

## Verificación de métodos en un laboratorio acreditado y planificación del control de calidad interno\*

 32 min.



Desarrollar y llevar a cabo un programa de control de calidad interno en un laboratorio de análisis clínicos es vital ya que la implementación de las buenas

prácticas posibilita mantener un grado de eficiencia y reproducibilidad de los resultados de manera confiable. Los Dres Ricardo Guglielmo, Rafael de Elías, Oscar Kiener, César Collino, Silvia Barzón pertenecientes a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Córdoba y al Laboratorio Central del

Sanatorio Allende, realizaron una investigación con el fin de aplicar los protocolos de evaluación de métodos publicados en guías internacionales (CLSI, Clinical Laboratory Standard Institute), en busca de verificar el correcto rendimiento de las metodologías evaluadas y diseñar e implementar una estrategia de control de



ESTADO ARGENTINO  
ACREDITADO MA2 Nº 0021



ALAC  
LABORATORIO N°1



IRAM  
GESTIÓN DE LA CALIDAD  
Nº 2000-804620  
Normas Iso 9001:2008



### DEPARTAMENTOS

- » Departamento de Biología Molecular
- » Departamento de Endocrinología
- » Departamento de Hematología
- » Departamento de Inmunología
- » Departamento de Metabolopatías
- » Departamento de Microbiología
- » Departamento de Química Clínica
- » Departamento de Toxicología

### TECNOLOGÍAS

- » Absorción Atómica
- » Citometría de flujo
- » Cromatografía gaseosa
- » Cromatografía líquida
- » Electroforesis capilar
- » Espectrometría de Masas en Tandem
- » Fish
- » IFI
- » ICP – Inductively Coupled Plasm

*“La calidad no sólo es importante, para nosotros es prioritaria”.*

calidad interno (CCI) que permita evaluar la estabilidad del sistema de medición en el tiempo. En este contexto la evaluación de métodos es clave para la mejora continua de los servicios del laboratorio, su cumplimiento con los requerimientos internacionales de calidad, así como con los organismos de acreditación.



Ricardo Guglielmo (1), Rafael de Elías (2), Oscar Kiener (2), César Collino (3), Silvia Barzón (1).

1. Bioquímico

2. Bioquímico Especialista en Química Clínica

3. Bioquímico Especialista en Hematología (CE-QUIMAP) Facultad de Cs Qcas, UNC, Córdoba, Argentina.

\* Laboratorio Central, Sanatorio Allende, Obispo Oro 38. Córdoba (CP 5000), Argentina (Institute CLSI, Clinical Laboratory Standard).



Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL

Acta Bioquím Clín Latinoam 2011; 45 (2): 335-47

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD--ROM)



Resumen

En el proceso de verificación de métodos se obtienen datos del desempeño del sistema de medición en las condiciones de trabajo del laboratorio; luego esto es cotejado con las especificaciones brindadas por el fabricante de reactivos y con los requerimientos de calidad disponibles de distintas fuentes. Los objetivos del presente trabajo fueron aplicar protocolos de evaluación de métodos publicados en guías internacionales (CLSI, Clinical Laboratory Standard Institute) para verificar el correcto rendimiento de las metodologías evaluadas y diseñar e implementar una estrategia de control de calidad interno (CCI) que permita evaluar la estabilidad del sistema de medición en el tiempo. Se evaluaron glucosa, creatinina y láctico deshidrogenasa (LDH); sobre las metodologías para la valoración de los mismos se realizaron los ensayos correspondientes a la verificación de precisión y veracidad, linealidad, límite

de detección, comparación de equipos y establecimiento de valores de referencia de acuerdo con lo establecido en las guías CLSI EP15-A2, EP6-A, EP17-A, EP9-A2, C28-A2, respectivamente. En todos los ensayos realizados se cumplieron con las especificaciones estipuladas por el fabricante para cada analito, como así también con los requerimientos de calidad elegidos para el error total permitido. Además, se determinó el punto operativo y se especificaron las reglas de CCI adecuadas para el seguimiento del desempeño de estas metodologías. Con los resultados obtenidos se construyó una matriz de calidad para hacer el seguimiento mensual de los parámetros evaluados. Aplicando procedimientos de verificación de métodos se demostró la aceptabilidad de los parámetros analíticos evaluados. La verificación de los métodos permite diseñar y aplicar una estrategia de CCI para evaluar la estabilidad analítica de los sistemas de medición en el tiempo, dentro de un marco de seguridad analítica exigido para métodos acreditados.

Palabras clave: verificación de métodos \* requerimientos de calidad \* control de calidad interno \* punto operativo

Introducción

En el laboratorio moderno se utilizan herramientas estadísticas de control que surgen, entre otras fuentes, de la planificación del control de calidad interno (CCI). Para llegar a dicha planificación se deben tener conocimientos acerca del desempeño de los métodos en las condiciones de trabajo del laboratorio (1). El fabricante de reactivos incorpora en las especificaciones técnicas el desempeño del método, el cual ha sido evaluado con protocolos de validación aceptados internacionalmente. Estas especificaciones muchas veces no pueden reproducirse en el laboratorio de rutina ya que hay una variabilidad intrínseca que depende del equipo, del operador, de las condiciones de trabajo, y también de los protocolos de evaluación de métodos empleados por el fabricante para el establecimiento de dichas

metas (2). El Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) elabora guías para la validación de métodos analíticos con exhaustivos protocolos, los cuales generalmente son los utilizados por el fabricante de reactivos; además, hay disponibles guías de verificación con protocolos accesibles al laboratorio de rutina. En el proceso de verificación de métodos se obtienen datos del rendimiento del sistema de medición en las condiciones de trabajo del laboratorio. Con los datos de desempeño del método se obtienen estadísticos tales como el coeficiente de variación (CV), con el cual se evalúa la imprecisión o error aleatorio, y el sesgo, que mide la veracidad o error sistemático; con ambos parámetros se puede calcular el error total del método en el laboratorio (ETL) el que es cotejado con el error total permitido elegido (ETP) de distintas fuentes disponibles (CLIA' 88, Variabilidad Biológica, RCPA, etc.) (3-5). Con estos datos se puede llevar a cabo una correcta planificación del CCI y un seguimiento de forma continua a través de parámetros de desempeño tales como el error total, presupuesto de error y six-sigma. La metodología six-sigma nació en la actividad industrial como una herramienta para la mejora de los procesos de producción y hace unos años fue introducido el concepto en el laboratorio de análisis clínicos para monitoreo del rendimiento de los métodos analíticos. Una buena meta de calidad es obtener un error total del laboratorio (ETL) < error total permitido (ETP) y rendimientos 4-sigma. Los datos obtenidos de esta aplicación resultan útiles para el seguimiento de las metodologías de análisis y para detectar pequeños desvíos y tendencias en el tiempo. De esta forma de trabajo se desprende la posibilidad de anticipar una inestabilidad en el sistema de medición que pueda afectar la calidad de los resultados emitidos por el laboratorio (6).

