

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

Method verification in a certified laboratory and internal quality control planification

Verificação de métodos num laboratório credenciado e planejamento do controle de qualidade interno

► Ricardo Guglielmone¹, Rafael de Elías², Oscar Kiener², César Collino³, Silvia Barzón¹

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

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 análisis, 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

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)

Summary

The process of method verification (MV) generates data about the performance of a measuring system in current laboratory working conditions; later, the information obtained is compared to the specifications issued by the assay manufacturer and International Regulating Organizations. The objectives of this study were: 1) to apply evaluation protocols established by international guidelines (CLSI, Clinical Laboratory Standards Institute) to verify the correct performance of the methodologies under analysis; 2) to design and implement a strategy of internal quality control (IQC) that allows evaluating the stability of the measuring system in time. Glucose, creatinine and lactate dehydrogenase were subject to analysis. Verification of precision, trueness, linearity detection limit, instrument comparison and reference values were performed under the provisions of CLSI EP-15A2, EP6A, EP17-A, EP9-A2 and C28-A2 guidelines, respectively. For every assay, the procedures indicated by the manufacturer were respected, as well as the quality requirements chosen for total allowed error. An operative point was obtained and adequate ICQ rules for monitoring the performance of those methodologies were established. With the results obtained, a quality matrix was built for a monthly follow-up of the evaluated parameters. The acceptability of the evaluated analytical parameters was proved by the application of MV procedures. Furthermore, the MV enabled to design and implementation of an ICQ strategy to test the analytical stability of the measuring systems, in the analytical safety environment required for accredited methods.

Key words: methods verification * quality requirements * internal quality control * operative point

Resumo

No processo de verificação de métodos são obtidos dados do desempenho do sistema de medição nas condições de trabalho do laboratório; depois isto é comparado com as especificações oferecidas pelo fabricante de reagentes de laboratório e com os requerimentos de qualidade disponíveis em diversas fontes. Os objetivos do presente trabalho foram aplicar protocolos de avaliação de métodos publicados em guias internacionais (CLSI, Clinical Laboratory Standard Institute) para verificar o correto rendimento das metodologias avaliadas e desenhar e implementar uma estratégia de controle de qualidade interno (CCI) que permita avaliar a estabilidade do sistema de medição no tempo. Foram avaliadas glicose, creatinina e desidrogenase láctica (LDH); sobre as metodologias para a avaliação dos mesmos foram realizados os ensaios correspondentes à verificação de precisão e veracidade, linearidade, limite de detecção, comparação de equipamentos e estabelecimento de valores de referência conforme o estabelecido nos guias CLSI EP15-A2, EP6-A, EP17-A, EP9-A2, C28-A2, respectivamente. Em todos os ensaios realizados foram cumpridas as especificações estabelecidas pelo fabricante para cada analito, bem como com os requerimentos de qualidade selecionados para o erro total permitido. Além disso, foi possível determinar o ponto operacional e especificar as regras do CCI adequadas para o acompanhamento do desempenho destas metodologias. Com os resultados obtidos se construiu uma matriz de qualidade para fazer o acompanhamento mensal dos parâmetros avaliados. Aplicando procedimentos de verificação de métodos foi demonstrada a aceitabilidade dos parâmetros analíticos avaliados. A verificação dos métodos permite desenhar e aplicar uma estratégia de CCI para avaliar a estabilidade analítica dos sistemas de medição no tempo, dentro de um quadro de segurança analítica exigido para métodos com credenciamento.

Palavras chave: verificação de métodos * requerimentos de qualidade * controle de qualidade interno * ponto operacional

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 (ET_L) el que es cotejado con el error total permitido elegido (ET_p) 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 (ET_L) < error total permitido (ET_p) 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 \geq 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 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.

Matriz de calidad: Se diseñó en una planilla de cálculo tipo Excel una matriz de calidad donde se mostró el ET_p y la fuente elegida, las unidades de cada analito, el "n" (número de mediciones realizadas por mes), la media, DE, sesgo, CV, ET_L , 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 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).

