD- (PG-SGBF-001 – Validação de Ensaio)

La especificidad se define como la capacidad de caracterizar y identificar inequívocamente

- Para evaluar la especificidad del método de perfilado genético, deberán utilizarse  $n$  muestras ( $n \geq 10$ ) de diferentes especies animales (por ejemplo, perro, gato, cerdo, caballo) y las muestras deberán analizarse utilizando el procedimiento de prueba que se desea validar
- El análisis de todas las muestras debe ser negativo, es decir, el método debe ser incapaz de caracterizar el ADN de las diferentes especies animales





## PASOS DE LA VALIDACIÓN- SENSIBILIDAD (PG-SGBF-001 – Validação de Ensaios)

### Análisis de sensibilidad

Los umbrales de análisis se definen como las cantidades mínima y máxima de ADN en una muestra que permiten obtener resultados válidos, caracterizando así la sensibilidad del método.

Este razonamiento también debe aplicarse a las metodologías para detectar la naturaleza del material biológico (pruebas de semen, sangre y saliva).

Deben realizarse diluciones seriadas (por ejemplo, 1:10, 1:50, 1:100) y cuantificarse la cantidad de ADN/muestra presente en las diluciones/ realizar las pruebas inmunocromatográficas disponibles en el laboratorio





## PASOS DE LA VALIDACIÓN- PRECISIÓN DEL MÉTODO (PG-SGBF-001 – Validação de Ensaios)

### Precisión del método

La precisión de los métodos para determinar perfiles genéticos puede evaluarse a través de la capacidad para separar o resolver alelos que difieren entre sí por sólo uno o dos pares de bases (resolución alélica).

Seleccionar un mínimo de 10 muestras con un perfil genético conocido en las que se confirme la presencia de alelos que difieran sólo en uno o dos pares de bases (por ejemplo, locus TH01, alelos 9.3 y 10).

La aplicación del procedimiento de prueba permitirá comprobar el poder de resolución del método, evaluando si es suficiente para identificar inequívocamente los alelos estudiados en los diferentes loci.





## PASOS DE LA VALIDACIÓN – CONTAMINACIÓN Y MEZCLAS (PG-SGBF-001 – Validação de Ensaios)

### Contaminación y mezclas

La contaminación se define como la presencia de ADN extraño en la muestra que se va a analizar, detectada por la presencia de más del máximo esperado de dos alelos en diferentes loci.

muy importante poder distinguir el número de contribuyentes en la muestra de la contaminación ocasional y evaluar las proporciones de contribución que permiten hacer estas distinciones con claridad.

Con respecto a la investigación sobre la naturaleza de la muestra es importante tratar de reproducir en el laboratorio lo que podemos encontrar en casos reales (reproducir mezclas de sangre y saliva, semen y sangre, semen y saliva)





## PASOS DE LA VALIDACIÓN – PRESENÇA DE INHIBIDORES- (PG-SGBF-001 – Validação de Ensaios)

### Inhibidores

Otro aspecto de la contaminación que se aplica a las muestras de recogida no controlada, como las tomadas en lugares del delito, exhumaciones u otras situaciones similares, es la presencia de sustancias, fluidos u otros compuestos que pueden interferir en la obtención de ADN de calidad en las muestras originales y, por consiguiente, en la obtención de resultados en la prueba que se está evaluando.

Evaluar el efecto de los posibles inhibidores en la obtención de resultados:

Preparar  $n$  muestras ( $n \geq 5$ ) con varios tipos de inhibidores comunes a lo que se encuentra en casos reales, en diferentes proporciones (por ejemplo, 1:10, 1:1 y 10:1), creando así mezclas controladas.

Introducir aleatoriamente las muestras contaminadas en un lote igual de las mismas muestras no contaminadas.

Preparar  $n$  muestras reales ( $n \geq 5$ ) con exposición a inhibidores físicos de forma controlada, simulando lo que se encuentra en casos reales. Introducir aleatoriamente estas muestras en un lote igual de las mismas muestras no sometidas a exposición a agentes físicos.





## **Pruebas orientativas/presuntivas:**

Son análisis preliminares con una alta sensibilidad que nos ayudan a localizar la mancha y tener algún tipo de orientación con respecto al material biológico bajo análisis. Pueden ser usados para detección de sangre, saliva, orina, semen.