La participación en programas de ensayos de aptitud y comparaciones interlaboratorios permite la comparación con los pares y obtener índices de rendimiento fundamentalmente en términos de veracidad (7-9).

La elección de las reglas de control, que se aplicarán a los gráficos de Levey-Jennings, se realiza de acuerdo al desempeño observado para el método. Una estrategia para la implementación de un CCI utiliza el siguiente diseño: alta tasa de detección de errores, baja tasa de falsos rechazos y establecimiento real del concepto de corrida analítica, definida por el CLSI como el período de tiempo o cantidad de muestras analizadas durante el cual el sistema de medición (en términos de precisión y veracidad) se mantiene estable (10-12).

Planificar el CCI es un eslabón fundamental de la mejora continua sobre el cual se asienta el desarrollo de los requisitos técnicos en un laboratorio de análisis clínicos; esto permite obtener seguridad y confiabilidad analítica en los resultados. El CCI es importante para detectar errores, así como en el monitoreo de la estabilidad y desempeño del sistema de medición. En este sentido, la participación en programas

de evaluación externa de la calidad permite establecer comportamientos y tendencias de las mediciones realizadas, y de esta manera obtener un aseguramiento de la calidad de las mismas.

Es de fundamental importancia establecer el desempeño de los métodos; la métrica six-sigma puede dar una herramienta estadística para dicha evaluación. Un método tiene un "desempeño inaceptable" cuando el sigma es menor a 2-sigma; un método tiene "desempeño marginal" con rendimientos entre 2 y 3-sigma por lo que no es aconsejado para el análisis de rutina; se observa "pobre desempeño" cuando se está en la región entre 3 y 4-sigma; un método tiene "buen desempeño" entre 4 y 5 sigma; un "desempeño muy bueno" con rendimientos 5-sigma y "rendimiento óptimo" con rendimientos 6-sigma (13).

La Norma ISO 15189 contempla los requisitos de gestión y técnicos que un

laboratorio debe implementar para acreditar diferentes análisis clínicos con dicha norma; dentro de los requisitos técnicos se establecen pautas para la verificación de los métodos de análisis aunque no se especifica la forma en que se debe llevar a cabo tal procedimiento.

Este trabajo tiene como objetivo realizar la verificación de los métodos de acuerdo a especificaciones internacionales detalladas en guías publicadas por el CLSI; desarrollar todos los protocolos vinculados al establecimiento de precisión, veracidad, linealidad, límite de detección, valores de referencia, comparación de equipos y confrontar estos parámetros con los especificados por el fabricante de reactivos. Una vez finalizada la etapa de verificación de métodos, obtener herramientas para la planificación del CCI; seleccionar reglas de control y el número de controles a ser medidos (14-20). Relacionar el seguimiento del CCI con los datos obtenidos del Control de Calidad Externo (CCE). Finalmente se



STAMBOULIAN  
LABORATORIO

## PORQUE UN DIAGNÓSTICO PRECISO NECESITA RESULTADOS CONFIABLES.

Nuestro laboratorio integral está al servicio del profesional, brindando resultados confiables y asesoramiento para su interpretación, y facilitando información precisa que colabore con el diagnóstico, seguimiento y prevención de las enfermedades.

Nuestro compromiso: brindar un servicio personalizado a través de un equipo de especialistas, cumplir con los más exigentes estándares de calidad, y garantizar confiabilidad y exactitud en los resultados.

PLANTA DE PROCESAMIENTO  
Av. Scalabrini Ortiz 676

DPTO. COMERCIAL LABORATORIO  
4858-7061 al 63

[laboratorio@stambouliau.com.ar](mailto:laboratorio@stambouliau.com.ar)

Centro de Atención Telefónica  
5411 4515-3000

[www.stambouliau.com.ar](http://www.stambouliau.com.ar)

STAMBOULIAN  
PRIMERO, LA SALUD

intentó realizar un aporte al concepto de Manejo Total de la Calidad, en el cual se conjugan dos aspectos como la excelencia analítica (requisitos técnicos) y un sistema de gestión (requisitos de gestión), ambos orientados a la mejora continua del laboratorio de análisis clínicos.

## Materiales y Métodos

**Autoanalizador y reactivos:** Para realizar las determinaciones se utilizó un autoanalizador Hitachi Modular P 800 de Roche Diagnostics (Mannheim, Alemania) el cual se designó como P1 y otro módulo de iguales características el cual se designó como P2. Para realizar la verificación de los métodos se utilizaron muestras de sueros de pacientes y muestras adicionadas, de acuerdo con las necesidades operativas; además, se utilizaron reactivos y controles liofilizados, Precinorm (PNU) y Precipath (PPU), provistos por el fabricante (Roche Diagnostics).

**Procedimientos de verificación:** En el año 2008 el laboratorio acreditó bajo la norma ISO 15189 un total de 22 analitos de química clínica y 9 de endocrinología. A modo de ejemplo se muestran los procedimientos realizados para la verificación de las metodologías analíticas para la medición en matriz sérica de glucosa (por el método enzimático colorimétrico de GOD PAP modificado basado en la publicación de Trinder de 1969), creatinina (por el método cinético colorimétrico basado en la reacción de Jaffé descrita por Popper et al. y modificada por Bartels) y LDH (test UV descrito por Wacker et al. y derivado de la formulación recomendada por la Sociedad Alemana de Química Clínica DGKC en 1972). Se utilizaron las guías del CLSI; EP15-A2 (21) para verificación de precisión intermedia (intra-laboratorio) y repetibilidad (intra-corrída), medidas como desviación estándar (DE) o CV, y para evaluar veracidad, antes denominada exactitud, medida en términos del sesgo o error sistemático. Las determinaciones se realizaron con material control (PNU y PPU) los cuales tienen trazabilidad conocida; la EP15-A2 está diseñada para la verificación

de precisión y veracidad de un método que previamente fue validado por el fabricante. Se utilizó la guía EP6-A (22) para verificar linealidad, la guía EP9-A2 (23) para comparación entre equipos, la guía EP17-A (24) para la verificación del límite de detección. Para la verificación de los valores de referencia se siguieron las recomendaciones de la IFCC (Internacional Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) y la guía C28-A2 (25) del CLSI.