Tabla I. 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 corrída (fabricante)	2,20	2,20	0,09	0,09	6,0	6,0
	DE intra corrída (laboratorio)	0,58	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	0,06	5,6	3,1
	Valor de verificación	5,28	5,26	0,16	0,19	8,9	8,2
PPU	DE intra corrída (fabricante)	5,00	5,00	0,10	0,10	15,6	15,6
	DE intra corrída (laboratorio)	1,75	4,05	0,04	0,06	3,7	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	12,32	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.

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, entendiéndose 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 ET_p . El programa resuelve la aceptación o no de la linealidad; un ensayo de linealidad aceptado supone que los triplicados tienen una varianza constante en todos los niveles evaluados y el sesgo observado no supera el 50% del ET_p . 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).

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
PNU	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	94,9	1,12	1,15	314	314
	LS intervalo verificación	98,7	99,9	1,22	1,24	329	329
PPU	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	4,24	4,27	541	541

PNU: control normal comercial; PPU: control patológico comercial; DE: desviación estándar; P1-P2: Analizadores Modular P 800; k factor de cobertura; LI: límite inferior; LS: límite superior.

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

Diluciones	Asignada	%	Estimada	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	176,0	-3,4	Aceptada	176	177	175
Dil 3	359,0	50	360,0	353,0	-7,0	Aceptada	351	350	358
Dil 4	538,5	75	540,7	551,7	11,0	Aceptada	545	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 una de las cinco diluciones. La aceptación de la linealidad se basa en la ecuación de la recta y en el error sistemático.

Linealidad

Glucosa Modular P1

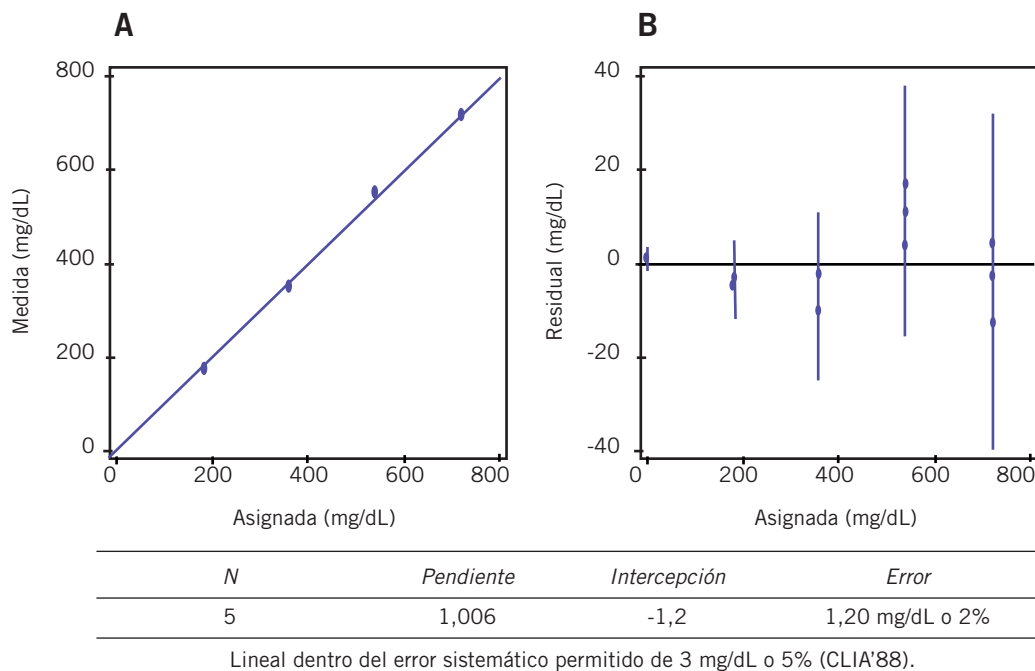


Figura 1. Evaluación de la linealidad para glucosa. A) Curva de regresión lineal obtenida en el rango 0-718 mg/dL. B) Gráfico de residuales: la línea vertical marca el error sistemático, debe contener a los triplicados y tocar el cero. Gráfico adaptado del programa EP Evaluator v7.

