

Evaluación externa de calidad en Hematología: determinación de hierro sérico*

► Alejandra Fernández Alberti¹, María Cristina Cailliat², Fernando Ventimiglia³, Nilda E. Fink⁴

1. Doctora de la Facultad de Ciencias Exactas UNLP.
2. Licenciada en Bioquímica y Farmacia.
3. Bioquímico.
4. Doctora en Farmacia y Bioquímica.

* Asignatura Hematología, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. (Calle 47 y 115, 1900 La Plata, Argentina. E-mail: fink@biol.unlp.edu.ar) y Programa de Evaluación Externa de Calidad, Subprograma Hematología, de la Fundación Bioquímica Argentina.

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar el desempeño analítico de los laboratorios del Programa de Evaluación Externa de Calidad de la Fundación Bioquímica Argentina, Subprograma Hematología (PEEC-H), para la determinación de hierro sérico según los resultados de 8 encuestas. Se observó un aumento promedio de 6% en los niveles de aceptación, con respecto a las dos encuestas iniciales y en relación a los que responden, que se mantuvo en las encuestas restantes. Contrastando los métodos con y sin desproteinización para dos reactivos cromogénicos empleados (ferene y ferrozina), de la comparación de sus respectivas medias y varianzas mediante test t y ANOVA, se concluye que no hay diferencias significativas ($p > 0,05$) entre ambas condiciones. En el PEEC-H, para el analito hierro, el desvío porcentual relativo aceptable (DPRA) es de $\pm 10\%$. Entre 30 - 45% de los laboratorios tienen un desempeño aceptable que cae dentro del DPRA. Según estas consideraciones, es necesario hacer una revisión del DPRA para el analito hierro empleado en el PEEC-H. Asimismo, del análisis de los resultados surge que se requiere continuar con la Educación Continua para lograr una mayor estandarización en la metodología empleada, que redundará en una mejoría en el desempeño de los laboratorios.

Palabras clave: hierro * evaluación externa de calidad.

Summary

EXTERNAL QUALITY EVALUATION IN HEMATOLOGY: DETERMINATION OF SERUM IRON

The objective of this paper was to evaluate the analytical performance of the laboratories enrolled under Programa de Evaluación Externa de Calidad, Fundación Bioquímica Argentina, Hematology Subprogram (PEEC-H) for the determination of serum iron according to the results of 8 surveys. An average of 6% increase in the levels of acceptance was observed, with respect to the two initial surveys and in relation to those who answered. This figure persisted in the remaining surveys. Contrasting the methods with or without deproteinization for two chromogenic reactants used (ferene and ferrozine) from the comparison of their

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

and variances, using a test *t* and ANOVA, it can be concluded that there were no significant differences ($p > 0.05$) between both conditions. For the iron analyte, PEEC-H acceptable relative percentage deviation (ARPD) is $\pm 10\%$. Between 30 - 40% of the laboratories have an acceptable performance that fits within the ARPD. Bearing these considerations in mind, it is necessary to make a review of the ARPD for the iron analyte used at PEEC-H. Besides, from the analysis of the results, it becomes evident that it is necessary to go on with the Continuing Education to achieve a better standardization of the methodology used, which will result in an improvement in laboratories performance.

Key words: iron * external quality assessment.

Introducción

Los programas de evaluación externa de calidad son herramientas básicas de la garantía de calidad analítica y, particularmente, brindan un soporte educativo a los laboratorios integrantes de la red. Tienen numerosas funciones, entre ellas aportar información sobre el desempeño de los laboratorios y sobre los métodos empleados. En relación a este último aspecto, la evaluación de la metodología, en un sentido clásico, puede ser llevada a cabo por los profesionales que desarrollan dichos métodos, los entes gubernamentales que evalúan productos antes y después de ser liberados al mercado, fabricantes, usuarios o asociaciones profesionales, entre otros. Incluye estudios de precisión, linealidad, especificidad y sensibilidad analíticas, así como otros aspectos que siguen normas establecidas por organismos especializados, como por ejemplo el NCCLS (1-3). En los programas de evaluación externa de calidad, la evaluación de los métodos usados por los laboratorios de la red permite un análisis de variantes combinadas del empleo de los mismos en los diferentes laboratorios. Los datos de campo generalmente se analizan mediante la estadística descriptiva convencional y otras variables empleadas en dichos programas (4).