## **Testes confirmatórios:**

Son muy importantes en la detección del semen - permiten afirmar con un alto nivel de certeza que la mancha que se analiza en el proceso de genética forense es realmente semen. Estas pruebas suelen ser más complejas y tienen un coste mayor. Se centran en analizar y detectar marcadores genéticos específicos de la muestra. Generalmente se realizan primero los testes presuntivos por su menor coste y si estos resultan positivos es cuando se realiza un test confirmatorio para poder afirmar con seguridad y validar que hay semen en la muestra. Dentro de estos se encuentran la microscopia y el de la prueba de semenelogenina.

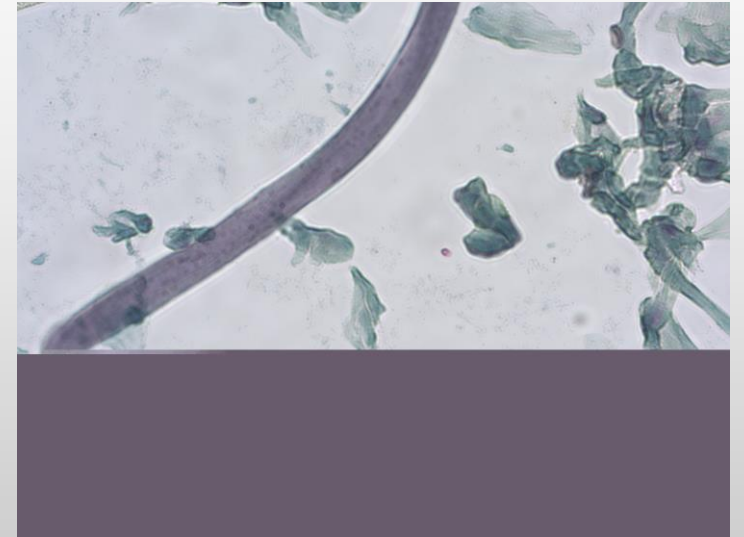
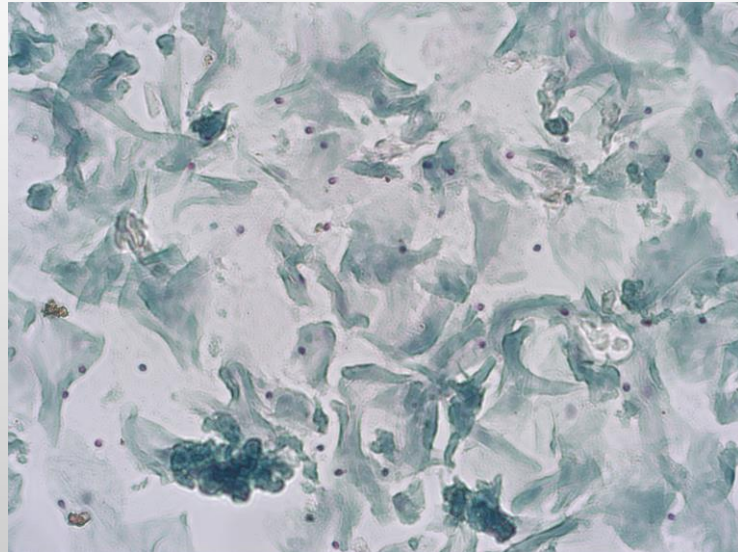
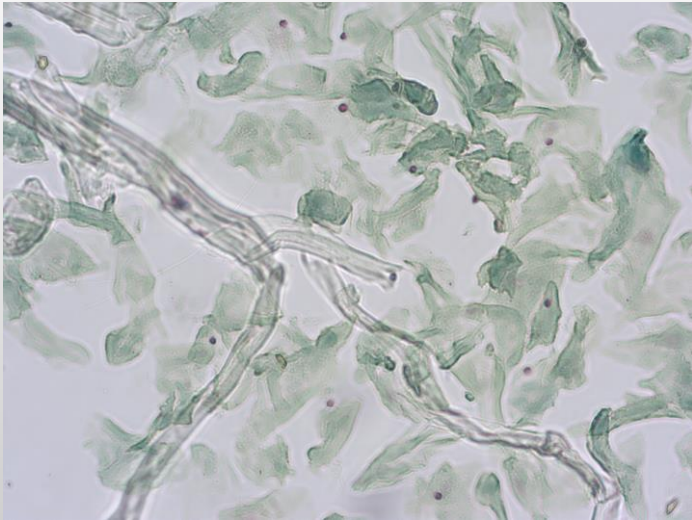
## **Microscopia y tinciones**

