



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

MAESTRÍA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

**“TRABAJO DE TITULACIÓN ESPECIAL”
PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE MAGISTER EN
BIOQUÍMICA CLÍNICA**

**EVALUACIÓN DE LAS GUÍAS EP10-A2 Y EP15-A2 DE LA CLSI
PARA VERIFICAR EL DESEMPEÑO ANALÍTICO DE MÉTODOS
CUANTITATIVOS**

AUTOR: ALEJANDRO PATRICIO TOLEDO ESPINOSA

TUTOR: LUIS FERNANDO CAZAR UBILLA

GUAYAQUIL – ECUADOR

SEPTIEMBRE 2016



REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

FICHA DE REGISTRO DE TESIS

TÍTULO Y SUBTÍTULO:

“Evaluación de las guías EP10-A2 y EP15-A2 de la CLSI para verificar el desempeño analítico de métodos cuantitativos

AUTOR/ES:

Alejandro Patricio Toledo Espinosa

TUTOR:

Luis Fernando Cazar Ubilla

REVISORES:

INSTITUCIÓN:

Universidad de Guayaquil

FACULTAD:

Ciencias Químicas

CARRERA:

Maestría en Bioquímica Clínica

FECHA DE PUBLICACIÓN:

No. DE PÁGS:

43

ÁREAS TEMÁTICAS:

Comparación de normativas de SLCI para validación de métodos cuantitativos en Laboratorio Clínico

PALABRAS CLAVE: Validación, verificación, precisión, veracidad, EP15-A2, EP10-A2, CLSI

RESUMEN: Uno de los requerimientos establecidos dentro las normativas de acreditación internacional, relacionado con el aseguramiento de la calidad analítica, es la demostración de la validez de los métodos implementados en los laboratorios de análisis clínicos, para asegurar su desempeño en base a requisitos de fabricante, o a objetivos de calidad analítica. El CLSI de los Estados Unidos, cuenta con dos normativas para este fin: la EP10A2 y la EP15 A2.

Se realizó un estudio descriptivo experimental con el fin de establecer el grado de concordancia en términos de aceptación para validación de métodos cuantitativos, empleando ambas normativas en paralelo para analitos de Química (n=10) e Inmunoquímica (n=10) seleccionados, en las instalaciones de Netlab S.A.(Quito).

Una vez aplicados los protocolos, se determinó que el 100% de los analitos, independiente de la norma usada, muestran desempeño adecuado frente a objetivos de calidad analítica tanto en precisión, veracidad y error total, con una concordancia del 100%. Se concluye que la aplicación de los protocolos EP15 A2 y EP10 A2, permite la validación de métodos cuantitativos, trazados a objetivos de calidad analítica y desempeño declarado por el fabricante, lo que aporta evidencia objetiva de cumplimiento del requisito 5.5.2 de la norma ISO 15189, demostrando el uso previsto del método por un lado trazado a objetivos de calidad analítica y por otro al desempeño declarado por el fabricante.

No. DE REGISTRO (en base de datos):

No. DE CLASIFICACIÓN:

DIRECCIÓN URL (tesis en la web):

ADJUNTO PDF:

SÍ

NO

CONTACTO CON AUTOR/ES:

Teléfono:
0988247552

E-mail:
patto.toledo@gmail.com

CONTACTO EN LA INSTITUCIÓN:

Nombre:

Teléfono:

E-mail:

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de tutor del estudiante Alejandro Patricio Toledo Espinosa del Programa de Maestría/Especialidad Bioquímica Clínica, nombrado por el Decano de la Facultad de Ciencias Químicas CERTIFICO: que el Trabajo de Titulación Especial titulado “Evaluación de las Guías EP10-A2 y EP15-A2 de las CLSI para verificar el Desempeño Analítico de Métodos Cuantitativos, en opción al grado académico de Magíster (Especialista) en Bioquímica Clínica, cumple con los requisitos académicos, científicos y formales que establece el Reglamento aprobado para tal efecto.

Atentamente



Luis Fernando Cazar Ubilla
TUTOR

Guayaquil, 9 de agosto del 2016

DEDICATORIA

A mis madres Elena y Pilar, a mi esposa
Yemina, a mis hijos Michael y Joaquín

AGRADECIMIENTO

A la Facultad de Ciencias Químicas por los conocimientos impartidos, al Dr. Luis Fernando Cazar Ubilla por su aporte y asesoría en la conclusión de este estudio

A Net Lab laboratorios especializados y en especial al Dr. Kleber Sáenz Gerente de Calidad quienes han contribuido en la elaboración de este trabajo.

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de este trabajo de titulación especial, me corresponden exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL”

ALEJANDRO PATRICIO TOLEDO ESPINOSA

ABREVIATURAS

- ALT: Alanina amino transferasa
- AST: Aspartato amino transferasa
- Bias %: Bias porcentual
- CLIA: Clinical Laboratory Improvement Amendments.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute
- CV: Coeficiente de variación
- FSH: Hormona folículo estimulante.
- fT3: Triyodotironina libre
- fT4: Tiroxina libre
- IVD: Diagnóstico in vitro
- LDH: Lactato deshidrogenasa
- : desviación estándar
- PEEC: Programa Externo de Evaluación de la Calidad
- Rilibak: Directrices del Concejo Alemán Federal de Medicina
- T3: Triyodotironina
- T4: Tiroxina.
- TSH: Hormona estimulante de la tiroides

Tabla de Contenido

| | |
|--|-----------|
| Resumen..... | 1 |
| Introducción..... | 3 |
| Delimitación del problema..... | 4 |
| Formulación del problema..... | 4 |
| Justificación..... | 4 |
| Objeto de estudio..... | 5 |
| Objetivo General..... | 5 |
| Objetivo Específico..... | 5 |
| Novedad científica..... | 6 |
| Capítulo 1 MARCO TEÓRICO..... | 7 |
| 1.1 Acreditación en Laboratorios Clínicos..... | 7 |
| 1.2 Validación de Métodos..... | 9 |
| 1.3 Tipos de Errores en los Métodos de Laboratorio Clínico..... | 10 |
| 1.4 Objetivos de Calidad Analítica..... | 11 |
| 1.5 Métrica Sigma..... | 13 |
| 1.6 Clasificación de Métodos de Laboratorio Clínico en Base a Complejidad..... | 14 |
| 1.7 Parámetros de Validación..... | 15 |
| 1.8 Requisitos Normativos..... | 16 |
| 1.9 Protocolos Experimentales para validación de métodos..... | 16 |
| 1.10 Guías CLSI para validación/verificación de métodos..... | 17 |
| Capítulo 2 MARCO METODOLÓGICO..... | 26 |
| 2.1 Metodología..... | 26 |
| 2.2 Métodos..... | 26 |

