	LABORATORIOS INSTITUTO NACIONAL DE VIGILANCIA DE MEDICAMENTOS Y ALIMENTOS INVIMA	CÓDIGO:	PO04-DS-OGM-P010
		VERSIÓN:	05
	PROCEDIMIENTO DE ASEGURAMIENTO DE CALIDAD		VIGENTE:

1. OBJETIVO

Establecer el procedimiento que permita realizar el aseguramiento de la calidad y garantizar la validez de los ensayos y procesos analíticos que se realizan en el Grupo de Laboratorio de OGM.

2. ALCANCE

Este procedimiento aplica para todos los ensayos y muestras procesadas en el laboratorio.

3. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS

$A_{260/230}$: Relación de absorbancia de la cantidad de ADN medida a 260 nm sobre la cantidad de ARN medida a 230 nm. Esta relación es utilizada para evaluar la pureza en un extracto de ADN.

$A_{260/280}$: Relación de absorbancia de la cantidad de ADN medida a 260 nm sobre la cantidad de proteína media a 280 nm. Esta relación es utilizada para evaluar la pureza en un extracto de ADN.

ADN: Ácido Desoxirribonucleico.

ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD: parte de la gestión de calidad orientada a proporcionar confianza en que se cumplan los requisitos de calidad.

CALIBRACIÓN: Conjunto de operaciones que establecen, bajo condiciones específicas, la relación entre los valores de las magnitudes que indique un instrumento de medición o un sistema de medición, o valores representados por una medida materializada o por un material de referencia, y los valores correspondientes determinados por medio de patrones.

CONTROL DE CALIDAD ANALÍTICO: Medida necesaria para observar y conservar la fiabilidad del método analítico.

CONTROL DE EXTRACCIÓN: material certificado o de referencia del cual se conocen los resultados y el comportamiento por la aplicación del procedimiento de extracción. Está compuesto por master mix y el ADN extraído como control en la extracción. Este control se debe aplicar cada vez que se aplique el procedimiento de extracción.

CONTROL DE INHIBICIÓN: material certificado al cual se le adiciona la muestra a ensayar con el fin de garantizar que no se inhiba la amplificación. Está compuesto por el master mix, el ADN del ensayo y el ADN del material certificado o de referencia.

CONTROL NEGATIVO: amplificación de material certificado de un evento de transformación genética que no contenga el amplicón objetivo del ensayo. Está compuesto por master mix y DNA de un evento de transformación genética que no contenga el amplicón objetivo del ensayo. Este control se debe aplicar cada vez que se realice el montaje de una PCR tiempo real.

CONTROL POSITIVO: amplificación de material certificado de un evento de transformación genética que contenga el amplicón objetivo del ensayo. Está compuesto por master mix y DNA de un evento

REVISÓ:	lcifuentesf	APROBÓ:	avelar
----------------	-------------	----------------	--------

de transformación genética que contenga el amplicón objetivo del ensayo. Este control se debe aplicar cada vez que se realice el montaje de una PCR tiempo real.

ENDOGEN: gen de referencia el cual ha sido estandarizado de tal manera que su mayor o menor amplificación represente mayor o menor concentración de la especie a la que representa de manera única en una muestra.

MANTENIMIENTO: Revisión o reparación que se realiza a un equipo para tener el control y mantenerlo dentro de las especificaciones requeridas.

MATERIAL CERTIFICADO: material con un certificado adjunto, en el cual se hace constar que contienen un determinado evento de transformación genética.

MATERIAL DE REFERENCIA: Material con un certificado adjunto, en cual consta que uno o más valores de sus propiedades están certificados con un procedimiento que establece su trazabilidad.

MÉTODO NO NORMALIZADO: Método desarrollado por el laboratorio a partir de modificaciones a métodos normalizados por entes internacionales y/o reportados en revistas científicas.

MUESTRA: parte o porción extraída de un conjunto, por métodos que permiten considerarla representativa del mismo.

NORMALIDAD DE LA AMPLIFICACIÓN: es la comparación entre la concentración certificada de un Material de Referencia y la comparación técnica realizada en la amplificación e interpretada en el Aplicativo de cuantificación PO04-DS-OGM-F006.

NTC (siglas en inglés): No template control. Es la amplificación de agua que se usa con el fin de evidenciar la pureza de los reactivos utilizados en el montaje de la PCR. Está compuesto por master mix y agua. Este control se debe aplicar cada vez que se realice el montaje de una PCR tiempo real.