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 concentración 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 me-

nores a los establecidos por el fabricante en ambos módulos P1 y P2 (datos no mostrados).

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.

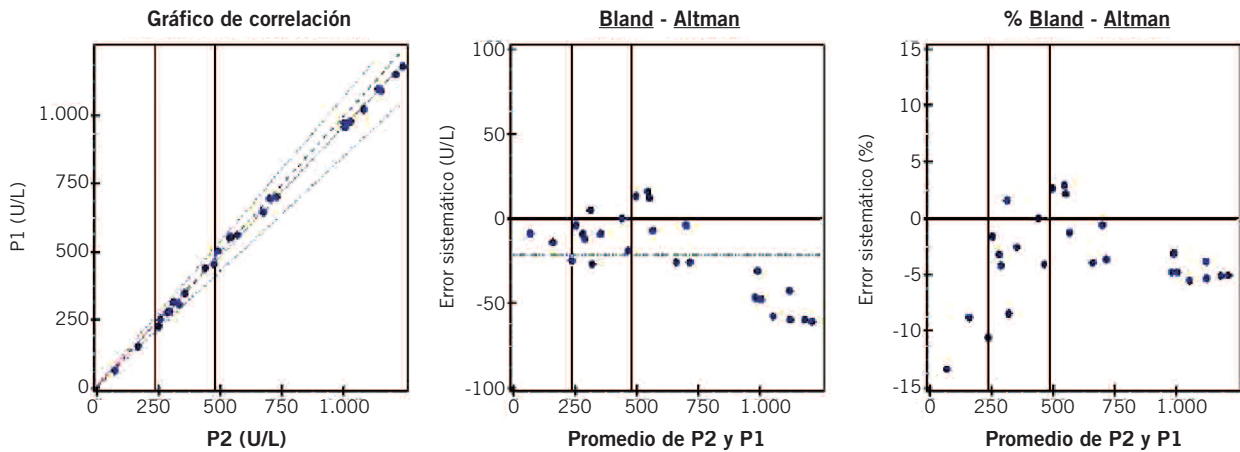
Tabla IV. Datos correspondientes al límite de detección

Límite de detección		
2 DE límite del blanco (95% confianza): 0,06 mg/dL		
Dato del fabricante: 0,2 mg/dL		
Pasa límite de detección: Pasa		
Estadística		
Concentración	Media	DE
0	2,2	4,0
0,4	58,4	1,5

Resultados del límite de detección para creatinina. Los 2 DE del límite del blanco son menores al dado por el fabricante en el inserto del equipo.

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.



Análisis de regresión

	Deming	Passing-Bablok	Regresión lineal simple
Pendiente:	0,950 (0,933 a 0,968)	0,954 (0,938 a 0,972)	0,950 (0,932 a 0,967)
Intercepción:	9,9 (-2,8 a 22,5)	4,6 (-5,9 a 15,6)	10,4 (-2,3 a 23,1)
Error estándar	15,5	—	15,5
SMAD:	15,1	15,6	14,5

El intervalo de confianza del 95% es mostrado entre paréntesis.

Análisis de los puntos de decisión médica (PDM)

Método X PDM	Método Y PDM	Intervalo de confianza 95%	
		Bajo	Alto
240	238,0	229,0	246,9
480	466,1	459,5	472,7

Coefficiente de correlación "r": 0,999

ETp: 11,4% (Variabilidad Biológica deseable).