| | |
|--|-----------|
| 2.3. Premisas o Hipótesis..... | 27 |
| 2.4. Universo y muestra..... | 27 |
| 2.5. CDIU Operacionalización de Variables..... | 29 |
| 2.6. Gestión de Datos..... | 30 |
| 2.7. Criterios éticos de la Investigación..... | 30 |
| Capítulo 3 RESULTADOS..... | 31 |
| 3.1 Antecedentes de la Unidad de Análisis o Población..... | 31 |
| 3.2 Diagnóstico o Estudio de Campo..... | 31 |
| Capítulo 4 DISCUSIÓN..... | 37 |
| 4.1 Contrastación Empírica..... | 37 |
| 4.2 Limitaciones..... | 39 |
| 4.3 Líneas de investigación..... | 39 |
| 4.4 Aspectos Relevantes..... | 40 |
| Capítulo 5 PROPUESTA..... | 41 |
| Conclusiones y Recomendaciones..... | 42 |
| Bibliografía..... | 43 |
| Anexos..... | 46 |

Índice de Tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Desempeño de error aleatorio (cv%) por protocolo aplicado por analito en química clínica (modular p800) e inmunoquímica (modular e170)..... | 32 |
| Tabla 2. Desempeño de error sistemático (bias %) por protocolo aplicado por analito en química clínica (modular p800) e inmunoquímica (modular e170)..... | 33 |
| Tabla 3. Desempeño de error total (ET %) por protocolo aplicado por analito en química clínica (modular p800) e inmunoquímica (modular e170)..... | 33 |
| Tabla 4. Concordancia entre normativa EP 15-A2 y EP 10 A2 en analitos de química clínica..... | 34 |
| Tabla 5. Concordancia entre normativa EP 15 A2 y EP 10 A2 en analitos de inmunoquímica..... | 34 |
| Tabla 6. Concordancia en desempeño sigma por normativa EP 15 A2 y AP 10 A2 muestra general..... | 36 |
| Tabla 7 Concordancia en desempeño sigma por normativa EP 15 A2 y EP 10 A2 en métodos de analitos de química clínica..... | 36 |
| Tabla 8 Concordancia en desempeño sigma por normativa EP 15 A2 y EP 10 A2 en métodos de analitos de inmunoquímica..... | 36 |

Índice de Gráficos

| | |
|---|----|
| Gráfico 1. Desempeño sigma por analito estudiado y tipo de protocolo de verificación usado química clínica. Modular p800..... | 35 |
| Gráfico 2. Desempeño sigma por analito estudiado y tipo de protocolo de verificación usado inmunoquímica. Modular e170..... | 35 |

RESUMEN

Uno de los requerimientos establecidos dentro las normativas de acreditación internacional, relacionado con el aseguramiento de la calidad analítica, es la demostración de la validez de los métodos implementados en los laboratorios de análisis clínicos, para asegurar su desempeño en base a requisitos de fabricante, o a objetivos de calidad analítica. El CLSI de los Estados Unidos, cuenta con dos normativas para este fin: la EP10A2 y la EP15 A2. Se realizó un estudio descriptivo experimental con el fin de establecer el grado de concordancia en términos de aceptación para validación de métodos cuantitativos, empleando ambas normativas en paralelo para analitos de Química (n=10) e Inmunoquímica (n=10) seleccionados, en las instalaciones de Netlab S.A.(Quito).Una vez aplicados los protocolos, se determinó que el 100% de los analitos, independiente de la norma usada, muestran desempeño adecuado frente a objetivos de calidad analítica tanto en precisión, veracidad y error total, con una concordancia del 100%. Se concluye que la aplicación de los protocolos EP15 A2 y EP10 A2, permite la validación de métodos cuantitativos, trazados a objetivos de calidad analítica, lo que aporta evidencia objetiva de cumplimiento del requisito 5.5.2 de la norma ISO 15189, demostrando el uso previsto del método por un lado trazado a objetivos de calidad analítica.

PALABRAS CLAVES: Validación, verificación, precisión, veracidad, EP15-A2, EP10-A2, CLSI

SUMMARY

One of the requirements established in the regulations of international accreditation, related to the assurance of analytical quality, is the demonstration of the validity of the methods implemented in clinical laboratories, to ensure its performance based on requirements manufacturer, or analytical quality goals. The US CLSI has two rules for this purpose: the EP10A2 and EP15 A2. An experimental descriptive study was conducted in order to establish the degree of consistency in terms of acceptance for validation of quantitative methods, using both standards in parallel for analytes Chemistry (n = 10) and Immunochemistry (n = 10) selected in the facilities Netlab SA (Quito). Once applied protocols, it was determined that 100% of the analytes, regardless of the standard used, show adequate performance against targets analytical quality in precision, accuracy and total error, with 100% agreement. It is concluded that the implementation of the protocols EP15 and EP10 A2 A2, allows the validation of quantitative methods, analytical paths to objectives of quality and performance stated by the manufacturer, which provides objective evidence of compliance with the requirement 5.5.2 of ISO 15189, showing the intended use of the method for trace analytical quality objectives on the other side and the performance declared by the manufacturer.

KEYWORDS: Validation, verification, precision, accuracy, EP15-A2, EP10-A2, C

INTRODUCCIÓN

La globalización demanda, que los sectores productivos elaboren bienes y servicios de calidad; para ello las organizaciones deben cumplir con una serie de normas de reconocimiento mundial que garantizan, que el objeto de producción, cumple con requisitos que asegura por una parte, la satisfacción del cliente y por otra, la competencia técnica en sus procesos.

En Ecuador y en lo relacionado a los laboratorios de ensayos clínicos, la norma que detalla los requisitos asociados a la calidad y la competencia técnica es la ISO 15189:2009, la misma que en su apartado 5.5.2 indica “ El laboratorio debe valerse solamente de procedimientos validados para confirmar que los procedimientos analíticos son adecuados para su uso previsto” (INEN, 2009), en tal virtud surge la necesidad de aplicar guías que permitan dar cumplimiento a este requerimiento.

Para algunos autores la validación de un método cuantitativo, constituye un proceso que se debe realizar, tomando en cuenta, en primer lugar, los objetivos de calidad fijados en el laboratorio clínico; un segundo punto a considerar es el diseño experimental en el que se va obtener una serie de datos, que van a ser procesados, utilizando métodos estadísticos para estimar el error total de éste, convirtiéndose en el objetivo final de la validación (J. Westgard, 2013).