La determinación de hierro sérico se realiza junto a otras pruebas del laboratorio clínico como la capacidad total de fijación del hierro (CTFH) y el porcentaje de saturación de la transferrina, con fines de estudio del estado del hierro. En este medio, de acuerdo con un relevamiento realizado en el año 2000 por medio de una encuesta del Programa de Evaluación Externa de Calidad de la Fundación Bioquímica Argentina, Subprograma Hematología (PEEC-H), el 84% de los laboratorios emplea para su determinación métodos colorimétricos (5). Con la finalidad de establecer la variabilidad en los resultados, es decir evaluar el desempeño de los laboratorios, se realizaron diversas encuestas para la determinación de hierro sérico en muestras de suero liofilizado y la evaluación de los resultados es motivo de esta presentación.

En consecuencia, el objetivo de este trabajo es evaluar el desempeño analítico de los laboratorios de la red para la determinación de hierro sérico según los resultados de 8 encuestas.

Materiales y Métodos

Entre los meses de marzo de 2002 y mayo de 2004, se realizaron las encuestas n° 43 y 45 al 52, en las cuales se envió suero liofilizado a 2.013 laboratorios inscriptos en el PEEC-H. Se distribuyó el mismo vial que el utilizado para las determinaciones del Subprograma de Química Clínica y se emplearon 7 lotes con diferentes concentraciones, habiéndose repetido el envío de uno de los lotes. Los datos recibidos se analizaron estadísticamente, mediante los *softwares* Statgraphics Plus (Manugistics Inc., Rockville MD, Estados Unidos) y Excel (Microsoft Inc., Redmon WA, Estados Unidos), agrupados según la metodología empleada.

Resultados

Los laboratorios que respondieron y las respuestas aceptadas para cada encuesta se muestran en la Figura 1. Se observó que con el tiempo hubo un aumento promedio de 6%, en los niveles de aceptación, con respecto a las dos encuestas iniciales (43 y 45) y en relación a los que responden, que se mantuvo en las encuestas restantes.

Los resultados se ordenaron en grupos, según la metodología empleada, coincidente con la discriminación que aparece en la planilla de métodos del PEEC-H y se describen en la Tabla I. En dicha tabla se muestran los métodos sin discriminar si son automatizados o manuales, porque no están diferenciados como tales en la mencionada planilla. Se analizaron los resultados y se determinaron las medias grupales, desvíos estándares y coeficientes de variación.

Otro aspecto a resaltar, si se tienen en cuenta los diferentes grupos, es la posibilidad de que bajo el grupo *con desproteinización* se esté haciendo referencia a la separación del hierro no unido mediante el adsorbente CO₃Mg usado en el método de CTFH, hecho que se ha remarcado en entregas previas (6) y en caso de ocurrir introduciría un error en la apreciación de los resultados. Más aún, de acuerdo con relevamientos anteriores hechos en el PEEC-H, sólo un método comercial, que actualmente no se encuentra a la venta, emplea la des-