OGM: Organismo Genéticamente Modificado.

PATRÓN: Medida, instrumento de medida o material de referencia estándar utilizado para definir y conservar una unidad de valores de magnitud y así emplearlo como referencia de un procedimiento o proceso.

PRIMER-DIMER: es el anillamiento de un primer en otro primer lo cual representa la formación de una estructura secundaria. Esta se presenta cuando las regiones son ricas en bases complementarias.

PCR (siglas en inglés): *Polymerase Chain Reaction*. Reacción en Cadena de la Polimerasa.

VALIDACIÓN: confirmación mediante el suministro de evidencia objetiva de que han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica prevista.

VERIFICACIÓN: confirmación mediante la aportación de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos especificados.

4. REFERENCIAS

DORAK TEVFIK. 2006. Real-Time PCR. Taylor & Francis Group. Newcastle, UK.

EUROPEAN UNION REFERENCE LABORATORY FOR GM FOOD & FEED (ENGL). 2011. Verification of analytical methods for GMO testing when implementing interlaboratory validated methods. Grupo de Verificación de Métodos de la ENGL.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. 2005. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración – NTC-ISO/IEC 17025:2005. ICONTEC. Bogotá, Colombia.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. 2008. Sistema de gestión de Calidad: principios y vocabulario - ISO 9000:2008. ICONTEC. Bogotá, Colombia.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. 1997. Vocabulario de términos básicos y generales en metrología - NTC 2194. ICONTEC. Bogotá, Colombia.

GASEL JAY. 1994. Validity of Nucleic Acid Purities Monitored by 260nm/280nm Absorbance Ratios. BioTechniques. 63.

NANODROP TECHNOLOGIES, Inc. 2007. Technical Support Bulletin T009. 260/280 and 260/230 Ratios. NanoDrop® ND-1000 and ND-8000 8-Sample Spectrophotometers. Delaware USA.

Procedimiento de aseguramiento de calidad PO04-DS-OGM-P010 versión 04.

5. RESPONSABILIDADES

Es responsabilidad de todo el personal conocer e implementar este procedimiento con el fin de garantizar la validez de los ensayos y/o procesos realizados en el laboratorio.

Es responsabilidad del Líder técnico velar por el cumplimiento del presente procedimiento.

6. CONDICIONES PREVIAS

Conocer que las actividades contempladas en éste procedimiento, tiene como finalidad comprobar sistemáticamente la validez de los resultados emitidos por el laboratorio.

Es necesario conocer los siguientes procedimientos, instructivos y sus respectivos formatos:

- PA01-MR-OGM-P001 Manipulación, transporte, almacenamiento y uso de reactivos, material certificado y de referencia.
- PA02-PM-OGM-P001 Procedimiento para la validación y/o verificación del método de las técnicas de PCR en tiempo real.
- PA02-PM-OGM-P003 Procedimiento para la validación de método de las técnicas cualitativas por PCR en tiempo real.

- PA05-GF-OGM-P003 Monitoreo de condiciones ambientales.
- PA07-GM-LABS-P001 Gestión metrológica.
- PO04-DS-OGM-P001 Procedimiento de acondicionamiento y extracción de ADN a partir de alimentos procesados diferentes al aceite y lecitina.
- PO04-DS-OGM-P002 Procedimiento de acondicionamiento y extracción de ADN a partir de aceites y lecitina de soya.
- PO04-DS-OGM-P003 Procedimiento de acondicionamiento y extracción de ADN a partir de granos.
- PO04-DS-OGM-P007 Procedimiento para PCR tiempo real en placa.
- PO05-ER-LABS-P001 Emisión de informe de resultados.
- PO05-DS-OGM-P004 Manejo del Formato integrado para el desarrollo del servicio

Por otro lado, de acuerdo a la guía de Verificación de métodos analíticos para OGM de la Red de Laboratorios de Referencia de OGM en alimentos y Piensos de la Unión Europea, se tienen criterios específicos para la validación y aceptación de métodos los cuales se encuentran inmersos en este procedimiento como controles de calidad analíticos.

Finalmente, se establecieron los rangos de aceptación de las relaciones $A_{260/280}$ y $A_{260/230}$ a partir de los históricos de las cuantificaciones de ADN de los resultados (análisis de muestras, verificaciones de método y validaciones de método) que cumplen el espectro de una curva de amplificación (latencia, exponencial y plató) sin presencia de inhibición (tabla 1).