En los laboratorios clínicos se debe tomar en cuenta, que se utiliza métodos desarrollados y validados por el fabricante y no es necesario en la mayoría de casos practicar una validación

extensiva, basta con realizar una verificación in situ, del desempeño del método y compararlo con lo referenciado en su validación inicial (Guglielmone & Elias, 2011).

Delimitación del problema:

En nuestro medio las guías de mayor difusión para el cumplimiento del requisito 5.5.2 son la EP 15-A2 y la EP10 A2 ambas de la CLSI, no existe una referencia que guíe al laboratorio en la decisión para aplicación una u otra guía.

Formulación del problema:

¿Cuál de las siguientes guías: la EP 10 A2 “Evaluación Preliminar de Métodos Cuantitativos en el Laboratorio Clínico” y EP 15 A2 “Verificación del Desempeño de la Precisión y Veracidad por el Usuario”, es la más adecuada a practicar considerando, que se debe satisfacer el cumplimiento de los objetivos de calidad planteados por el laboratorio, sin dejar de lado la reducción del recurso económico y tiempo operativo utilizado en la ejecución de la validación, factores importantes, para decidir la norma adecuada a practicar?

Justificación:

La verificación de métodos cuantitativos en el laboratorio clínico es una actividad que se debe realizar como buena práctica de laboratorio determinar la carga de error sistemático aleatorio y total de los procedimientos de medida permite por un lado corroborar si un método cumple los objetivos escogidos y por otro la planificación del control interno de calidad es por ello que contar con evidencia que permita ayudar en la decisión de aplicación de los protocolos EP 10 A2 “Evaluación Preliminar de Métodos Cuantitativos en el Laboratorio Clínico” y EP 15 A2 “Verificación del Desempeño de la Precisión y Veracidad por el Usuario” cobra importancia .

Objeto de estudio:

Guías de las CLSI para validación y verificación de métodos: EP 10 A2 “Evaluación Preliminar de Métodos Cuantitativos en el Laboratorio Clínico” y EP 15 A2 “Verificación del Desempeño de la Precisión y Veracidad por el Usuario”

Objetivo General:

Establecer el grado de concordancia en términos de aceptación para verificación de métodos cuantitativos en analitos seleccionados de uso habitual en Química Clínica e Inmunoquímica, mediante un diseño experimental en un laboratorio clínico aplicando las guías del CLSI EP15 A2 y EP10 A2, considerando los objetivos de calidad en precisión, veracidad y error total.

Objetivos Específicos:

- Determinar el grado de cumplimiento de objetivos de calidad analíticos en procedimientos de medida seleccionados de química e inmunoquímica aplicando la guía de la CLSI EP 10 A2 “Evaluación Preliminar de Métodos Cuantitativos en el Laboratorio Clínico”.
- Determinar el grado de cumplimiento de objetivos de calidad analíticos en procedimientos de medida seleccionados de química e inmunoquímica aplicando la guía de la CLSI EP 15 A2 “Verificación del Desempeño de la Precisión y Veracidad por el Usuario”

Novedad científica:

El producto de este estudio puede ayudar en la decisión para la aplicación de las guías EP10 A2 y EP15 A2 de la CLSI en la verificación de métodos de medida cuantitativos en los laboratorios clínicos

Capítulo 1

MARCO TEÓRICO

1.1 ACREDITACIÓN EN LABORATORIOS CLÍNICOS

Según el idioma inglés, **acreditar**, garantiza que alguien o algo cumple con requisitos establecidos y **certificar**, se relaciona con confirmar que se han podido satisfacer, ciertos estándares requeridos. Esto puede generar confusión en la distinción de los términos, por esta razón, la ISO (Organización Internacional de Normalización, define a la acreditación, como un medio mediante el cual, un ente autorizado acepta debidamente que un organismo o persona posee competencia en la realización de tareas específicas, mientras que la certificación, constituye un proceso en el que una tercera parte da garantía de que un producto o servicio cumple requisitos específicos (Handdo, 2012).

En el Ecuador el Instituto Ecuatoriano de Normalización a través de su Guía práctica Ecuatoriana titulada *Normalización y Actividades Conexas Vocabulario General*, ha definido “**acreditación** como un procedimiento, por el cual una **entidad** que tiene autoridad reconoce formalmente, que un organismo o persona es competente para efectuar las tareas específicas, “ y “ **certificación**, es un procedimiento por el cual una **tercera parte** da una garantía escrita de que un producto , proceso o servicio cumple los **requisitos** específicos (INEN, 2000).

Por lo mencionado anteriormente un ente u organismo **acreditado**, es aquel que ha demostrado competencia técnica en sus actividades, cuya condición es reconocida por un organismo autorizado para el efecto. Esta categoría abarca un panorama más amplio que una certificación, donde se demuestra un sistema de gestión de la calidad óptimo, involucrando en todos sus procesos productivos competencia para la realización de los mismos; ISO/IEC,

define al concepto de acreditación en laboratorio clínico, como el reconocimiento formal de que un laboratorio es competente para realizar pruebas específicas o típicos determinados de pruebas (Zima, 2010).

Alrededor del año 1990 las únicas normas de acreditación para laboratorios de ensayos clínicos eran las desarrolladas en algunos países así se puede mencionar al Colegio Americano de Patólogos (CAP), las de Australia y las del Reino Unido, las guías ISO 025 e ISO 9001:1994, que en aquel tiempo se encontraban en auge de aplicación, no contemplaban a los laboratorios de análisis clínicos. A partir del año 2003 sale a la luz la ISO 15189, norma internacional específica para laboratorios clínicos, cuyos requisitos se relacionan con la calidad y la competencia (Izquierdo-Alvarez, 2015).

La acreditación en laboratorios de ensayos clínicos, garantiza la seguridad de los informes, disminuyendo la presencia de errores y por consiguiente brindando seguridad al médico en la toma de decisiones médicas, basadas en evidencia. Actualmente, de todos los servicios de salud en el Ecuador, los Laboratorios Clínicos, son los que en mayor número cuentan con un sistema de Gestión de Calidad ISO 9001, lo que asegura una gestión basada en procesos controlados, enfoque al cliente y mejora continua; sin embargo no asevera competencia técnica en sus procesos, por ello el objetivo a cumplir a mediano y largo plazo, es la acreditación, siempre con miras en aportar a la disminución de errores en la atención hospitalaria (Saenz, 2014).

La norma ISO 15189 contempla una serie de requisitos de los cuales por un lado unos son de gestión como los mencionados en el acápite 4 en los que se toma en consideración a la responsabilidad de la dirección, al sistema de gestión, al control de la documentación, al

contrato de prestación de servicios, entre otros y por otro lado requisitos técnicos citados en el apartado 5 entre los cuales se menciona al personal, a las instalaciones y condiciones ambientales, procesos preanalíticos, procesos analíticos y dentro de este último toma en consideración a la verificación y validación de procedimientos analíticos.