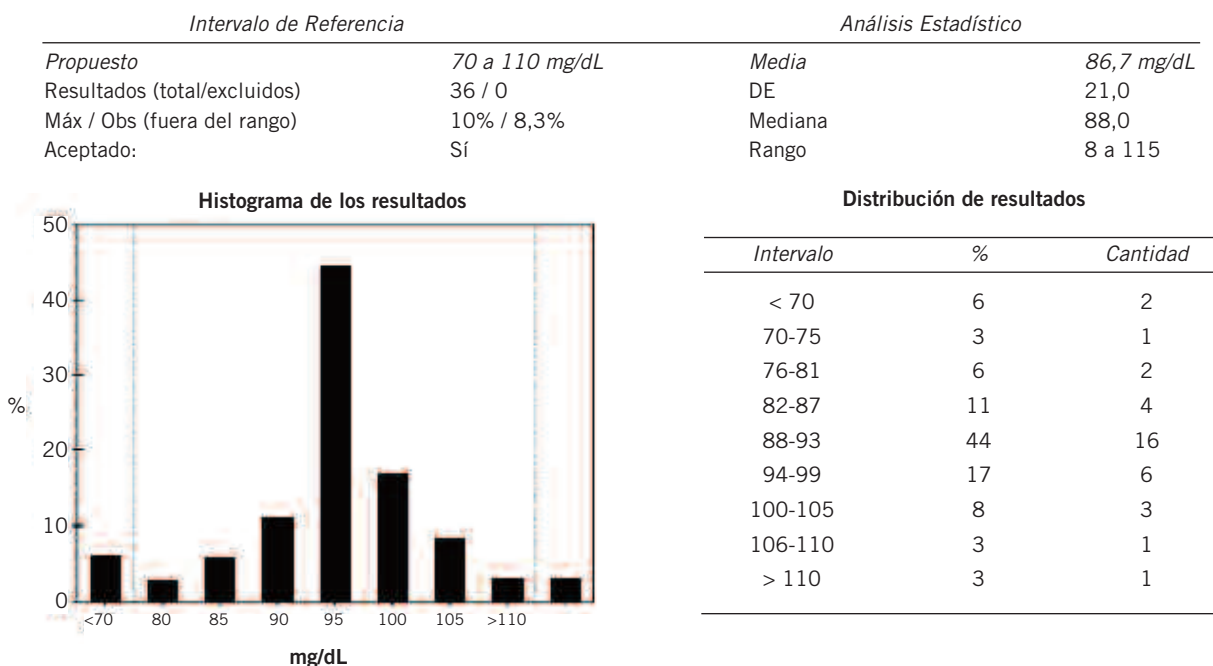
Las bandas que se abren en el gráfico de correlación indican el ETp: error total permitido. Las bandas verticales en los tres gráficos indican los puntos de decisión médica. Adaptado de EP Evaluator v7.

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

DETERMINACIÓN DEL PUNTO OPERATIVO

Con los datos obtenidos de CV, sesgo y ET_L 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 gráfica 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 pro-

babilidad de rechazo puede ser descripta 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 posible y en una sola corrida analítica (13). En el ejemplo que se muestra se elige la regla 1_{3s} 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 (ΔSE) representa el número de DE que la media puede desviarse antes de que el 5% de los resultados excedan el límite para el ET_P .