**Análisis de los datos:** Para realizar el procesamiento estadístico de los datos se utilizó una planilla de cálculo de Excel y la versión demo del programa "EP Evaluator v 7" (www.dgrhoads.org).

**Control de calidad interno:** Para el establecimiento de las reglas de CCI, así como para determinar el punto operativo, la probabilidad de falso rechazo y la probabilidad de detección de errores se utilizó el programa EZ Rules® v3 de James Westgard (17)(26). El laboratorio participa de un programa interlaboratorios mensual (QCS Roche Diagnostics); los datos del CCI mensual, tanto para PNU como para PPU, son enviados vía e-mail, obteniéndose a las 48 horas el informe de los mismos junto a los del grupo de laboratorios participantes.

**Control de calidad externo:** Se utilizó el programa EQA bank (licencia de producto de Philippe Marquis, Metz, Francia) con el propósito de realizar la comparación de los valores obtenidos de la participación en un programa de evaluación externa de la calidad con nuestras especificaciones de calidad.



Tabla 1. Comparación en términos de precisión para glucosa, creatinina y LDH en los módulos P1 y P2.

	Glucosa (mg/dL)		Creatinina (mg/dL)		LDH (U/L)		
	P1	P2	P1	P2	P1	P2	
PNU	DE intra corrida (fabricante)	2,20	2,20	0,09	0,09	6,0	6,0
	DE intra corrida (laboratorio)	0,88	1,18	0,04	0,04	4,1	3,3
	Valor de verificación	3,15	3,15	0,13	0,13	8,6	8,6
	DE intra laboratorio (fabricante)	3,30	3,30	0,12	0,12	6,0	6,0
	DE intra laboratorio (laboratorio)	2,30	2,36	0,05	0,05	5,6	3,1
	Valor de verificación	5,28	5,28	0,16	0,16	9,9	8,2
PPU	DE intra corrida (fabricante)	5,00	5,00	0,10	0,10	15,6	15,6
	DE intra corrida (laboratorio)	1,76	4,06	0,04	0,06	7,7	4,8
	Valor de verificación	7,16	7,16	0,14	0,14	22,2	22,2
	DE intra laboratorio (fabricante)	7,50	7,50	0,13	0,13	20,7	20,7
	DE intra laboratorio (laboratorio)	4,93	5,42	0,09	0,10	8,1	4,1
	Valor de verificación	12,02	10,96	0,20	0,20	32,2	28,9

PNU: control normal comercial; PPU: control patológico comercial; DE: desviación estándar; P1-P2: analizadores Modular P.

**Matriz de calidad:** Se diseñó en una planilla de cálculo tipo Excel una matriz de calidad donde se mostró el ETP y la fuente elegida, las unidades de cada analito, el "n" (número de mediciones realizadas por mes), la media, DE, sesgo, CV, ETL, el six-sigma y el error sistemático crítico (ESC). Además, se calculó el índice de desviación estándar (IDE) y el índice de coeficiente de variación (CVI) para realizar la comparación de los valores medios y DE con los del grupo de laboratorios participantes en el programa interlaboratorios QCS.

## Resultados

### Precisión

Se realizaron mediciones por triplicado durante cinco días consecutivos de dos materiales controles PNU (control normal) y PPU (control patológico) para glucemia, creatininemia y LDH. Las determinaciones fueron realizadas en cada uno de los módulos P1 y P2. Los datos obtenidos de DE deberían ser iguales o inferiores a los obtenidos por el fabricante para poder establecer como satisfactoria la verificación realizada en los parámetros precisión intra-corrída e intra-laboratorio. Si las DE calculadas superan a las del fabricante se realizará la comparación con el valor de verificación; para aceptar precisión los valores obtenidos por el laboratorio deben ser iguales o inferiores al valor de verificación calculado. Si esto último no se cumple, primero se deberá repetir el experimento y luego pedir asesoramiento al fabricante del reactivo en caso de no poder completar exitosamente el protocolo. Los resultados obtenidos para los tres analitos

Los bioquímicos de **Entre Ríos** también cuentan con nosotros...

## **Somos Socios Complementarios**



**Parque Nacional El Palmar - Entre Ríos**

Informes: (5411) 4508 2091 - [www.genesis-manlab.com.ar](http://www.genesis-manlab.com.ar)

**MANLAB**<sup>®</sup>  
Diagnóstico Bioquímico y Genómico

evaluados, en términos de repetibilidad y precisión intermedia, fueron menores a lo especificado por el fabricante, verificando en consecuencia estos parámetros de precisión (Tabla I).

### Veracidad

Se emplearon los duplicados de los cinco días del protocolo de precisión, de los dos niveles del control, para los tres analitos en los dos módulos, P1 y P2. El valor asignado al material control, con su incertidumbre asociada, fue provisto por el fabricante del mismo; este material tiene distintos niveles de trazabilidad, entendiendo por trazabilidad la propiedad del resultado de una medida o del valor de un estándar el cual pueda estar relacionado con referencias especificadas, usualmente estándares nacionales o internacionales, a través de una cadena continua de comparaciones, todas con incertidumbres conocidas (27). Se utilizó un factor de cobertura de 2 ( $K=2$ ). Se calcularon los límites inferior (LI) y superior (LS) del intervalo de verificación; si el valor asignado al control está contenido dentro de estos límites se verifica veracidad; si lo último no se cumple se deberá repetir el experimento. Se cumplió con el protocolo para verificar veracidad en los tres analitos evaluados (Tabla II).

### Linealidad

Para realizar el ensayo de linealidad se preparó una serie de diluciones a partir de una muestra de suero con concentración cercana a la dada por el fabricante como límite superior del rango reportable. Con esa muestra de máxima concentración y una muestra de concentración "cero" (solución fisiológica), se realizaron tres diluciones con valores intermedios equidistantes; cada punto se valoró por triplicado. El programa informático utilizado para procesar los datos realiza la verificación de linealidad clínica para lo cual tiene en cuenta el porcentaje de error sistemático asignado; se asignó un 50% del ETP. El programa resuelve la aceptación o no de la linealidad; un ensayo de linealidad acepta-



Tabla II. Datos correspondientes a protocolo de veracidad para glucosa, creatinina y LDH

	Glucosa (mg/dL)		Creatinina (mg/dL)		LDH (U/L)	
	P1	P2	P1	P2	P1	P2
Valor asignado	95,5	95,5	1,21	1,21	329	329
Incertidumbre expandida	1,14	1,14	0,02	0,02	3,48	3,48
k	2	2	2	2	2	2
LI intervalo verificación	93,7	94,3	1,12	1,15	314	314
LS intervalo verificación	98,7	99,3	1,22	1,24	329	329
Valor asignado	250	250	3,92	3,92	518	518
Incertidumbre expandida	3,43	3,43	0,08	0,08	5,54	5,54
k	2	2	2	2	2	2
LI intervalo verificación	243	243	3,87	3,91	517	517
LS intervalo verificación	258	258	4,04	4,27	541	541

PNU: control normal comercial; FPU: control fisiológico comercial; DE: desviación estándar; F1-F2: Analizadores Modular P EOC; F: factor de cobertura; LI: límite inferior; LS: límite superior.