1.2.VALIDACIÓN DE MÉTODOS.

El método de medida está determinado como una delineación lógica de procedimientos usados en una medición (Metrología, 2012).

A) Clasificación de métodos analíticos

Varios son los métodos que se utiliza en los laboratorios clínicos, pero la característica común entre ellos es que estos son de carácter cuantitativo y cualitativo.

Métodos cuantitativos: Son aquellos en los cuales, la respuesta es la cantidad de analito medido de forma directa o indirecta en una porción de muestra.

Métodos cualitativos: Referidos de esta manera porque la respuesta es la presencia o ausencia de un analito, detectado en forma directa o indirecta en una muestra (OAA, 2013).

B) Validación de Métodos Analíticos en el Laboratorio Clínico

Antes de determinar la importancia de la validación de los métodos en el laboratorio clínico es trascendente diferenciar entre los términos validación y verificación de tal virtud que se cuente con conceptos claros que permitan discriminar la aplicación ya sea de uno u otro término. **Validación** es la confirmación mediante evidencia objetiva, del cumplimiento

de requisitos para la utilización o aplicación específica de un equipo médico de diagnóstico in vitro (IVD), mientras que **Verificación**, es la aportación de evidencia objetiva en el cumplimiento de los requerimientos declarados; es decir **validación** refiere a la evidencia de que el método o IVD, cumple adecuadamente con el trabajo que pretende hacer mientras que la **verificación**, es la evidencia de que el procedimiento de examen consuma con las obligaciones especificadas (Burnnet, 2013).

En los laboratorios clínicos, es importante generar resultados confiables que aporten evidencia objetiva para la decisión médica, todos los métodos analíticos por mas excelente que sea su desempeño conciben resultados con una carga de error.

Como una medida de aseguramiento de calidad analítica los laboratorios deben estimar si esa carga puede afectar a la interpretación de los informes de las personas sometidas a estudio, si los errores son pequeños o despreciables el método es apto para su uso caso contrario si los errores son consistentes y pueden provocar un inconveniente interpretación de los resultados por parte del médico el método es inaceptable, en este contexto existe una pregunta que es muy importante responder ¿Para qué sirve la validación de métodos analíticos en los laboratorios clínicos? La respuesta: para evaluar la carga de error presente en los resultados generados (J. Westgard, 2013).

1.3.TIPOS DE ERRORES EN LOS MÉTODOS DE LABORATORIO CLÍNICO

Error aleatorio: el cual está relacionado con la precisión del método y puede ir en sentido positivo o negativo, su dirección y magnitud son impredecibles y afectan a la reproducibilidad, la imprecisión puede ser estimada en desviaciones típicas o estándar pero esta puede aumentar su cantidad debido a que se relaciona con la concentración por tal motivo

es importante calcular el otro estadígrafo de dispersión de relación como es el coeficiente de variación que brinda una idea del tamaño potencial del error presente, la estimación del error aleatorio, puede obtenerse a través del coeficiente de variación de la imprecisión intracorrida de una serie de mediciones (Perich, 2014).

Error sistemático: se relaciona con la veracidad del procedimiento de medida; es un tipo de error que va siempre en una sola dirección, causando que todos los resultados de una medición mantenga un sesgo en una sola dirección, el error sistemático puede ser evaluado mediante la diferencia entre el valor obtenido de frente al de referencia y puede expresarse en porcentaje (BIAS %) (Armbruster, 2013).

Error total es la combinación del error sistemático y aleatorio obtenido con el método evaluado (EMA, 2008).

1.4.OBJETIVOS DE CALIDAD ANALÍTICA

El objetivo principal de los laboratorios clínicos, consiste en ofrecer al especialista información confiable a través del análisis de matrices biológicas que permita por ejemplo: el diagnóstico de enfermedades; para ello es necesario que el método sea veraz y preciso; para el seguimiento de una enfermedad es imprescindible la precisión, mientras que para un tamizaje, es importante contar con un método veraz y preciso que permite identificar a todos los positivos y minimice a los falsos negativos; en tal virtud la implementación de un programa de control de calidad con objetivos de calidad analítica claros, cobra un papel preponderante para la evaluación de características o prestaciones analíticas del método (Marques-Garcia et al, 2015). Los objetivos de calidad analítica, son requisitos cuya función

es brindar especificaciones sobre la tasa de error que puede ser tolerada en un procedimiento de medida sin invalidar su utilidad clínica (Migliarino, 2013).

La International Organization for Estandarization en su norma 15189, versión 2009, se refiere al “uso previsto” como una expresión genérica de necesidades clínicas o requisitos. Esta visión genérica puede abarcar más propósitos, los mismos que se resumen a continuación:

- Los resultados generados por el laboratorio son aptos para su uso.
- Los laboratorios cuenten con especificaciones de rendimiento en la compra de dispositivos médicos de diagnóstico in vivo (IVD).
- Los laboratorios verifiquen los documentos de desempeño en la compra de un IVD.
- Los laboratorios verifiquen el rendimiento de los métodos utilizados en los análisis.
- Los laboratorios establecen y mantienen programas de control, de calidad (interno y externo).

En 1999 en Estocolmo se realizó una reunión entre organismos internacionales involucrados en calidad analítica de laboratorios clínicos, aquí se llegó a un consenso en cuanto a la jerarquía de los criterios de calidad concluyendo lo siguiente (Perich, 2014):

- a) Estimación del resultado del desempeño analítico en los desenlaces clínicos en estados clínicos específicos.
- b) Estimación del resultado del desempeño analítico en las determinaciones clínicas
 - Datos basados en componentes de variación biológica
 - Datos basados en opiniones de médicos clínicos
- c) Recomendaciones de publicaciones profesionales
 - Asociaciones de peritos nacionales o internacionales
 - Expertos locales o individuos

d) Objetivos de calidad dados por:

- Cuerpos regulatorios
- Esquemas de organizaciones externas de aseguramiento de la calidad

e) Objetivos basados en el estado el arte

- Demostraciones basados en programas de eficiencia
- Publicaciones actuales sobre la metodología (Burnnet, 2013).

1.5.MÉTRICA SIGMA

La métrica seis sigma, es una herramienta de aseguramiento de la calidad de utilización global y aplicable a procesos de una amplia gama de industrias. Su principal función es descartar la variabilidad en un proceso y que los defectos se aproximen a cero.