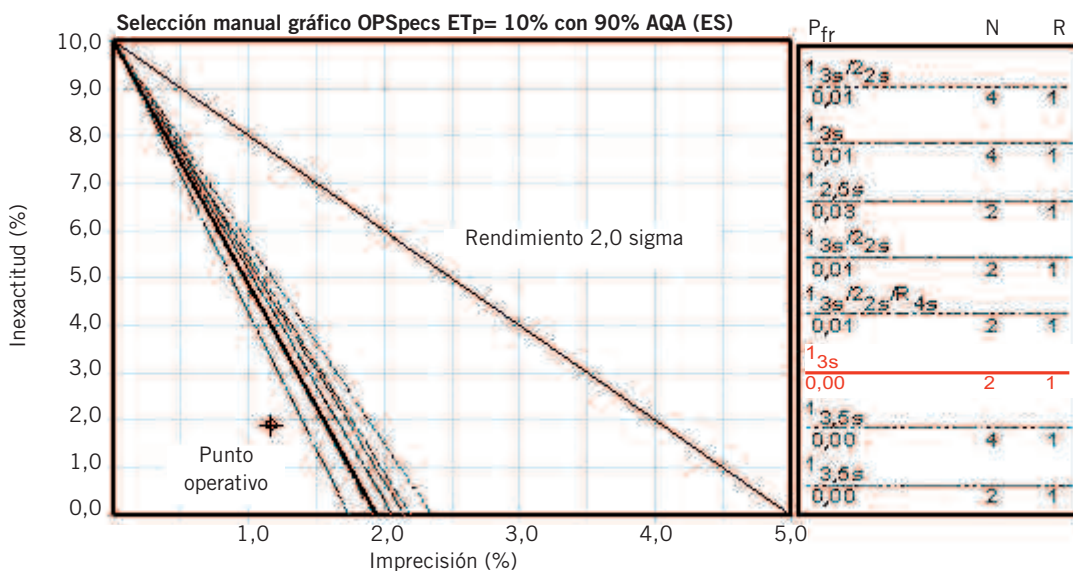
El 90% de los resultados deben caer dentro del rango propuesto por el fabricante. Los valores obtenidos deben estar distribuidos en todo el rango de concentración evaluado. Adaptado de EP Evaluator v 7.

Figura 3. Verificación del intervalo de referencia para glucosa.

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: ET_p y la fuente de donde se obtuvo ese valor, el valor de PNU y PPU, el número de mediciones reali-

zadas 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



Establecimiento del punto operativo para glucosa en términos del rendimiento sigma. Pfr: probabilidad de falso rechazo; N: cantidad de controles; R: corridas analíticas. Gráfico adaptado del programa EZ rules v3.

Figura 4. Representación del punto operativo.

índice debe ser menor a 1, el sesgo o error sistemático ($\text{media}_{\text{lab}} - \text{media}_{\text{grupo}} / \text{media}_{\text{grupo}} \cdot 100$), CV, ET_L (sesgo + 2.CV), el *six-sigma* ($\text{ET}_p - \text{sesgo} / \text{CV}$) y el error sistemático crítico (ESC) (Tabla V).

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.

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 ET_L y el *six-sigma*. De acuerdo con los objetivos de calidad se considera aceptable trabajar con un *six-sigma* ≥ 4 y el $\text{ET}_L < \text{ET}_p$.

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 ET_p

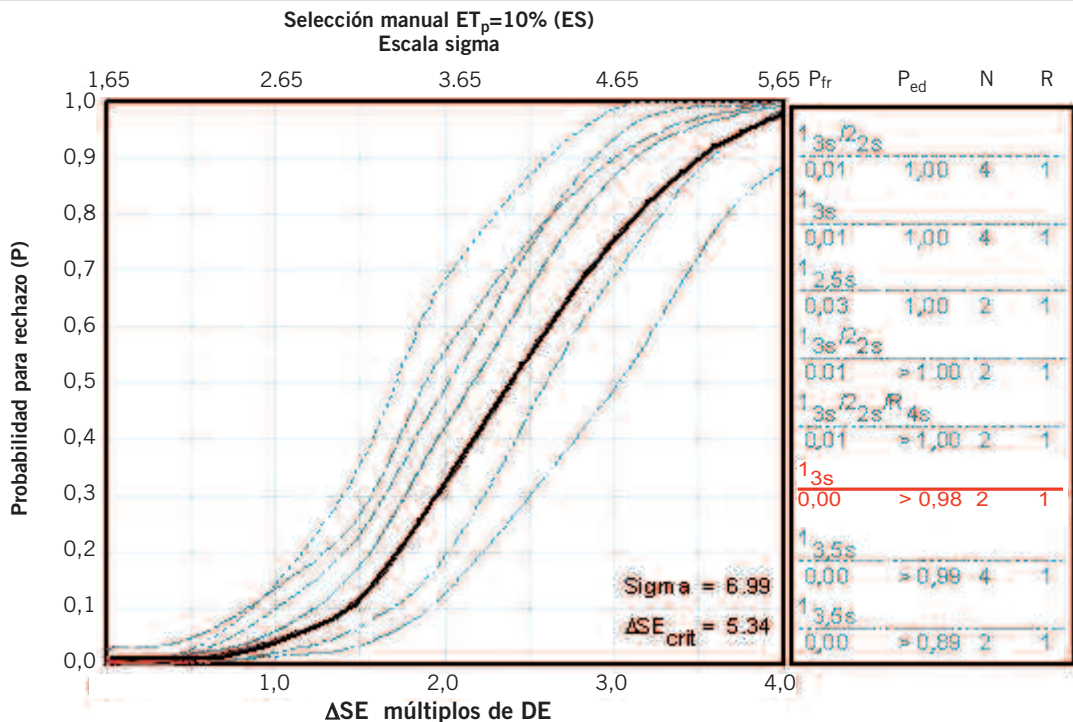
SEGUIMIENTO DEL CONTROL DE CALIDAD EXTERNO