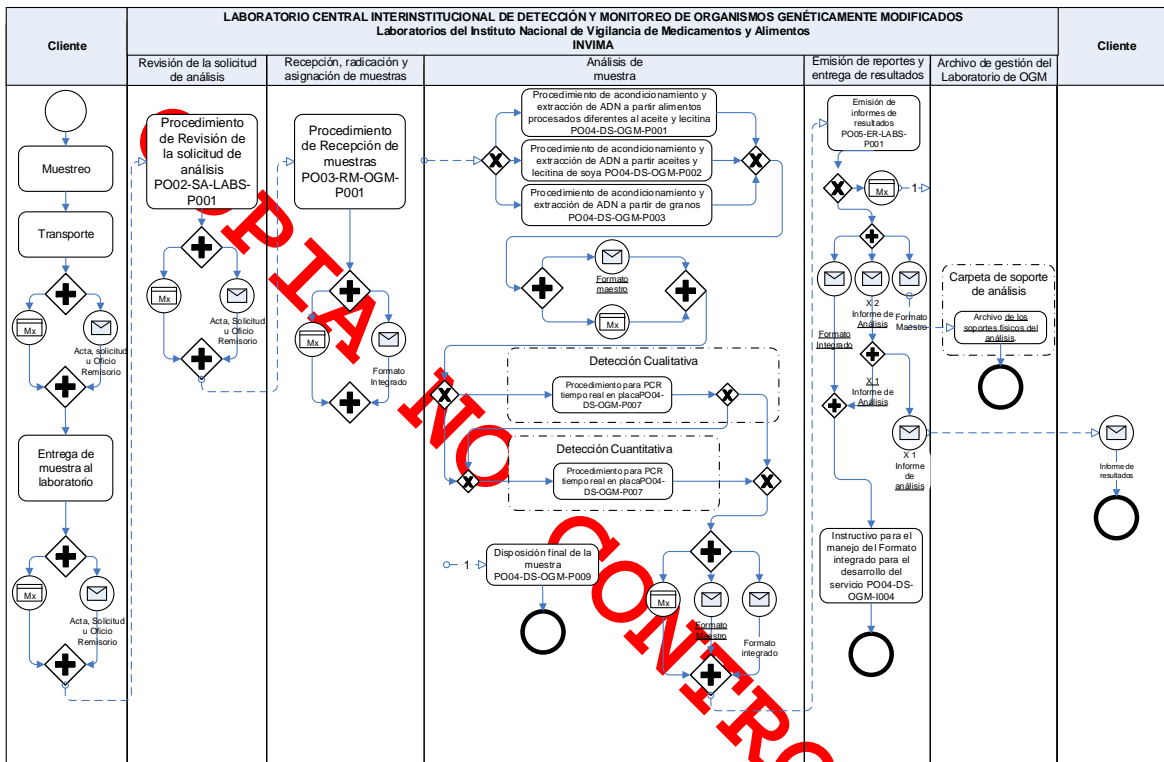
Matriz	DNeasy® Plant		NucleoSpin Food	
Maiz	$A_{260/280}$	1,8 - 2,1292	$A_{260/280}$	1.8 - 2.1460
	$A_{260/230}$	1,8 - 2,5008	$A_{260/230}$	1.6420 - 2.6012
Soya	$A_{260/280}$	1,8 - 2,0880	$A_{260/280}$	1.8 - 2.1198
	$A_{260/230}$	1,1841 - 2,4441	$A_{260/230}$	1.8 - 2.4158
Producto terminado con ADN en sus componentes	$A_{260/280}$		$A_{260/280}$	1.4408 - 2.2960
	$A_{260/230}$		$A_{260/230}$	0.6966 - 3.1614
Producto terminado sin ADN en sus componentes	$A_{260/280}$		$A_{260/280}$	-0.0781 - 2.7731
	$A_{260/230}$		$A_{260/230}$	-1.4195 - 3.7027

Las relaciones $A_{260/280}$ y $A_{260/230}$ para producto terminado sin ADN en sus componentes, no muestran rangos coherentes y posiblemente correspondan a una muy baja o nula concentración de en la

solución de ADN extraído. Sin embargo, se puede realizar la amplificación aclarando en el Informe de Resultados que la muestra no permite extraer ADN de buena calidad y cantidad.