La métrica seis sigma puede ser aplicado en dos niveles:

- a) Como una Metodología de mejora que permite resolver inconvenientes, reduce defectos, mejora la eficiencia y permite satisfacer las necesidades de los clientes.
- b) Como una herramienta estadística, que permite evaluar el rendimiento del laboratorio en base a la cuantificación de los defectos por millón (Pineda & Cabezas, 2013).

En el laboratorio clínico, la métrica sigma, proporciona herramientas de medición de calidad frente a requisitos, con puntos de referencia para determinar, qué tan buena debe ser la calidad y cuando la calidad no es aceptable en los procesos de productos, la metodología seis sigma, permite una planificación para lograr los objetivos o requisitos de calidad y mejorar el desempeño del proceso.

La métrica sigma, hace referencia a la cantidad de desviaciones típicas o estándares que caben en un intervalo aceptable, es decir, el número de desvíos estándar que se encuentran en el rango del error total del método (Pineda Tenor, 2012). Lo ideal es que en este intervalo se encuentren seis desviaciones típicas y eso se traduce a 3,4 defectos por millón de eventos; en un laboratorio clínico se debe contar con sigma superior a tres. A continuación se menciona las proporciones de sigma y los defectos que pueden estar presentes.

- a) 3,4 defectos por millón para un proceso seis sigma
- b) 233 defectos por millón para un proceso cinco sigma
- c) 6210 defectos por millón para un proceso cuatro sigma
- d) 66807 defectos por millón para un proceso tres sigma
- e) 308537 defectos por millón para un proceso dos sigma (SEQC, 2008).

1.6. CLASIFICACIÓN DE MÉTODOS DE LABORATORIO CLÍNICO EN BASE A COMPLEJIDAD

Los métodos practicados en el laboratorio clínico pueden ser clasificados en relación a su nivel de complejidad en:

1.- *Waived test*:

Son todos aquellos ensayos que no requieren de un operador especializado para su ejecución e interpretación, se requiere utilizar su uso estrictamente, siguiendo las recomendaciones del proveedor y no es imperioso ejecutar validaciones, los test incluidos en esta clasificación, son los que se detallan en las nóminas de la *Clinical Laboratory Improvement Amendments* y *Food and Drug Administration*.

2.- *No waived test*:

Son los métodos cualitativos y cuantitativos de mediana y alta complejidad, que requieren de demostración de cumplimiento de requisitos analíticos para sus uso según sea el caso (OAE, 2011).

1.7.PARÁMETROS DE VALIDACIÓN

En los no waived test cuantitativos que no han sufrido modificaciones en las recomendaciones del fabricante o del organismo que la publicó, se debe practicar los siguientes protocolos de validación:

- Precisión
- Veracidad
- Sensibilidad (cuando se pueda aplicar)
- Linealidad (cuando se pueda aplicar y si es factible)
- Arrastre (realizar en algunas cuantificaciones sensibles)
- Estabilidad (si es necesario)
- Valores de referencia. (cuando el procedimiento de medida sea acogido por el laboratorio)
- Interferencias (si es necesario)
- Correlación a método previo (si es posible)

En los ensayos cualitativos (no waived test) no alterados los protocolos a practicar son los citados a continuación:

- Sensibilidad diagnóstica.
- Arrastre.
- Correlación a método previo.

Para los procedimientos de medida de baja complejidad, moderada y alta complicación (no waived test) en base a esta categorización, se aplica las exigencias de validación según proceda.

1.8.REQUISITOS NORMATIVOS

La norma ISO 15189 está dividida principalmente en dos grandes segmentos: el primero hace referencia a todos los requerimientos de gestión, mientras que en el otro fragmento involucra a los requerimientos técnicos que deben cumplir los laboratorios clínicos; en este apartado se encuentra el acápite 5.5.2 que se refiere a que “El laboratorio debe utilizar solamente procedimientos validados para confirmar que los procedimientos analíticos son adecuados para su uso previsto. Las validaciones deben ser tan extensas como sea necesario, para cumplir las necesidades de la aplicación o campo de aplicación dados” (INEN,2009). Los laboratorios clínicos cuyo objetivo sea la acreditación deben obligatoriamente validar o verificar los métodos utilizados para el análisis.

1.9.PROTOCOLOS EXPERIMENTALES PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS

Para la validación de métodos cuantitativos, se utilizan herramientas estadísticas manejadas en protocolos reconocidos internacionalmente, que permiten comprobar que los métodos se encuentran en condiciones aceptables o cumplen con el fin para el que fueron desarrollados. Entre los estadígrafos de posición central y de dispersión más empleados se encuentran:

- Media
- Desviación estándar
- Coeficiente de variación.
- Varianza

- Coeficiente de variación de Horwitz

Para determinación de la veracidad y precisión se puede aplicar pruebas de significancia como son:

- Prueba t student para identificar errores sistemáticos (sesgo)
- Prueba F-Fisher para identificar errores aleatorios (precisión).

Según el método utilizado en el análisis (cuantitativo o cualitativo) es posible utilizar guías de organismos reconocidos internacionalmente como CLSI; Federación Internacional de Química Clínica; Asociación Americana de Química Clínica que permitan demostrar la validación y verificación de procedimientos de medida para efectos de este estudio se mencionara dos guías de la CLSI la EP15-A2 y la EP10-A2 (OAE, 2011).

1.10. GUIAS CLSI PARA VALIDACIÓN/VERIFICACIÓN DE MÉTODOS

1.10.1. Verificación del desempeño de la "Precisión y Veracidad por el usuario (EP15-A2)

Introducción

Este protocolo suministra una implementación mínima, con la disposición de verificar que un procedimiento de medición está operando de acuerdo a los requerimientos del fabricante; puede también ser utilizada como un medio para demostrar el desempeño aceptable tras fallar una prueba de aptitud.

Las características específicas mencionadas en este protocolo son repetibilidad, precisión intra laboratorio, y veracidad relacionados a un estándar aceptado.

Protocolo

Todas las actividades experimentales se realizan en cinco días, es importante que el operador se encuentre completamente familiarizado con el sistema antes de poner en práctica el protocolo, se debe asegurar que durante los días de verificación el instrumento de

diagnóstico haya cumplido satisfactoriamente el control interno de calidad.