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 ana-

Tabla V. Matriz de calidad

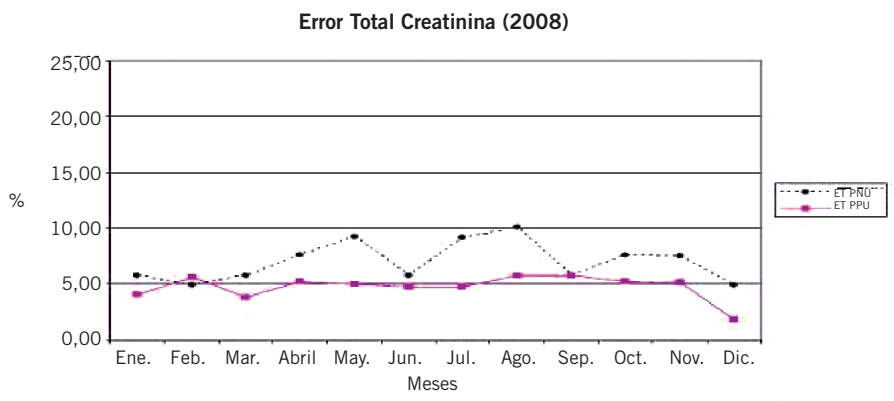
Analito	ETp (%)	Fuente	PNU PPU	N lab	Media lab	DE lab	Media grupo	DE	IDE	ICV	Sesgo (%)	CV	ET (%)	Sigma	ESC
Creatinina (mg/dL)	26,3	CLIA	1,14	26	1,15	0,04	1,13	0,06	0,33	0,67	0,88	3,48	7,83	7,3	5,66
Creatinina (mg/dL)	15	CLIA	3,92	26	3,99	0,08	3,93	0,13	0,46	0,62	1,79	2,01	5,80	6,6	4,94
Glucosa (mg/dL)	10	CLIA	93,3	28	93,6	1,97	92,5	2,51	0,45	0,76	0,33	2,10	4,54	4,6	2,94
Glucosa (mg/dL)	10	CLIA	247	28	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	CLIA	308	30	314	6,61	308	8,45	0,68	0,78	2,05	2,10	6,25	8,5	5,89
LDH (U/L)	11,4	CLIA	520	30	523	9,76	520	11,98	0,24	0,81	0,61	1,87	4,34	10,4	8,74