Tabla III. Datos de linealidad para glucosa (mg/dL)

Diluciones	Asignado	%	Estimado	Media	Residual	Linealidad	Concentraciones medidas
Dil 1	0,0	0	-1,2	0,0	1,2	Aceptada	0 0 0
Dil 2	179,5	25	179,4	179,0	-3,4	Aceptada	176 177 175
Dil 3	359,0	50	359,0	359,0	-7,0	Aceptada	351 350 358
Dil 4	538,5	75	540,7	551,7	13,0	Aceptada	543 552 558
Dil 5	718,0	100	721,3	718,0	-3,3	Aceptada	709 726 719

Resumen de los parámetros estadísticos de los triplicados de cada uno de los cinco diluciones. La aceptación de la linealidad se basa en la ecuación de la línea y en el error sistemático.

do supone que los triplicados tienen una varianza constante en todos los niveles evaluados y el sesgo observado no supera el 50% del ETP. En la Figura 1 se muestran los resultados para glucosa determinada con el módulo P1; en la Tabla III se muestran los datos experimentales obtenidos. Para los otros analitos se utilizó el mismo programa y los resultados cumplieron con las metas de linealidad (datos no mostrados).

### Límite de Detección

Para estimar el límite de detección se realizaron 10 mediciones de muestras de solución fisiológica (concentración cero) y 5 mediciones de una muestra de concentración baja, cercana a lo especificado por el fabricante como límite de detección para el método (PNU diluido 1/3) (24).

Para el cálculo se utilizaron los valores de absorbancia de ambas muestras las cuales fueron introducidas en el programa "EP evaluator v 7". El programa confecciona una curva cuya ordenada al origen es el promedio de las absorbancias de la concen-

tración cero y el segundo punto corresponde al valor medio de absorbancia del control diluido intrapolando en el eje "x" el valor correspondiente; el límite de detección se obtiene de intrapolar el promedio de las absorbancias de la concentración cero + 2DE. El valor obtenido debe ser igual o inferior al dado por el fabricante (Tabla IV). Para el resto de los analitos evaluados, el procedimiento aplicado fue el descrito arriba; los resultados obtenidos fueron menores a los establecidos por el fabricante en ambos módulos P1 y P2 (datos no mostrados).



Tabla IV. Datos correspondientes al límite de detección

Límite de detección		
2 DE límite del fabricante (55% confianzas), 0,05 mg/dL (dato del fabricante: 0,3 mg/dL)		
Nuestro límite de detección: Pasa		
Ejemplar		
Concentración	Medida	DE
0	2,0	4,0
0,4	18,4	1,5

Resumen de los límites de detección por sistema. Los 2 DE del límite del fabricante no se alcanzan al dato por el fabricante en el control de equipo.

## Comparación de módulos P1 vs. P2

Se realizaron como mínimo 20 mediciones de muestras de pacientes que cubrían el rango de linealidad de cada uno de los analitos en ambos módulos P1 y P2 durante 5 días consecutivos según lo especificado por el protocolo utilizado (23). Se evaluó el coeficiente de correlación "r", la ecuación de la recta, obtenida por regresión de Deming, además de los puntos de decisión médica para cada uno de los analitos. La comparación de módulos fue satisfactoria para los tres analitos evaluados. La Figura 2 muestra los resultados obtenidos para LDH.

### Intervalos de referencia

Para la verificación de los intervalos de referencia se obtuvieron como mínimo 20 muestras de sujetos saludables; la verificación arroja un resultado satisfactorio cuando como máximo el 10% de los resultados obtenidos están por fuera del intervalo propuesto por el fabricante (25); en los tres analitos se verificaron los valores de referencia. En la Figura 3 se muestran los resultados para glucosa.

### Determinación del punto operativo

Con los datos obtenidos de CV, sesgo y ETL se determinó el punto operativo (PO). El PO describe cómo opera una metodología, y así se evalúa el rendimiento de la misma. Esto se evidencia a través de un gráfico en el cual en el eje de las "x" se representa la imprecisión y en el eje de las "y" se representa la veracidad. De esta gráfi-

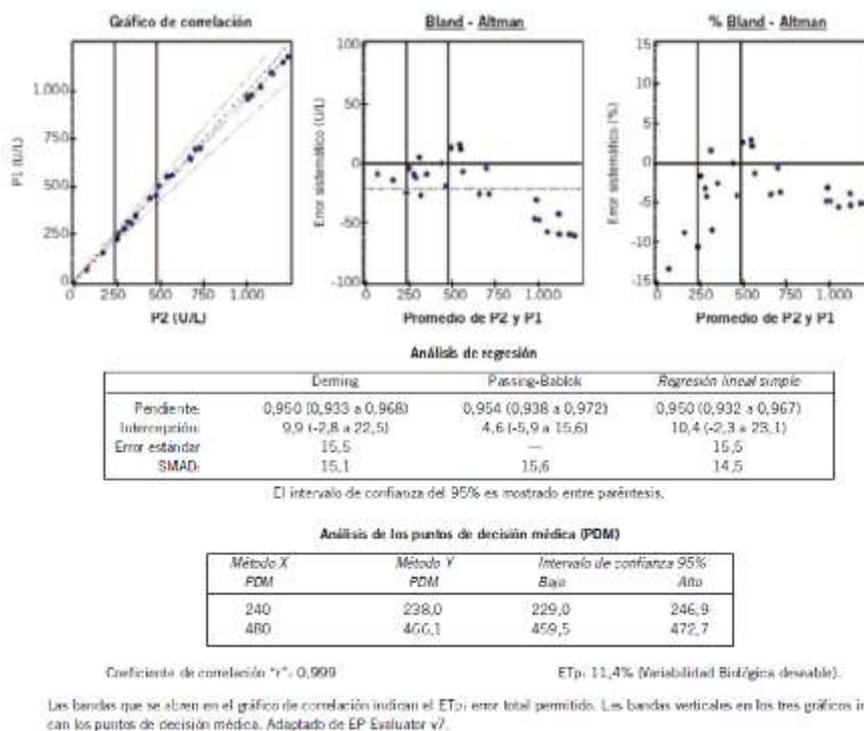


Figura 2. Comparación entre módulos P1 vs P2 para LDH.