Pueden ser utilizados materiales de control interno, de evaluación externa de calidad o muestras de pacientes que previamente hayan sido analizadas

1.10.1.1. Precisión

La precisión en un valor cuantitativo que refiere el grado de discrepancia o de dispersión en una serie de mediciones replicadas, esta puede estar expresada a través de desviación estándar (SD) y por el coeficiente de variación (CV) (Dasgupta, 2014).

a.- Procedimiento

- Se debe analizar tres réplicas de dos concentraciones diferentes (procurar que sea una patológica y otra de decisión clínica), llegando a un total de 6 réplicas diarias durante cinco días.
- Puede rechazarse una corrida si el control interno de calidad lo amerita o por inconvenientes operativos, en estos casos se descarta los datos y se realiza una corrida adicional.
- La veracidad también puede ser evaluada en las corridas realizadas para precisión.

b.- Registro de datos

En el anexo 1 se encuentra detallada la hoja de cálculo, en donde se recopila y se procesan los datos obtenidos como consecuencia de la aplicación del protocolo de precisión.

c.- Cálculos estimados de precisión

Se debe realizar una serie de cálculos con el fin de obtener varios estadígrafos que serán utilizados en el desarrollo del protocolo (ver anexo 2)

d.- Precisión intracorrida (repetibilidad)

Se debe obtener la desviación estándar de los datos de las corridas diarias S_r (ver anexo 2).

e.- Precisión del laboratorio

Se determina la desviación típica de las corridas utilizando las medias diarias S_i (ver anexo2)

f.- Comparación de la repetibilidad y precisión intralaboratorio estimada con la definida por el fabricante

Se debe relacionar la precisión intracorrida y la intralaboratorio obtenidas de la dispersión de la serie de mediciones practicadas de frente a la proporcionada por el fabricante, en los casos en las que la precisión se encuentre expresada en coeficiente de variación es posible transformarla a desviación típica a partir de la siguiente ecuación:

$r = CV \%r *$ en donde $CV\%r$ es el proporcionado por el fabricante, x es el valor promedio de las mediciones y s desviación estándar

Si la desviación estándar intracorrida (S_r) o la desviación estándar intralaboratorio (S_i) es menor que la reportada por el fabricante se ha demostrado precisión consistente.

Si la desviación estándar intracorrida o intralaboratorio, es mayor que la indicada por el fabricante, se procede a determinar estadísticamente la diferencia, aplicando lo descrito en el anexo 2.

Una vez determinado estadísticamente que el valor de (S_i) es mayor al fabricante se puede concluir que el test no cumple con la verificación de precisión intracorrida.

1.10.1.2. Veracidad

La veracidad es la concordancia con un valor real estándar aceptado o un valor esperado, medido a través del sesgo.

La normativa EP15 A2 dispone de dos procedimientos para demostrar la veracidad:

- Comparación de los resultados de un paciente con otro procedimiento de medición (evaluación inicial de procedimientos de laboratorio).
- Recuperación de valores esperados para los materiales de referencia ensayados.

- **Comparación de los resultados de un paciente con otro procedimiento de medición.**

a.- Procedimiento

- Se debe seleccionar 20 muestras de pacientes, cuyas concentraciones no excedan el rango de medición del método, procurar que las muestras sean recién tomadas o en su defecto hayan permanecido en condiciones idóneas declaradas por el fabricante No se debe sobrepasar más de cuatro horas entre el proceso de las muestras en el equipo a verificar y el que está considerado como de referencia. Las conclusiones son más confiables si cinco o siete muestras son estudiadas diariamente, en un lapso de tres o cuatros días.
- Considerar un adecuado desempeño en el control interno de calidad de cada equipo para practicar el protocolo, caso contrario no se puede efectuar el análisis.

b.- Registro de datos

En el anexo 1, se encuentra detallada la hoja de cálculo en donde se recopila y se procesan los datos obtenidos como consecuencia de la aplicación del protocolo de estimación de la veracidad.

c.- Cálculos estimados para la determinación de veracidad

Se calcula el bias porcentual con los resultados emitidos para cada muestra procesada, tanto en el equipo por verificar y el equipo referente, además se obtiene el sesgo en unidades reportables y en porcentaje entre los procedimientos, por otro lado calcular la desviación estándar y los límites de verificación. (Ver anexo3)

d.- Comparación del sesgo estimado con el definido por el fabricante

Si el sesgo porcentual medido está dentro del intervalo de los límites de verificación el laboratorio ha demostrado un sesgo porcentual consistente con el definido por el fabricante, caso contrario no se ha demostrado veracidad consistente.

- **Recuperación de valores esperados para los materiales de referencia ensayados.**

a.- Procedimiento

- En este apartado se pueden utilizar, material con valor asignado como son los proporcionados por institutos nacionales de referencia, material control de ensayos de programas de evaluación de aptitud, material de control interno, material usado en programas de control de la calidad interlaboratorios, materiales de tercera opinión
- Seleccionar en los materiales a utilizar, como mínimo dos concentraciones de analito, una alta y una baja que se ubiquen dentro del intervalo de medición.
- Analice cada material en tres o cinco corridas diferentes, cada una de ellas por duplicado o triplicado.

b.- Registro de datos

En el anexo 1 se encuentra detallada la hoja de cálculo en donde se recopila y se procesan los datos obtenidos como consecuencia de la aplicación del protocolo de estimación de la veracidad.

c.- Cálculos estimados de veracidad

Se debe obtener la incertidumbre de los datos atribuidos al material (error estándar), además de calcular el promedio y la desviación típica de los resultados de las pruebas de cada concentración y por último determinar el intervalo de confirmación para el sesgo (ver anexo 4)

d.- Prueba de aceptación para la demostración de veracidad con materiales de referencia

Si en el intervalo de verificación se incluye el valor asignado se ha comprobado el valor definido por el fabricante para veracidad caso contrario no se ha demostrado veracidad consistente con lo definido por el fabricante (CLSI, 2005).

1.10.2. Evaluación preliminar de métodos cuantitativos en laboratorio clínico. (EP10-A2)

Introducción

El laboratorio clínico antes de utilizar un nuevo método de medida o instrumento de diagnóstico in vitro debe tomar una decisión preliminar sobre la utilización de los mismos, esta normativa describe un procedimiento preliminar para la evaluación de precisión, veracidad, linealidad, arrastre, intervalo de medida en métodos de laboratorio recientemente desarrollados o en otros ya existentes, pero que hayan sufrido modificación en lo referente a lo declarado por el fabricante. Este experimento proporciona una evaluación preliminar en instrumentos automatizados, manuales u otros utilizados en el diagnóstico in vitro, utilizan técnicas estadísticas básicas como promedio, desviación estándar, regresión lineal, entre otros.

a.- Protocolo

Se utiliza muestras de relevancia clínica en tres concentraciones diferentes (baja, media, alta) puede ser utilizado material de control interno o pools de muestras de pacientes, la concentración media debe ser exactamente la mitad del intervalo entre la baja y la alta, para ello una buena práctica es la de mezclar en partes iguales las concentraciones límites (alta y baja).