7. PROCEDIMIENTO

7.1 DISEÑO METODOLÓGICO PARA EL ENSAYO DE DETECCIÓN DE OGM EN EL LABORATORIO.



NOTA: El procedimiento de Aseguramiento de Calidad es transversal a todo el diseño metodológico del ensayo de detección de OGM en el laboratorio. El Procedimiento para molienda y homogenización PO04-DS-OGM-P004 está inmerso entre los procedimientos de acondicionamiento y extracción de ADN utilizados en el laboratorio.

7.2 USO REGULAR DE MATERIALES DE REFERENCIA

La manipulación, inspección, transporte, almacenamiento y uso de patrones de referencia para el laboratorio, se realiza de acuerdo al Manipulación, transporte, almacenamiento y uso de reactivos, material certificado y de referencia PA01-MR-OGM-P001.

7.3 CONTROLES DE CALIDAD ANALÍTICOS

El laboratorio cuenta con Controles de calidad analíticos definidos de la siguiente manera de acuerdo al esquema de detección del ensayo que se esté desarrollando (tabla 2). De igual forma, para los rangos aceptado de las relaciones $A_{260/280}$ y $A_{260/230}$ se encuentran en la tabla 3. Para las muestras de Producto terminado sin ADN en sus componentes, no es posible definir rangos $A_{260/280}$ y $A_{260/230}$ de referencia. Por tal razón, se realiza la amplificación de la solución de ADN extraído aclarando en el Informe de Resultados que la muestra no permite extraer ADN de buena calidad y cantidad. Si se presenta alguna desviación en las relaciones $A_{260/280}$ y $A_{260/230}$, se debe informar al Líder Técnico

para evaluar los resultados de la extracción. De esta evaluación, es necesario elaborar un acta de reunión.

Tabla 2. Controles de calidad analíticos para la detección de OGM en el Laboratorio.

Paso del ensayo	Procedimiento	Controles de calidad analíticos	Resultados esperados
Acondicionamiento de la muestra y extracción de ADN	<ul style="list-style-type: none"> Procedimiento de acondicionamiento y extracción de ADN a partir de alimentos procesados diferentes al aceite y lecitina PO04-DS-OGM-P001. Procedimiento de acondicionamiento y extracción de ADN a partir de aceites y lecitina de soya PO04-DS-OGM-P002. Procedimiento de acondicionamiento y extracción de ADN a partir de granos PO04-DS-OGM-P003. 	A _{260/280}	Ver tabla 3
		A _{260/230}	Ver tabla 3
		Extracción	Los resultados se evidencian en la Detección Cualitativa.
Detección cualitativa	<ul style="list-style-type: none"> Procedimiento para PCR tiempo real en placa PO04-DS-OGM-P007. 	NTC	-
		Negativo	-
		Positivo	+
		Extracción	+
		Inhibición	+
Detección cuantitativa	<ul style="list-style-type: none"> Procedimiento para PCR tiempo real en placa PO04-DS-OGM-P007. 	NTC	-
		Negativo	-
		Positivo	+
		Pendiente de la Curva Estándar	-3.6 a -3.1
		R ² de la Curva Estándar	Mayor a 0.98
		Desviación de la concentración de normalización	Menor al 25%

Tabla 3. Rangos de aceptación de las relaciones A_{260/280} y A_{260/230} a partir de la matriz de la muestra y el kit de extracción utilizado.

Matriz	DNeasy® Plant		NucleoSpin Food	
	A _{260/280}	A _{260/230}	A _{260/280}	A _{260/230}
Maiz	A _{260/280}	1,8 - 2,1292	A _{260/280}	1.8 - 2.1460
	A _{260/230}	1,8 - 2,5008	A _{260/230}	1.6420 - 2.6012
Soya	A _{260/280}	1,8 - 2,0880	A _{260/280}	1.8 - 2.1198
	A _{260/230}	1,1841 - 2,4441	A _{260/230}	1.8 - 2.4158
Producto terminado con ADN en sus componentes	A _{260/280}		A _{260/280}	1.4408 - 2.2980
	A _{260/230}		A _{260/230}	0.6966 - 3.1614