ca surge cuántas muestras controles son necesarias procesar en cada corrida analítica y qué reglas de control se deben aplicar. Como ejemplo se muestran en las Figuras 4 y 5 los resultados obtenidos para Glucosa P1 (PPU). La probabilidad de rechazo es la probabilidad de que una dada regla de control pueda generar una señal de rechazo. Cuando no hay errores analíticos presentes, excepto los inherentes a la imprecisión del método analítico, la probabilidad de rechazo puede ser descrip-

ta como probabilidad de falso rechazo (Pfr). Cuando un error analítico está presente, se utiliza el término de probabilidad de detección de error (Pde). Las funciones de poder consisten en presentar la información acerca del desempeño de una regla de control en un gráfico de probabilidad de rechazo versus la medida del error analítico como se muestra en la Figura 5. El objetivo es obtener >90% de Pde y menos del 5% de Pfr con un N (cantidad de controles a ser analizados) lo más bajo

# DIAGNOS MED S.R.L.

Conesa 859 (C1426AQR) CABA  
Tel. 011 4552-2929 (Rot.) - Fax 011 4551-5296  
info@diagnosmed.com - www.diagnosmed.com



www.diasource-diagnostics.com

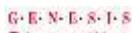


- 1,25(OH) 2 Vitamina D, RIA CT  
- 25 (OH) Vitamina D total ( D2 + D3 ) elisa y próximamente ría fase sólida  
- 25 (OH) Vitamina D3 ría fase sólida

full spectrum cell analysis  
**eBioscience** Immunoassays  
www.ebioscience.com

We have your solution...  
Bead-Based Multiplexing

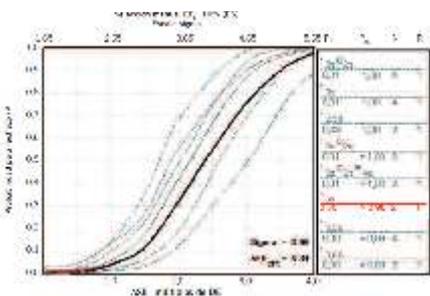
- FlowCytomix™ Multiple Analyte Detection System Comprehensive, Validated ELISA
- Platinum ELISA Kits
- Instant ELISA® Kits
- High Sensitivity ELISA Kits Coat-It-Yourself ELISA Products
- Ready-SET-Go!® ELISA Sets
- Ready-SET-Go!® ELISPOT
- ELISA Antibodies & Recombinants
- Cytokine elisa kits Th 17 Cell products.



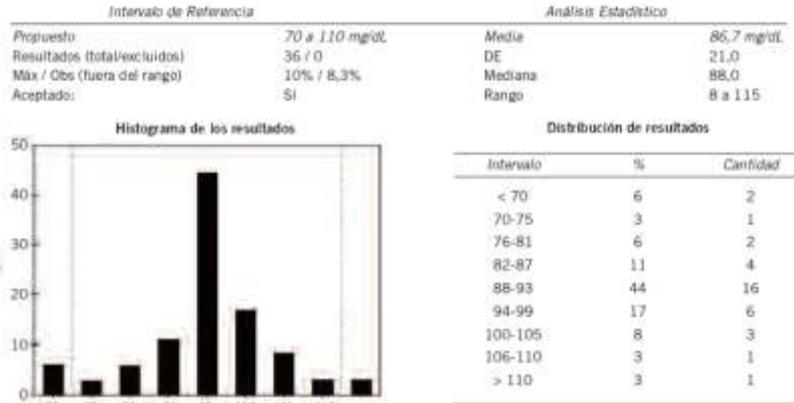
posible y en una sola corrida analítica (13). En el ejemplo que se muestra se elige la regla 13s ya que tiene una Pfr del 0% y la Pde es mayor al 98%, con 2 controles en una corrida analítica. El error sistemático crítico (? SE) representa el número de DE que la media puede desviarse antes de que el 5% de los resultados excedan el límite para el ETP.

**Matriz de calidad**

Se confeccionó una matriz de calidad en la cual se registraron todos los meses los datos obtenidos del QCS y además se realizó el seguimiento del desempeño de todos los analitos. Los siguientes parámetros forman parte de la matriz: ETP y la fuente de donde se obtuvo ese valor, el valor de PNU y PPU, el número de mediciones realizadas en el mes, la media y DE del laboratorio, la media y DE del grupo, índice de desvío estándar (IDE) que mide la diferencia entre la media del laboratorio con la media del grupo dividido el DE del grupo; dicho resultado debe ser menor a 2 para considerarlo aceptable, el índice del coeficiente de variación (ICV) que es el cociente entre la DE del laboratorio y la del grupo; dicho índice debe ser menor a 1, el sesgo o error sistemático (medialab - mediagrupo/ mediagrupo).100, CV, ETL (sesgo + 2.CV), el six-sigma (ETP - sesgo / CV) y el error sistemático crítico (ESC) (Tabla V).



Establecimiento de la regla de control con baja probabilidad de falso rechazo (Pfr) y alta probabilidad de detección de error (Pde), con 2 controles (N) por corrida analítica (R) S E crit: delta sistemático crítico: Gráfico adaptado del programa EZ rules v3. Figura 5: Determinación de la regla de control en los gráficos de poder.



El 90% de los resultados deben caer dentro del rango propuesto por el fabricante. Los valores obtenidos deben estar distribuidos en todo el rango de concentración evaluado. Adaptado de EP Evaluator v7.

Figura 3. Verificación del intervalo de referencia para glucosa.



Tabla V. Matriz de calidad

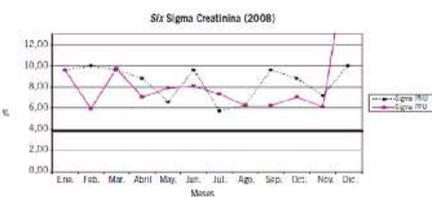
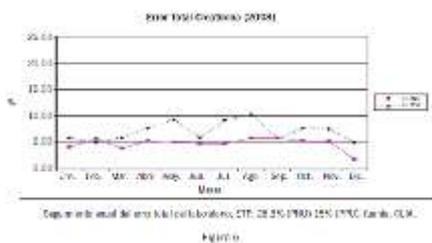
Análisis	ETP (%)	Cuentas	PNU PPU	N lab	Media lab	DE lab	Media grupo	DE grupo	IDE	ICV	ICV	Sesgo (%)	CV	ETL (%)	Sigma	ESC
Creatinina (mg/dL)	26,3	0,14	1,14	26	1,15	0,04	1,13	0,06	0,33	0,67	0,88	3,48	7,83	7,3	5,65	
Creatinina (mg/dL)	15	0,14	3,92	26	3,99	0,08	3,93	0,13	0,46	0,62	1,79	2,01	5,80	5,6	4,94	
Glucosa (mg/dL)	10	0,14	53,3	26	93,6	1,97	92,5	2,81	0,45	0,76	0,33	2,10	4,51	4,5	2,94	
Glucosa (mg/dL)	10	0,14	247	26	252	2,91	246	5,55	0,99	0,52	1,89	1,1	64,21	7,0	5,34	
LDH (U/L)	11,4	0,14	308	30	314	6,61	308	8,45	0,68	0,78	2,05	2,10	6,25	8,5	5,99	
LDH (U/L)	11,4	0,14	520	30	523	9,75	520	11,96	0,24	0,61	0,61	1,67	4,34	10,4	8,74	