El ensayo se realiza en corridas procesadas en 5 días consecutivos. Como corridas se conoce a una secuencia de muestras analizadas consecutivamente sin interrupción, la secuencia de las muestras en la corrida es media- alta- baja, media, media- baja. baja- alta, alta- media.

b.- Registro de datos

La recopilación de datos y cálculos se realiza en una hoja electrónica (anexo 5)

Para efectos de este estudio en este protocolo solo se tomará en cuenta lo referente a
PRECISIÓN Y VERACIDAD (BIAS)

1.10.2.1. *Precisión*

Para la determinación de estos parámetros se calcula la varianza, la desviación estándar intraindividual e interindividual por nivel de concentración, con estos datos se obtiene la precisión (intracorrida e intralaboratorio) para determinar el error aleatorio (ver anexo 6). La precisión por nivel, debe ser comparada con el objetivo de calidad establecido para error aleatorio, si la imprecisión estimada se encuentra por debajo del objetivo de calidad, el desempeño del método es adecuado.

1.10.2.2. *Veracidad (BIAS)*

Para el cálculo de la veracidad se obtiene el promedio de las mediciones por nivel de concentración y se compara de frente al valor asignado al material.

Se obtiene el BIAS% y al igual que en el anterior caso, se compara con el objetivo de calidad establecido (NCCLS, 2002).

1.10.2.3. *Estimación del error total máximo*

En un procedimiento analítico el error total máximo (ET) está dado por la adición de un componente de error sistemático (ES) y uno aleatorio (EA), debiendo ser calculado para decidir si este puede ser utilizado o debe ser ajustado en sus prestaciones, a continuación se detalla la expresión general para determinación de ET:

$$ET = ES + EA$$

Si se expresan ambos errores como porcentaje del valor verdadero ET puede expresarse:

$$ET = \left[\left(\frac{\bar{x} - VV}{VV} \right) * 100 \right] + \left[\left(\frac{3DS}{VV} \right) * 100 \right]$$

VV=valor verdadero; DS= desviación estándar ; X promedio

Con materiales fiables de valor asignado en un periodo de tiempo suficiente se puede determinar el Coeficiente de Variación (CV) y la Desviación Estándar (DS) determinándose el ET con la siguiente fórmula:

$$ET = ES + 2 DS \text{ (97,7 \% de confianza)}$$

$$ET = ES + 3 DS \text{ (99,9 \% de confianza)}$$

$$ET = ES + 1,65 CV \text{ (95 \% de confianza)}$$

1.10.3. Determinación de objetivos de calidad

Tomando en cuenta el criterio Variabilidad Biológica se determina los criterios de calidad de la siguiente forma:

1.10.3.1. Error Aleatorio:

| NIVEL | REQUISITO |
|-----------------|--------------|
| Óptimo | CVa 0,25 CVi |
| Deseable | CVa 0,50 CVi |
| Mínimo | CVa 0,75 CVi |

CVa: coeficiente de variación analítico; CVi: coeficiente de variabilidad biológica intraindividual

1.10.3.2. Error sistemático

| NIVEL | REQUISITO |
|-------|-----------|
|-------|-----------|

| | |
|-----------------|---|
| Óptimo | $0,125 * \frac{\sqrt{CVI^2 + \overline{Cve}_2}}{\sqrt{CVI^2 + \overline{Cve}_2}}$ |
| Deseable | $0,25 * \frac{\sqrt{CVI^2 + \overline{Cve}_2}}{\sqrt{CVI^2 + \overline{Cve}_2}}$ |
| Mínimo | $0,375 * \frac{\sqrt{CVI^2 + \overline{Cve}_2}}{\sqrt{CVI^2 + \overline{Cve}_2}}$ |

CVe: coeficiente de variación interindividual

Los métodos de medida en el laboratorio de ensayo clínico como producto de su validación o verificación debe evidenciar el cumplimiento de los exigencias especificados para su utilización prevista, sean estos los requisitos definidos por el proveedor o lo establecido en los criterios de calidad seleccionados por el laboratorio, tomando en cuenta siempre que la precisión debe ser un cuarto del error total y que los valores determinados por el laboratorio de error total, error sistemático y error aleatorio se encuentren por debajo de los objetivos de calidad seleccionados (Gella, 2005).

Capítulo 2

MARCO METODOLÓGICO

2.1. Metodología:

Se trató de una investigación cuali-cuantitativa basada en la aplicación de los protocolos EP 15 A2 y EP 10 A2 de la CLSI, para ambos se usó material comercial de control interno con valores asignados conforme a lo establecido por estas guías internacionales.

2.2. Métodos:

Se realizó un estudio descriptivo, basado en la aplicación de los protocolos EP 15 A2 (CLSI, 2005) y EP 10 A2 (CLSI, 2008) en analitos seleccionados de química e inmunoquímica en equipos Hitachi Roche P 800 y E 170, para ambos se usó material control comercial Roche en los niveles requeridos alto, medio y bajo para EP 10 y alto- bajo para EP 15, conforme a lo definido por guía internacional en caso de no contar con material de control nivel medio se creó tomando una parte del nivel bajo y uniéndolo con una parte del nivel alto, para las especificaciones del material de control (anexo 7)

La frecuencia de corridas fue:

EP15-A2.

| DIA 1 | DIA 2 | DIA3 | DIA4 | DIA5 |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Concentración 1 | Concentración 1 | Concentración 1 | Concentración 1 | Concentración 1 |
| Concentración 1 | Concentración 1 | Concentración 1 | Concentración 1 | Concentración 1 |
| Concentración 1 | Concentración 1 | Concentración 1 | Concentración 1 | Concentración 1 |
| Concentración 2 | Concentración 2 | Concentración 2 | Concentración 2 | Concentración 2 |
| Concentración 2 | Concentración 2 | Concentración 2 | Concentración 2 | Concentración 2 |
| Concentración 2 | Concentración 2 | Concentración 2 | Concentración 2 | Concentración 2 |

EP10-A2.

| DIA 1 | DIA 2 | DIA3 | DIA4 | DIA5 |
|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Concentración media | Concentración media | Concentración media | Concentración media | Concentración media |
| Concentración alta | Concentración alta | Concentración alta | Concentración alta | Concentración alta |
| Concentración baja | Concentración baja | Concentración baja | Concentración baja | Concentración baja |
| Concentración media | Concentración media | Concentración media | Concentración media | Concentración media |
| Concentración media | Concentración media | Concentración media | Concentración media | Concentración media |
| Concentración baja | Concentración baja | Concentración baja | Concentración baja | Concentración baja |
| Concentración baja | Concentración baja | Concentración baja | Concentración baja | Concentración baja |
| Concentración alta | Concentración alta | Concentración alta | Concentración alta | Concentración alta |
| Concentración alta | Concentración alta | Concentración alta | Concentración alta | Concentración alta |
| Concentración media | Concentración media | Concentración media | Concentración media | Concentración media |

En cuanto a los objetivos de calidad se utilizó en primera instancia la información basada en variabilidad biológica, en los casos en los que no era factible trazar los objetivos a variabilidad biológica por el estado de arte del método se utilizó recomendaciones de publicaciones profesionales CLIA, Rilibak y como tercera alternativa los objetivos basados en programas de eficiencia.