Es importante tener en cuenta que por la naturaleza de algunos primers, inherentes a la matriz y no al diseño, se puede llegar a presentar dímeros de primers (Primer-dimer). Un ejemplo de esto, es la

amplificación con los primers del endo gen *lec* y del evento específico GTS-40-3-2. Con estos primers se presenta una amplificación tardía de acuerdo al “Informe de validación y verificación del método no normalizado para la cuantificación relativa del evento Soya 40-3-2 empleando la técnica de PCR en Tiempo Real”. Esta amplificación tardía no representa una pérdida en la eficiencia de la reacción, debido a que de acuerdo al informe de validación “se presentó una eficiencia promedio de 1.984 ± 0.1 para la amplificación de la curva del endogen *lec* y de 1.987 ± 0.1 para la curva del evento 40-3-2” y estos se encuentran entre los rangos aceptados para la eficiencia se encuentran de 1.89 – 2.1. Para estos casos, se establece una diferencia de 1 Cp entre las muestras a baja concentración y el control de reactivos y negativo.

7.4 REENSAYO

El laboratorio tiene como política, que una vez se confirme en el reproceso que los Controles de calidad analíticos no fueron los óptimos para el ensayo, que los resultados de la amplificación de las muestras no son claros o que los equipos se encontraban fuera del rango de trabajo, es necesario repetir el ensayo lo más rápido posible, procurando no alterar la oportunidad en la entrega del informe de ensayo.

Debido a que los procedimientos están diseñados de manera que el resultado de uno es el insumo del siguiente, se debe reprocesar inicialmente bajo los lineamientos del procedimiento que se está realizando. Si el problema persiste, se reprocesa todo el ensayo.

7.5 CONTROL DE CONDICIONES AMBIENTALES

El laboratorio ha identificado que la temperatura y la humedad son condiciones ambientales que pueden llegar a afectar la calidad del ensayo. Por tal razón, estas dos condiciones ambientales se monitorean de acuerdo al Monitoreo de condiciones ambientales PA05-GF-OGM-P003. Sin embargo, cuando se evidencia que la medición de la temperatura o de la humedad se encuentra por fuera del rango determinado y puede afectar la validez de los resultados, es necesario documentar un trabajo de ensayo no conforme de acuerdo al procedimiento de Control de trabajo de ensayo y ensayo no conforme PO06-SS-LABS-P001.

7.6 CONTROL DE MATERIAL

El laboratorio con el fin de evitar fuentes de contaminación para todos los ensayos, usa materiales desechables y no reutilizables como puntas, tubos y espátulas. Por tanto se elimina la fuente de contaminación correspondiente al manejo del material.

7.7 USO DE EQUIPOS DE MEDICIÓN ADECUADOS, EVALUADOS, VERIFICADOS Y CALIBRADOS

El Laboratorio tiene establecidas parámetros claros que aseguran que los equipos que intervienen directamente en la calidad del ensayo son óptimos para tal fin y se encuentran siempre en las mejores condiciones de operación. Estas condiciones se aseguran de acuerdo al procedimiento de Gestión metrológica PA06-GM-LABS-P001, incluyendo la documentación de guías e instructivos para los equipos con los parámetros necesarios para garantizar su fácil y óptima operación por parte del personal autorizado. Finalmente, para algunos equipos, se monitorean su uso o sus magnitudes de trabajo para garantizar su óptima operación.

7.8 USO DE MÉTODOS NORMALIZADOS O VALIDADOS

El laboratorio utiliza métodos validados o verificados, originarios de laboratorios de referencia en el tema de OGM o publicaciones científicas. Estas validaciones siguen los lineamientos del Procedimiento para la validación y/o verificación del método de las técnicas de PCR en tiempo real PA02-PM-OGM-P001.

7.9 COMPETENCIA TÉCNICA

El Laboratorio de OGM ha diseñado un Esquema de Detección articulado con una verificación de la competencia técnica simultánea a la detección, la cual es soportada en el uso de Material de Referencia para su posterior seguimiento en el formato PO04-DS-OGM-F009 Evaluación de competencia con material de referencia. Estos materiales son utilizados para evaluar la Normalidad de la amplificación de acuerdo a las Curvas Estándar o Curvas de Comparación utilizadas para la detección Cuantitativa o los controles positivos evaluados en la amplificación. El seguimiento garantiza que la amplificación se encuentre dentro del Criterio de Aceptación de la Exactitud de la medición desarrollado y validado internacionalmente para los Materiales de Referencia.

7.10 CONTROL DE DATOS

El laboratorio cuenta con un Procedimiento control de registros PE02-GC-LABS-P002 el cual garantiza la integridad y el control de toda la información que se origina en el laboratorio.