ETP: error total permitido; PNU/PPU: control normal y patológico; ETL: error total laboratorio; ESC: error sistemático crítico.

**Error total, presupuesto de error y six-sigma**

Para realizar el seguimiento mensual del desempeño del método se confeccionaron gráficos en planilla de Excel en los cuales se representan mes a mes el ETL y el six-sigma. De acuerdo con los objetivos de calidad se considera aceptable trabajar con un six-sigma 4 y el ETL < ETP.

En las Figuras 6 y 7 se muestra el seguimiento anual para creatinina, para cada nivel de concentración (PNU y PPU), durante el año 2008. Otro gráfico de seguimiento que podría ser utilizado consiste en calcular el porcentaje del ETP que corresponde al error sistemático y al error aleatorio, evaluando mes a mes estos valores se puede establecer un presupuesto de error para cada analito.



Seguimiento anual six-sigma para creatinina con el control normal (PNU) y patológico (PPU). La línea negra denota el requerimiento de desempeño del método (4-sigma).

Figura 7.



## La vida es más fácil cuando tenemos en quién confiar.

A la hora de prevenir, detectar y monitorear enfermedades se requieren resultados en los que se pueda confiar y... "rápidamente".

Roche pone a su disposición la más amplia gama de productos y servicios. Los innovadores productos de la línea Cobas lo ayudarán en el diagnóstico y el seguimiento ofreciéndole las mejores soluciones. Porque la vida necesita respuestas.



Productos Roche S.A.Q. e I.  
División Diagnóstica  
Rawson 3150 - Ricardo Rojas  
Tigre - Buenos Aires

**cobas**<sup>®</sup>

*Life needs answers*

### Seguimiento del control de calidad externo

El laboratorio participa en un programa nacional de CCE el cual informa los resultados quincenalmente para analitos de química clínica. El informe incluye el resumen estadístico de los datos de todos los participantes del programa con sus respectivos analizadores, métodos y marca de reactivos. Además, se incluye un histograma de los datos aportados por el grupo; con una marca se consigna en el mismo el resultado enviado por el laboratorio. En el informe se detalla la aceptación o no del resultado del laboratorio con respecto al grupo de pares, método y analizador. Además de la aceptación del resultado enviado por parte del programa se realiza un seguimiento mensual de acuerdo con las especificaciones de calidad con el programa EQA-bank en el cual se consigna el ETP para cada analito y el presupuesto de error asignado al sesgo o error sistemático. El valor medio aportado por el programa para el grupo de pares es introducido como valor



Tabla VI. Seguimiento del CCE con el programa "EQA-Bank".

	Valor Target		Resultado Lab.	C.V.		ETP	Unidades
<b>Creatinina</b>							
21/02/2009	4,57		4,47	2,2		15,0	mg/dl
04/02/2009	2,02		1,84	4,1		15,0	mg/dl
<b>Glucose</b>							
21/02/2009	115		114	1,8		10,0	mg/dl
04/02/2009	124		123	0,8		10,0	mg/dl
<b>LDH</b>							
21/02/2009	189		189	0,0		11,4	UIA
04/02/2009	189		189	0,0		11,4	UIA

Valor Target: valor medio del grupo de pares participantes del CCE; Resultado Lab.: resultado enviado por el laboratorio; C.V.: coeficiente de variación; ETP: error total permitido.

"target" además del valor enviado por el laboratorio; el programa calcula el sesgo y da una marca gráfica para denotar la aceptación (color verde), alarma (color amarillo) o rechazo (color rojo) en donde se superó el 50% de sesgo con respecto al ETP. En la Tabla VI se observan los resultados obtenidos en el mes de febrero de 2009 para los tres analitos.

### Discusión y Conclusiones

El proceso de verificación es un requisito necesario para alcanzar la acreditación de un sistema de calidad bajo la norma ISO 15189. En este contexto la evaluación de métodos es clave para la mejora continua de los servicios del laboratorio, su cumplimiento con los requerimientos internacionales de calidad, así como con los organismos de

DIAGAM

## INMUNOTURBIDIMETRIA

**DIAGAM**

Empresa de origen belga, líder en el desarrollo de reactivos para inmunturbidimetría, tecnología basada en el uso de oro coloidal. Apto para uso manual o automatizable.

### KIT DE REACTIVOS, CALIBRADORES Y CONTROLES:

Albumina	Complemento C3	Immunoglobulina A	Microalbuminuria
Alpha1-glicoproteína ácida	Complemento C4	Immunoglobulina G	Lipoproteína (a)
Alpha1-antitripsina	CRP (Proteína C Reactiva)	Immunoglobulina M	Fibrinogeno
Alpha2-macroglobulina	CRP XL Amplio rango	Lipoproteína (a) [Lpa]	Ferritina
Antitrombina III	CRP XS Cardio NanoGold	Microalbuminuria	Proteína C reactiva
Apolipoproteína A1	Ferritina	Prealbumina	Apolipoproteína A1 y B
Apolipoproteína B	Fibrinogeno	Factor reumatoideo	Factor reumatoideo
Ceruloplasmina	Haptoglobina	Transferrina	Calibrador multiparamétrico



acreditación; además, permite mejorar la confiabilidad de los resultados emitidos por los laboratorios de análisis clínicos (7).