Observación directa de los espermatozoides al microscopio. Técnica de tinción llamada “árbol de navidad”

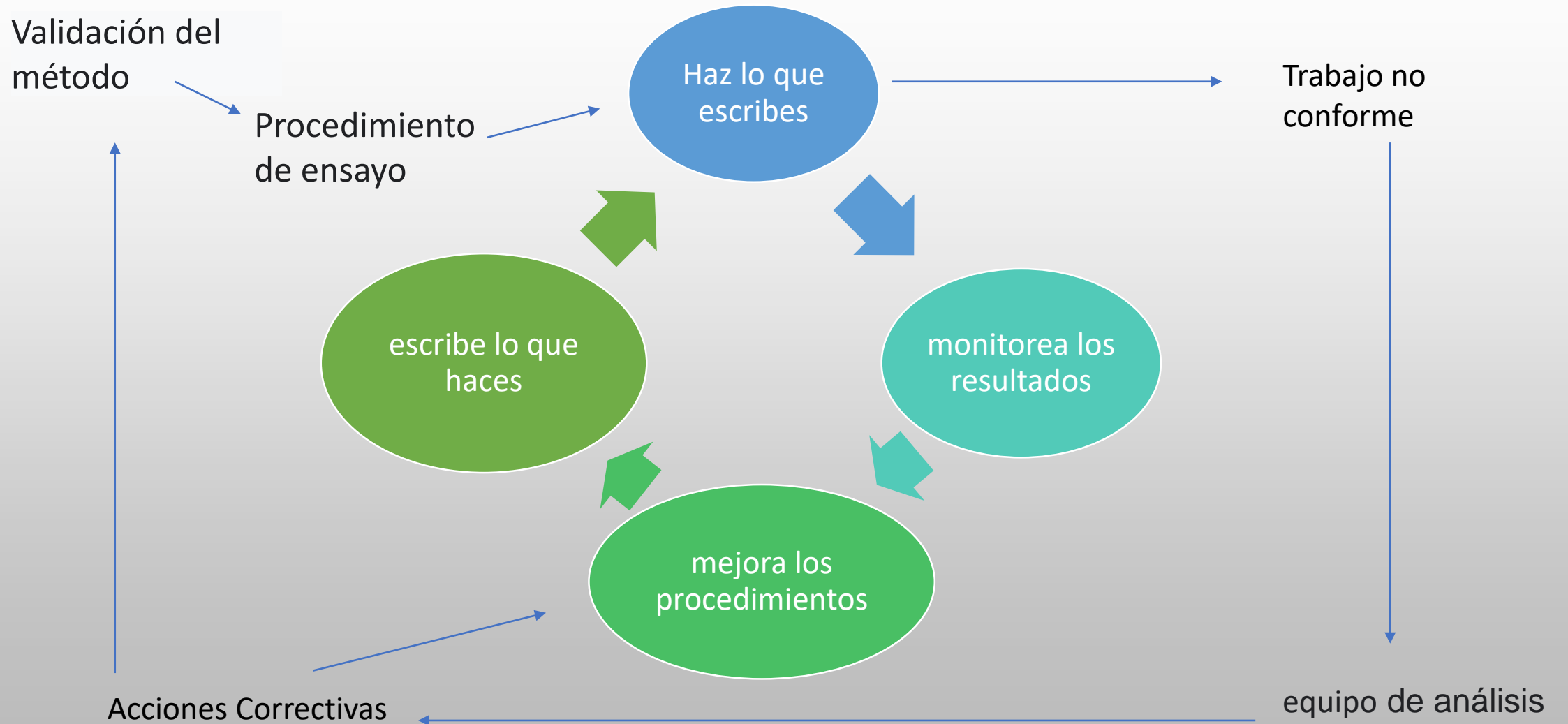


## Microscopia y tinciones

Observación directa de los espermatozoides al microscopio .



# TRABAJO NO CONFORME Y ACCIONES CORRECTIVAS- FLUJO DE CALIDAD





# En conclusion

No existe un buen sistema de calidad si sin equipos de trabajo centrados en un mismo objetivo, incluso con los desacuerdos habituales inherentes al ser humano





# Muchas Gracias



[claudia.v.silva@inmlcf.mj.pt](mailto:claudia.v.silva@inmlcf.mj.pt)