7.11 REVISIÓN DE INFORME DE ANÁLISIS

De acuerdo a la organización por procesos del laboratorio, el analista realiza el ensayo y diligencia cada uno de los campos del Formato Integrado para el desarrollo del servicio PO04-DS-OGM-F011. Sin embargo, la revisión de los resultados del ensayo está autorizada únicamente para el Líder Técnico y la emisión del Informe de Análisis está autorizada para el Coordinador del Laboratorio. Esta actividad se realiza de acuerdo al procedimiento de Emisión de informe de Análisis PO05-ER-LABS-P001.

7.12 ENSAYOS DE APTITUD

El laboratorio sigue los lineamientos establecidos en el PO06-SS-OGM-P002 Ensayos de Aptitud. El Laboratorio en la medida que sea posible realizara ensayos de aptitud de material genéticamente modificado en alimentos y piensos, pruebas cualitativas y cuantitativas.

En caso de no existir proveedores acreditados será responsabilidad del laboratorio evaluar la competencia del organizador, por ejemplo basándose en que operen de acuerdo a los principios de la norma ISO / IEC 17043 vigente.

En el caso de imposibilidad de participar en ensayos de aptitud o de no encontrar disponibles ensayos de aptitud a nivel nacional o internacional, para una matriz o producto definido dentro del alcance de acreditación de un Laboratorio, este debe demostrar su competencia técnica a través del programa de aseguramiento de la calidad de los resultados.

7.13 REVISIÓN DE DOCUMENTOS EXTERNOS DE REFERENCIA

El profesional designado será el encargado de realizar la consulta de la referencia normativa, en el caso de la consulta de las políticas y documentos de la ONAC, la persona designada será el responsable de calidad y/o facilitador de calidad y se hará de acuerdo a la guía PO04-DS-OGM-P010 Revisión de Referencias Normativas.

Para la revisión de los documentos de referencia se debe diligenciar el formato PE02-GC-LABS-F018 Revisión y actualización de referencias normativas asociadas a metodologías analíticas, con una frecuencia de mínimo una vez al año.

En caso que el laboratorio tenga un software, debe realizar la revisión teniendo en cuenta el procedimiento PO06-SS-LABS-P002 control de datos.

8. REGISTROS Y DOCUMENTOS ASOCIADOS

- PO05-DS-OGM-I004 Manejo del Formato integrado para el desarrollo del servicio
- PA01-MR-OGM-P001 Manipulación, transporte, almacenamiento y uso de reactivos, material certificado y de referencia.
- PO06-SS-LABS-P002 control de datos
- PO06-SS-OGM-P002 Ensayos de Aptitud
- PA02-PM-OGM-P003 Procedimiento para la validación de método de las técnicas cualitativas por PCR en tiempo real.
- PA02-PM-OGM-P001 Procedimiento para la validación y/o verificación del método de las técnicas de PCR en tiempo real.
- PE02-GC-LABS-P002 Procedimiento control de registros.
- PA06-GM-LABS-P001 Gestión metrológica.
- PO04-DS-OGM-P002 Procedimiento de acondicionamiento y extracción de ADN a partir de aceites y lecitina de soya.
- PO04-DS-OGM-P003 Procedimiento de acondicionamiento y extracción de ADN a partir de granos.
- PO04-DS-OGM-F009 Evaluación de competencia con material de referencia.
- PA02-PM-OGM-F001 Hoja de trabajo para la validación de técnicas por PCR.
- PA05-GF-OGM-P003 Monitoreo de condiciones ambientales.
- PO04-DS-OGM-P007 Procedimiento para PCR tiempo real en placa.
- PO05-ER-LABS-P001 Emisión de informe de resultados.
- PO06-SS-LABS-P001 Control de trabajo de ensayo y ensayo no conforme.
- PE01-GD-LABS-MC001 Manual de gestión de calidad de los laboratorios.
- PO04-DS-OGM-F006 Aplicativo de cuantificación.
- PO04-DS-OGM-F011 Formato Integrado para el desarrollo del servicio.
- PO04-DS-OGM-P001 Procedimiento de acondicionamiento y extracción de ADN a partir de alimentos procesados diferentes al aceite y lecitina.
- PE02-GC-LABS-F018 Revisión y actualización de referencias normativas asociadas a metodologías analíticas

9. ANEXOS

N/A