El desarrollo de protocolos estándar de evaluación, tales como los del CLSI, ha contribuido a definir y protocolizar la recolección de los datos, el procesamiento estadístico de los mismos y la interpretación de los resultados obtenidos. Aunque la aplicación de estas guías trata de unificar criterios, existen todavía algunas divergencias en cuanto a la interpretación que cada uno realiza de los resultados obtenidos; los protocolos de evaluación basan la aceptación o rechazo de los datos en significancias estadísticas y no juzgan el impacto clínico de tal diferencia. Muchas veces sucede que los protocolos de precisión y veracidad no son aceptados debido a que los datos aportados por el fabricante sobre el desempeño del método fueron realizados en condiciones distintas a las de rutina de un laboratorio de análisis

clínico. Asimismo, las concentraciones de algunos controles y calibradores son asignadas con métodos de referencia, como el de espectrometría de masas, los cuales no son los mismos que los métodos de campo y esto produce un efecto matriz y un sesgo demasiado elevado; la participación en programas interlaboratorios, en donde se obtiene el valor medio del grupo de pares, suele dejar en evidencia este inconveniente. Otro problema es la obtención de información, por parte del fabricante de reactivos, en cuanto al desempeño del método, lo cual no siempre es detallado en el inserto del equipo como así también la incertidumbre y trazabilidad de calibradores y del material de control; un eficiente asesoramiento técnico es fundamental para la correcta realización e interpretación de los resultados. Los protocolos de verificación deben seguir un orden, el protocolo de precisión y veracidad debe ser aceptado para seguir con la linealidad y así sucesivamente hasta la

verificación del intervalo de referencia. Establecer la linealidad del método nos brinda el rango dinámico de concentración. La simple inspección visual del gráfico de dispersión puede ser suficiente para establecer la linealidad de un método, no obstante parámetros estadísticos como la aceptación de varianza constante en todo el rango evaluado y veracidad dentro de lo permitido aportan seguridad en cuanto a aceptar linealidad clínica (13); algunos programas informáticos determinan linealidad matemática (28-30). El límite de detección tiene importancia en métodos de pesquisa y sólo es útil en métodos cuantitativos para establecer el rango dinámico del método. El límite de cuantificación o sensibilidad funcional es de importancia en analitos en los cuales se toman decisiones médicas a bajas concentraciones, como por ejemplo con TSH, y sirve para establecer el rango del método.



Unica

## Electroforesis Totalmente Automatizada



Ideal para laboratorios pequeños y medianos

**Genio S**

Acetato de Celulosa

- Corridas adaptables de 1 a 8 muestras
- Densitómetro incorporado
- Peine de siembra calibrado
- Tiempo y voltaje de migración regulables
- Ajuste de curvas y puntos de integración
- Informes individuales y colectivos
- Software amigable de fácil manejo
- Totalmente automático

Para electroforesis de:  
Seroproteínas – Lipoproteínas  
Hemoglobina – Proteínas Urinarias



**G26**

Gel de Agarosa

Ideal para laboratorios medianos y grandes



Av. Ing. Huergo 1437 P.B. "1" C1107APB - Buenos Aires - Argentina Tel./Fax: +5411 4300-9090

info@biodiagnostico.com.ar www.biodiagnostico.com.ar

La comparación entre instrumentos sirve para obtener datos en cuanto a sistemas alternativos de análisis ante fallas del analizador de rutina. El protocolo de linealidad da el rango de concentraciones entre las cuales se realiza la comparación; la evaluación de la ecuación de la recta, del coeficiente de correlación "r", el cual debe ser  $>0,975$  y contar con muestras en los puntos de decisión médica, con sesgos no significativos, aportan las herramientas para dar como aceptable la comparación.

La planificación del CCI se realizará posteriormente a la verificación de los métodos (3); de los protocolos realizados se obtendrán los datos necesarios para armar los gráficos de Levey-Jennings.

El seguimiento del rendimiento del método con el ETL y el six-sigma dará seguridad analítica. Al comienzo de la planificación la asignación de reglas de control se realizará mensualmente hasta que se logre estabilidad analítica, con lo cual el monitoreo del sistema se basará en el control de la estabilidad y en implementar herramientas que detecten con alta sensibilidad posibles inestabilidades. Cuando se logra la estabilidad analítica de los métodos se deberá esperar una variación dentro de ciertos límites para el ETL, six-sigma, CV y error sistemático para cada analito; confeccionar gráficas de presupuesto de error asignando un CV permitido entre 17% - 25% y un sesgo o error sistemático entre 25% - 50% podrá brindar un manejo del rendimiento del método mes a mes. La interpretación del six-sigma de un método, considerando que métodos 6-sigma tienen alto rendimiento, debe ser evaluado teniendo en cuenta el ETP elegido; métodos 6-sigma con especificaciones de calidad de CLIA'88 pueden pasar a ser 3-sigma con especificaciones de variabilidad biológica. La evaluación del rendimiento del método debe realizarse teniendo en cuenta todas las etapas del proceso. Una vez que el sistema analítico es estable en el tiempo la re-asignación de ETP puede ser un objetivo de calidad y un indicador de mejora continua ya que al principio se puede optar

por metas no tan exigentes debido a que se desconoce el desempeño de los métodos. El error sistemático crítico es un excelente marcador del desempeño del método y es utilizado junto con el six-sigma para el establecimiento de las reglas de control.

La elección del proveedor del CCE debería basarse en los lineamientos de la norma ISO 17043 y en satisfacer los criterios establecidos por el laboratorio. Siempre hay que tener en cuenta que el análisis de los resultados del CCE es retrospectivo y que los registros diarios de las condiciones de trabajo ayudan a identificar problemas a la hora de analizar resultados rechazados. Si se analiza el sesgo observado con cada muestra mes a mes, éste tiene un comportamiento aleatorio alrededor del "cero" (sin sesgo); esto debería alertar sobre la presencia de un error sistemático si tres informes seguidos tienen un sesgo del mismo signo.

Es de importancia que cada laboratorio identifique los eventos adversos e implicancias clínicas de los resultados obtenidos en cada una de las etapas de análisis (7).

El proceso de verificación de métodos y planificación del CCI son de fundamental importancia para optimizar la etapa analítica; los resultados se ven reflejados en una disminución de las calibraciones y en el conocimiento del sistema de medición con lo cual se obtiene un manejo total del desempeño de los métodos analíticos (3). El sistema de gestión de calidad del laboratorio debe ser práctico y dinámico para las etapas pre analítica, analítica y pos-analítica, con registros que optimicen la detección de errores y la trazabilidad del sistema.

#### Agradecimientos

Al Doctor Sergio Grutadauria por su colaboración en la traducción de textos.