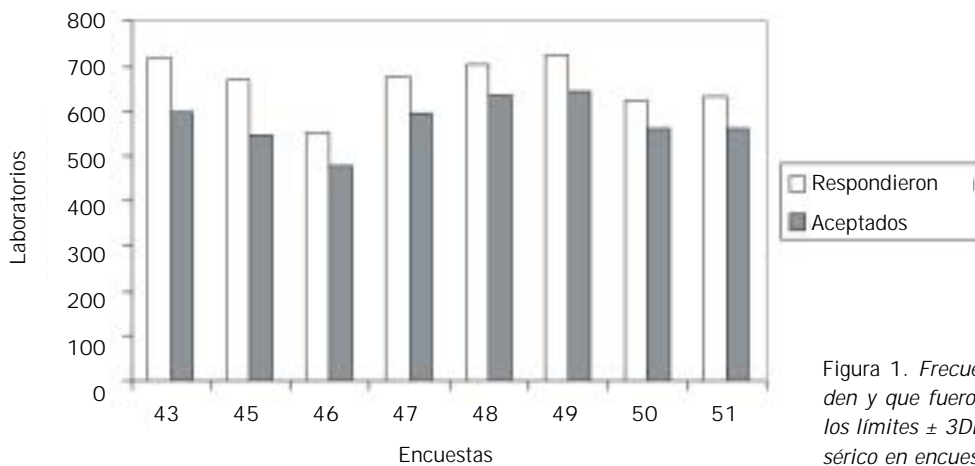


Figura 1. Frecuencia de laboratorios que respondieron y que fueron aceptados, incluidos dentro de los límites $\pm 3DE$, para la determinación de hierro sérico en encuestas del PEEC-H.

Tabla I. Medias y medidas de dispersión para el analito hierro, obtenidos para los diferentes métodos empleados en el PEEC-H (mg/L).

Métodos	Cromógenos	Encuesta	Laboratorios	Media	DE	CV
Con desproteínización	Ferene	43	13	3,21	0,52	16,07
		45	8	1,14	0,10	8,40
		46	10	2,38	0,46	19,49
		47	13	1,13	0,16	14,51
		48	11	2,42	0,55	22,51
		49	11	1,14	0,16	14,38
		50	10	2,62	0,45	17,27
		51	8	1,82	0,42	23,10
	52	9	1,25	0,49	39,02	
	Ferozina	43	21	3,08	0,40	12,95
		45	29	1,07	0,38	35,57
		46	18	2,09	0,98	46,69
		47	18	1,15	0,14	12,09
		48	22	2,62	0,34	12,82
49		22	1,07	0,16	14,38	
50		23	2,07	0,71	34,38	
51		17	1,53	0,63	41,45	
Sin desproteínización	Ferene	43	242	2,80	0,88	31,50
		45	366	1,17	0,22	19,01
		46	305	2,34	0,56	24,05
		47	382	1,16	0,43	37,29
		48	403	2,17	0,77	35,37
		49	394	0,99	0,35	35,16
		50	351	2,14	0,53	24,89
		51	344	1,82	0,40	22,07
	52	374	1,25	0,28	22,48	
	Ferozina	43	264	3,05	0,97	31,83
		45	105	1,18	0,19	16,39
		46	121	2,44	0,65	26,61
		47	159	1,10	0,45	41,16
		48	172	2,41	0,40	16,54
49		185	0,98	0,38	38,84	
50		151	2,34	0,47	20,27	
51		163	1,93	0,52	26,99	
52	175	1,27	0,29	22,74		

Tabla I. Medias y medidas de dispersión para el analito hierro, obtenidos para los diferentes métodos empleados en el PEEC-H (mg/L). (Continuación)

Métodos	Cromógenos	Encuesta	Laboratorios	Medía	DE	CV
Sin desproteínización	Batofenan-trolina	43	6	2,32	0,88	37,91
		45	7	1,20	0,53	43,76
		46	-	-	-	-
		47	-	-	-	-
		48	5	2,58	0,56	21,89
		49	6	0,97	0,27	27,38
		50	6	2,25	0,44	19,71
		51	8	1,66	0,67	40,60
		52	8	1,19	0,47	39,73
		Cromazurol B		43	27	2,70
45	31			1,32	0,48	36,05
46	24			1,97	0,89	48,19
47	24			1,31	0,52	39,42
48	23			2,03	0,83	41,04
49	25			1,05	0,49	46,81
50	18			1,82	0,69	37,81
51	19			2,02	0,39	19,40
52	18			1,37	0,28	20,53

proteínización previa (6). Contrastando los métodos con y sin desproteínización para los reactivos cromogénicos empleados (ferene y ferrozina), la comparación de sus respectivas medias y varianzas mediante *t* test y ANOVA, se concluye que no hay diferencias significativas ($p > 0,05$) entre ambas condiciones. Este hallazgo coincide con lo descrito previamente por otros autores (7). Por otra parte si se consideran los valores de CV para igual cromógeno (ferene o ferrozina) versus la condición con o sin desproteínización, se observa que la dispersión es más marcada para ferene que para ferrozina, lo que podría estar involucrando algún efecto diferencial del cromógeno, aunque no fue estadísticamente significativo.