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



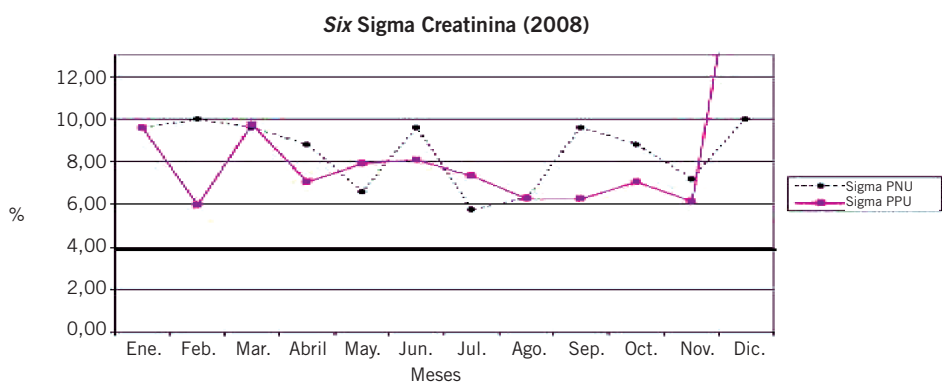
Establecimiento de la regla de control con baja probabilidad de falso rechazo (P_{fr}) y alta probabilidad de detección de error (P_{ed}), con 2 controles (N) por corrida analítica (R). $\Delta\text{SE}_{\text{crit}}$: delta sistemático crítico. Gráfico adaptado del programa EZ rules v3.

Figura 5. Determinación de la regla de control en los gráficos de poder.



Seguimiento anual del error total del laboratorio; ETP: 26,3% (PNU) 15% (PPU); fuente: CLIA.

Figura 6.



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.

lizador. 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 ET_p 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 "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 ET_p . 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 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 clí-

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

		Valor Target		Resultado Lab.	C.V.		ETp	Unidades
Creatinina								
21/02/2009	●	4,57	☒	4,47	2,2		15,0	mg/dL
04/02/2009	●	2,02	☒	1,94	4,1		15,0	mg/dL
Glucosa								
21/02/2009	●	116	☒	114	1,8		10,0	mg/dL
04/02/2009	●	124	☒	123	0,8		10,0	mg/dL
LDH								
21/02/2009	●	189	☒	189	0,0		11,4	UI/L
04/02/2009	●	189	☒	189	0,0		11,4	UI/L

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

nico. 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.

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 ET_L 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 ET_L , *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 ET_p 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 reasignación de ET_p 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 (7^{mo} piso)
CP 5000 (Córdoba)
República Argentina
Tel: 0351-4222425 / 4251126
E-mail: rguglielmo@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

- Burtis E, Bruns D. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 4th edition. St. Louis, Missouri: Elsevier-Saunders; 2006; Chap.14. p. 353-407.
- Krouwer J. Setting performance goals and evaluating total analytical error for diagnostic assays. *Clin Chem* 2002; 6 (48): 919-27.
- 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.
- Badrick T. Quality leadership and quality control. *Clin Biochem Rev* 2003; 24: 81-93.
- Westgard J. A method evaluation decision chart (MEDx chart) for judging method performance. *Clin Lab Sci* 1995; 8: 277-83.
- 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.
- 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.
- Gulderen Y. ISO 15189 Accreditation: Requirements for quality and competence of medical laboratories, experience of a laboratory II. *Clin Biochem* 2009; 42: 279-83.
- Karaarslan I. Joint Commission on International Accreditation workshop: Planning, development and provision of laboratory services. *Clin Biochem* 2009; 42: 284-7.
- Westgard J. Internal quality control: planning and implementation strategies. *Ann Clin Biochem* 2003; 40: 593-611.
- Badrick T. The Quality Control System. *Clin Biochem Rev* 2008; Vol 29 Suppl.
- 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.
- Westgard J. Basic Method validation 3^o edition: Madison, Wisconsin: Westgard QC, Inc; 2008.
- Badrick T. Quality leadership and quality control. *Clin Biochem* 2003; 24: 81-93.
- 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.
- Westgard J, Groth T. Power functions for statistical control rules. *Clin Chem* 1979; 6(25): 863-9.
- 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.
- 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.
- 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 ("OPSspecs 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.

Aceptado para su publicación el 25 de febrero de 2011