#### Correspondencia

Bioq. Ricardo Guglielmone - Bioq. Silvia

#### Barzón

Laboratorio Central - Sanatorio Allende  
Independencia y Obispo Oro (7mo piso)  
CP 5000 (Córdoba)  
República Argentina  
Tel: 0351-4222425 / 4251126  
E-mail: rguglielmone@hotmail.com  
sibarzon@hotmail.com

#### Bioq. Esp. Hematología César Collino

Depto. Bioquímica Clínica -CIBICI- CONICET  
Facultad de Ciencias Químicas - Universidad Nacional de Córdoba  
Tel.: +54-351-4344973/74/75/76 Int. 103. Cel: +54-351-156245311  
Dirección: Medina Allende esq. Haya de la Torre.  
Ciudad Universitaria - CP 5000 - CÓRDOBA - Argentina.  
E-mail adicional: cesarcollino@yahoo.com.ar  
www.fcq.unc.edu.ar

#### Referencias bibliográficas

1. Burtis E, Brunts D. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 4th edition. St. Louis, Missouri: ElsevierSaunders; 2006; Chap.14. p. 353-407.
2. Krouwer J. Setting performance goals and evaluating total analytical error for diagnostic assays. Clin Chem 2002; 6 (48): 919-27.
3. Westgard J, Seehafer J, Barry P. Allowable imprecision for laboratory tests based on clinical and analytical test outcome criteria. Clin Chem 1994; 10(40): 1909-14.
4. Badrick T. Quality leadership and quality control. Clin Biochem Rev 2003; 24: 81-93.
5. Westgard J. A method evaluation decision chart (MEDx chart) for judging method performance. Clin Lab Sci 1995; 8: 277-83.
6. Parvin C, Gronowski A. Effect of analytical run length on quality-control (QC) performance and the QC planning process. Clin Chem 1997; 11(43): 2149-54.
7. Guzel O, Guner E. ISO 15189 Accreditation: Requirements for quality and competence of medical laboratories, experience of a laboratory I. Clin Biochem 2009; 42: 274-8.
8. Gulderen Y. ISO 15189 Accreditation: Requirements for quality and competence of medical laboratories, experience of a laboratory II. Clin Biochem 2009; 42: 279-83.
9. Karaarslan I. Joint Commission on International Accreditation workshop: Planning, development and provision of laboratory services. Clin Biochem 2009; 42: 284-7.
10. Westgard J. Internal quality control: planning and implementation strategies. Ann Clin Biochem 2003; 40: 593-611.
11. Badrick T. The Quality Control System. Clin Biochem Rev 2008; Vol 29 Suppl.
12. Koch D, Oryall J, Quam E, Feldbruegge D, Dowd D, Barry P, et al. Selection of medically useful quality-control procedures for individual tests done in a multitest analytical system. Clin Chem 1990; 2(36): 230-3.
13. Westgard J. Basic Method validation 3<sup>o</sup> edition: Madison, Wisconsin: Westgard QC, Inc; 2008.

14. Badrick T. Quality leadership and quality control. Clin Biochem 2003; 24: 81-93.
15. Westgard J, Groth T, Aronsson T, Falk H, Henric de Verdler C. Performance characteristics of rules for internal quality control: probabilities for false rejection and error detection. Clin Chem 1977; 10(23): 1857-67.
16. Westgard J, Groth T. Power functions for statistical control rules. Clin Chem 1979; 6(25): 863-9.
17. Westgard J. Charts of operational process specifications ('OPSpecs Charts') for assessing the precision, accuracy, and quality control needed to satisfy proficiency testing performance criteria. Clin Chem 1992; 38: 1226-33.
18. Westgard J, Stein B. Automated selection of statistical quality-control procedures to assure meeting clinical or analytical quality requirements. Clin Chem 1997; 2(43): 400-3.
19. Westgard J, Groth T. Design and evaluation of statistical control procedures: applications of a computer "quality control simulator" program. Clin Chem 1981; 27(9): 1536-45.
20. Westgard J. Charts of operational process specifications ("OPSpecs Charts") for assessing the precision, accuracy, and quality control needed to satisfy proficiency testing performance Criteria. Clin Chem 1992; 7(38): 1226-33.
21. CLSI publication EP15-A2 -. User verification of performance for precision and trueness; approved

- guideline -. Second Edition (ISBN 1-56238-574-7).
22. NCCLS publication EP6-A-Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline (ISBN 1-56238-498-8).
23. NCCLS publication EP9-A2-. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline -. Second Edition (ISBN 1-56238-472-4).
24. NCCLS publication EP17-A-Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline (ISBN 1-56238-551-8).
25. NCCLS publication C28-A2-How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline -Second Edition (ISBN 1-56238-406-6).
26. Westgard J. Six Sigma Quality Design and Control: Desirable Precision and Requisite QC for Laboratory Measurement Processes. Madison, WI: Westgard QC, Inc., 2001, pp. 296.
27. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Metrological Traceability and Its Implementation; A Report. CLSI document X5-R (ISBN 1-56238-598-4). Clinical and Laboratory Standards Institute.
28. Kroll M, Præstgaard J, Michaliszyn E, Styer P. Evaluation of the extent of nonlinearity in reportable range studies. Arch Pathol Lab Med 2000; 124: 1331-8.
29. Kroll M, Emancipator K. A theoretical evaluation of linearity. Clin Chem 1993; 3(39): 405-13.

30. Emancipator K, Kroll M. A quantitative measure of nonlinearity. Clin Chem 1993; 39(5): 766-72.

Acceptado para su publicación el 25 de febrero de 2011  
Acta Bioquím Clin Latinoam 2011; 45 (2): 335-47

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana  
Incorporada al Chemical Abstract Service.  
Código bibliográfico: ABCLDL  
ISSN 0325-2957  
ISSN 1851-6114 en línea  
ISSN 1852-396X (CD--ROM)  
[http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_serial&pid=0325-2957](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_serial&pid=0325-2957)



- Diagnóstico Clínico
- Investigación Científica
- Biología Molecular
- Genética
- Biotecnología
- Identificación Humana
- Genética Forense



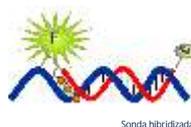
Los productos incluyen las mejores ventajas técnicas disponibles en kits de diagnóstico por PCR en tiempo real

- Química de Sondas de Hibridación (Pleiades) química propia patentada con sondas MGB cortas y altamente específicas
- Tecnología de Superbases™ para incrementar la sensibilidad y especificidad de los primers y sondas
- Formato de Monoreactivo incrementa la flexibilidad de trabajo. Facilita la automatización

Apagamiento de la fluorescencia por el fenómeno de FRET



Emisión de Fluorescencia



Av. Dorrego 673 (C1414CKB) Buenos Aires - Argentina  
Tel: 54-11-4854-7775 (rot.) Fax: 54-11-4857-0884  
[ameras@biosyst.com.ar](mailto:ameras@biosyst.com.ar) - [www.biosyst.com.ar](http://www.biosyst.com.ar)