Otro aspecto evaluado en los métodos con y sin desproteínización, que emplean como cromógeno ferene y ferrozina, fue la variabilidad analítica expresada como coeficiente de variación en función del valor consenso para los niveles de hierro entre las diferentes variantes de métodos y lotes empleados. Los resultados obtenidos se presentan en la Figura 2 y los coeficientes de correlación lineales obtenidos fueron no significativos ($p > 0,05$). Esto indicaría que no hay correlación y esta imposibilidad de detectarla posiblemente esté condicionada por la proximidad de los niveles férricos en las diferentes encuestas.

Si bien esta evaluación puede tener sus sesgos, los resultados muestran, con una sola excepción, coeficientes de variación más elevados que los observados en programas de otros países, donde se utiliza el mismo tipo de muestra, pero diferente instrumental y metodología (Tabla II).

Otra forma de evaluar el desempeño de los laboratorios es en función del desvío porcentual relativo (DPR). El DPR por definición es una medida de cuánto se aleja, en términos relativos, el valor informado por el laboratorio respecto de la media de consenso, y tiene para cada analito una cota de aceptabilidad que es el DPR aceptable (DPRA), establecido sobre la base de los parámetros estadísticos y la variabilidad biológica (4). En el PEEC-H, para el analito hierro, el DPRA es de $\pm 10\%$.

En la Figura 3 se muestran los porcentajes acumulados de los laboratorios, en función del DPR para dos encuestas (43 y 48), donde se observa que para incluir el 95% de los laboratorios de la red (criterio de aceptabilidad empleado en algunos programas), los DPRA deberían estar entre 55% y 77%.

Discusión

Un análisis a futuro en el PEEC-H, que incluya la discriminación por instrumental, podría permitir una mejor comparación con los datos de los programas a los que se hace referencia en la Tabla II. En un trabajo pionero del American College of Pathologists (5), que data de 1978, se realizó una encuesta entre 1.600 participantes con el fin de analizar aspectos tales como la preparación de la muestra, sistema y método de detección, agente reductor y estándares empleados. En dicho trabajo se observó que los valores medios eran más altos cuando se usaban autoanalizadores y que los valores más bajos se hallaban cuando no se in-

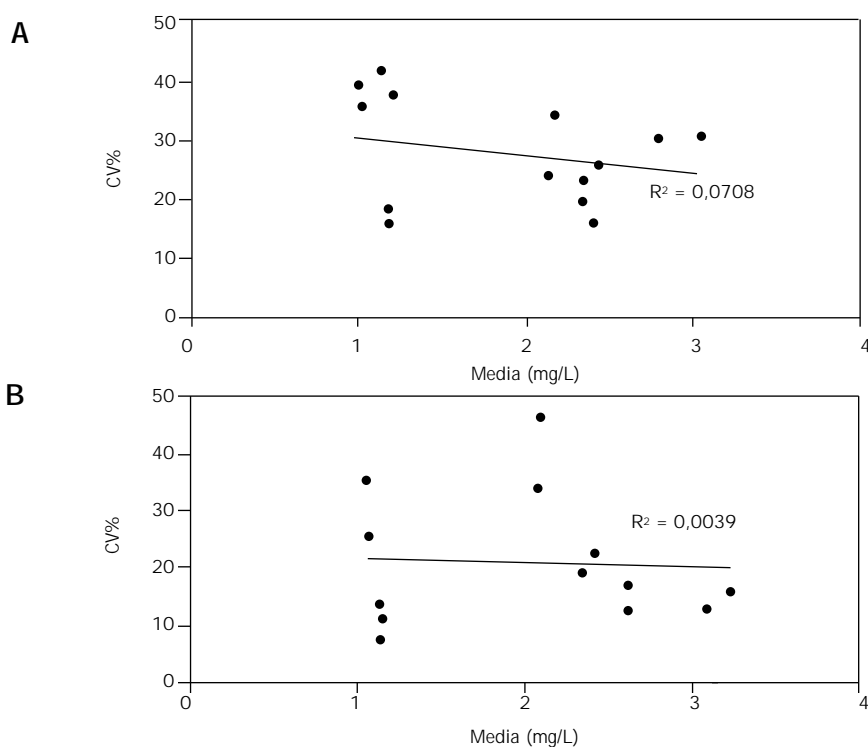


Figura 2. Coeficientes de correlación en función de valores promedio del analito hierro para métodos con desproteinización (A) y sin desproteinización (B).

cluía la desproteinización como una etapa del método, sin que pudieran llegar a establecer cuál era la fuente de estos sesgos. Es interesante el hecho de que se encuentran CV intermedios entre los mencionados en la Tabla II y los del presente trabajo, hecho que puede estar relacionado con la alta proporción de usuarios de métodos manuales que predominaba en esa época (7).

Estos CV de métodos empleados a campo en el PEEC-H para la determinación de hierro plasmático, comparados con CV descritos para otros métodos, como por ejemplo el recomendado por el Internacio-

nal Council for Standardization in Hematology (ICSH), son, como es de esperar, muy diferentes. En este ejemplo fue de 2,4 para $n = 12$, en el que se emplea como cromógeno la batofenantrolina (9).

Cuando se consideran los valores de DPR obtenidos (Fig. 3), entre 30% y 45% de los laboratorios tienen un desempeño aceptable que cae dentro del DPRA del PEEC-H. Este es un dato bajo, pero guarda relación con los valores de otros programas (22,24% a 30,94%) cuyos criterios de aceptabilidad para la determinación, se basan en la variabilidad biológica (10). Según esos criterios, entre el 70-80 % de los la-

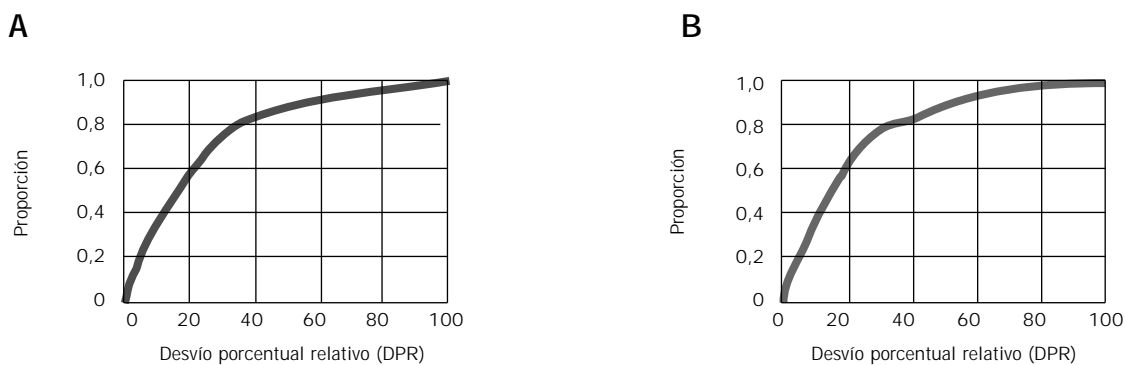


Figura 3. Frecuencias acumuladas de valores de DPR en dos encuestas del PEEC-H: A = Encuesta 43, B = Encuesta 48.

Tabla II. Medias y medidas de dispersión para el analito hierro, obtenidas para los diferentes métodos e instrumentos empleados en dos programas de evaluación externa de calidad extranjeros ($\mu\text{g/dL}$).

Programa	Métodos o instrumentos	n	Media	DE	CV%
NEQAS* (Reino Unido)	Todos los métodos	357	152,6	7,7	5,0
	Ferrozina	206	153,5	8,2	5,3
	- CFA	8	152,5	10,2	6,7
	- Otros discretos	151	154,5	9,5	6,1
	- Sistema Olympus	5	146,7	4,0	2,7
	- Roche Integra	37	151,3	3,9	2,6
	J&J Vitros	68	152,1	5,8	3,8
	- 700/750/950	33	153,7	4,7	3,1
	- 250	32	150,3	6,5	4,3
	Miscelánea	13	153,5	9,7	6,3
	- DADE Behring Dimension	6	126,7	55,0	43,4
	TPTZ	68	149,7	5,6	3,8
	- Sistema Olympus	68	149,7	5,6	3,8
Wadsworth Center (8) (Estado de Nueva York, US)	Todos los métodos e instrumentos	271	103,2	7,02	6,80
	Abbott Aeroset	7	95,9	2,67	2,78
	Beckman Coulter CX	24	103,9	3,51	3,37
	Beckman Coulter LX-20	28	104,5	2,88	2,75
	Bayer ADVIA 1650	14	95,2	2,89	3,03
	Bayer Express	4	80,6	1,90	2,35
	Dade Behring Dimension	46	96,4	1,43	1,48
	Hitachi 717	7	101,7	7,87	7,74
	Hitachi 747	13	106,2	2,43	2,29
	Hitachi 911	6	110,4	1,61	1,46
	Hitachi 917	9	107,3	3,00	2,79
	Hitachi Modular	19	106,9	2,50	2,34
	Johnson & Johnson Vitros Olympus	47	106,5	4,77	4,48
	AU400/600/640/2700/5400	23	111,9	3,82	3,40
	Olympus AU5000/5200	5	105,8	1,66	1,57
	Roche Cobas Integra	5	100,3	2,61	2,60
	Roche Cobas Mira	3	91,1	2,05	2,25

* Comunicación personal del UK NQAS.

laboratorios tendrían un desempeño aceptable, lo que representa un dato alentador.

De acuerdo con estas consideraciones, es necesario hacer una revisión del DPRA para el analito hierro empleado en el PEEC-H. Asimismo, del análisis de los resultados surge que se requiere continuar con la Educación Continua para lograr una mayor estandarización en la metodología empleada, lo cual redundará, seguramente, en una mejoría en el desempeño de los laboratorios.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer al Dr. Daniel Mazziotta, Director del Programa de Evaluación Externa de Calidad de la Fundación Bioquímica Argentina por el aporte de la información utilizada en la Discusión de este trabajo.

CORRESPONDENCIA

DRA. NILDA E. FINK
Asignatura Hematología
Departamento de Ciencias Biológicas
Facultad de Ciencias Exactas
Universidad Nacional de La Plata. Calles 47 y 115
1900 LA PLATA, Argentina
E-mail: fink@biol.unlp.edu.ar

Referencias bibliográficas

1. NCCLS. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices: approved guidelines. Wayne PA: NCCLS, 1999 (EP05-A)
2. NCCLS. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach:

- approved guidelines. Wayne PA: NCCLS, 2003 (EP06-A).
3. NCCLS. Preliminary evaluation of quantitative laboratory methods: approved guidelines. 2 ed. Wayne PA: NCCLS, 2002 (EP10-A2).
 4. Perasso E, Mazziotta D. Evaluación de métodos por la evaluación externa de calidad en química clínica. *Acta Bioquím Clin Latinoam* 2004; 38: 61-7.
 5. Ventimiglia F, Fernández Alberti MA, Cailliat MC, Mazziotta D, Fink N. Relevamiento de la metodología empleada para evaluar el estado del hierro en laboratorios clínicos de la Argentina. *Actas de CALILAB 2002: II Congreso Argentino de Calidad en el Laboratorio Clínico*. Buenos Aires, 12 de septiembre de 2002. La Plata: FBA, 2002. [Resumen 27].
 6. Fink N, Fernández Alberti A, Ventimiglia F. Comentarios sobre la determinación de hierro sérico y de la capacidad total de saturación de transferrina. *PEEC Noticias* 2004 Abr; 1-2.
 7. Itano M. CAP Comprehensive Chemistry: serum iron survey. *Am J Clin Pathol* 1978; 70: 516-22.
 8. New York State Department of Health. Wadsworth Center. Clinical chemistry proficiency testing: summary of participants performance. Albany NY: Wadsworth Center, 2004.
 9. International Committee for Standardization in Hematology. Proposed recommendations for measurement of serum iron in human blood. *Am J Clin Pathol* 1971; 56: 543-5.
 10. Liber JCPM. External quality assessment in clinical laboratories: European perspectives: today and tomorrow. Antwerpen: Universiteit Antwerpen, 1993, p. 572.