2.3.Premisas o hipótesis:

El desempeño analítico en términos de precisión, veracidad y error total demostrado empleando normativa EP15 A2 frente a objetivos de calidad analítica, son comparables a los obtenidos usando EP 10 A2 en analitos seleccionados de uso habitual en Química Clínica e Inmunoquímica.

2.4.Universo y muestra:

Para evaluar las normas EP15 A2 y EP10 A2 se seleccionaron 10 analitos cuantitativos de química clínica (glucosa, urea, creatinina, AST, ALT, LDH, colesterol, triglicéridos, albúmina, proteínas totales) y 10 analitos de Inmunoquímica (TSH, ft3, T3, ft4, T4,

cortisol, insulina, progesterona, testosterona total, FSH)

El número de muestras de material control utilizadas por protocolo son 2 para EP15 A2 y 3 para EP10 A2 por analito, conforme lo definido en las guías internacionales, las cuales fueron sometidas a mediciones por triplicado por día, por cinco días y quintuplicadas estas por día por cinco días, para cada protocolo usado respectivamente.

2.5 CDIU – Operacionalización de Variables

| VARIABLE | DEFINICIÓN | DIMENSIÓN | INDICADORES | ESCALAS |
|---|---|---|--|------------------------|
| Normativa para validación/verificación de métodos | Documento de referencia emitido por una organización autorizada relativo a la validación / verificación de métodos. | Documento de referencia | CLSI EP15 A2 CLSI EP10 A2 | Presente Ausente |
| Grado de cumplimiento de objetivos de calidad analítica | Desempeño analítico demostrado de un procedimiento de medida en relación con objetivos de calidad para precisión, veracidad y error total | Desempeño analítico en relación con objetivos de calidad | CV (precisión) Bias% (Veracidad) Error Total | Adecuado Inadecuado |
| Grado de cumplimiento de requisitos de fabricante | Desempeño analítico demostrado de un procedimiento de medida en relación con requisitos de fabricante en términos de precisión y veracidad. | Desempeño analítico en relación con requisitos del fabricante | CV (precisión) Bias% (veracidad) | Adecuado Inadecuado |

2.6 Gestión de datos:

La información recopilada en el presente estudio fue ingresada en una matriz de análisis de datos en Microsoft Excel 2010™ parametrizada a los criterios y recomendaciones de las guías EP 15-A2 de la CLSI y EP 10-A2 de la CLSI para la obtención del desempeño frente a requerimientos del fabricante y objetivos de calidad analítica.

2.7 Criterios éticos de la investigación

El presente estudio de investigación no fue ejecutado sobre sujetos humanos, pues únicamente se han empleado materiales de control de calidad suministrado por el fabricante desarrollador del procedimiento de medida sometido a estudio. No existen conflictos de interés en la información publicada y los fabricantes de los insumos, reactivos y equipamiento empleando en el presente estudio.

No se ha recibido subvención alguna por parte de ningún agente comercial.

Capítulo 3

RESULTADOS

3.1 Antecedentes de la unidad de análisis o población:

Anteriormente en los laboratorios clínicos del Ecuador la decisión para el uso de los equipos de reciente adquisición consistía en contar con la aprobación del proveedor (informe) y en algunos casos la realización de una prueba de precisión con una data pequeña, lo anteriormente mencionado no demostraba una adecuada evaluación de los procedimientos de medida sea considerando las especificaciones del fabricante o los objetivos de calidad analítica de elección, además los laboratorios clínicos que deseaban verificar o validar un método a través de guías CLSI EP15-A2 y EP10-A2 no contaban con una referencia para la decisión en la aplicación de una de ellas.

3.2 Diagnóstico o estudio de campo:

Se evaluó el desempeño analítico empleando los protocolos definidos en las guías CLSI EP15-A2 (CLSI, 2005) y EP10-A2 (CLSI,2008), para el posterior contraste de sus resultados frente a objetivos de calidad analítica obteniéndose los siguientes resultados:

Los hallazgos por analito, tipo de protocolo usado y objetivo de calidad para CV, Bias% y Error Total, se muestran en las siguientes tablas.

Tabla 1: Desempeño de error aleatorio (CV%) por protocolo aplicado por analito en Química Clínica (Modular P800™) e Inmunquímica (Modular E170™)

| ANALITOS | EP 10 A2 | EP15 A2 | OBJETIVO DE CALIDAD |
|-------------------|----------|---------|---------------------|
| GLUCOSA | 3,6 | 2,7 | 4,3* |
| UREA | 3,8 | 4,0 | 6,2** |
| CREATININA | 1,8 | 3,7 | 3,8*** |
| ALT | 3,6 | 2,0 | 6,1**** |
| AST | 8,9 | 7,1 | 8,9 * |
| LDH | 4,8 | 3,0 | 6,5* |
| COLESTEROL | 3,5 | 2,7 | 4,1* |
| TRIGLICERIDOS | 0,9 | 1,9 | 5,2**** |
| ALBUMINA | 3,4 | 1,5 | 5,0***** |
| PROTEINAS TOTALES | 2,5 | 1,8 | 2,5*** |
| TSH | 1,2 | 1,3 | 10,0** |
| FT3 | 8,1 | 10,0 | 15,7* |
| T3 | 11,4 | 11,5 | 15,0**** |
| FT4 | 6,5 | 6,0 | 16,1***** |
| T4 | 6,2 | 14,2 | 22,8*** |
| CORTISOL | 9,0 | 5,0 | 17,0**** |
| INSULINA | 7,0 | 9,4 | 12,7**** |
| PROGESTERONA | 4,0 | 5,2 | 14,0** |
| TESTOSTERONA | 9,3 | 2,7 | 12,9* |
| FSH | 4,0 | 3,2 | 10,0* |

*Variación biológica mínima / **Variación biológica deseable/ ***CLIA/ ****Variación biológica optima/ *****PEC/ *****Rilibak

Tabla 2: Desempeño de error sistemático (BIAS%) por protocolo aplicado por analito en Química Clínica (Modular P800™) e inmunoquímica (Modular E170™)

| ANALITOS | EP 10 A2 | EP15 A2 | OBJETIVO |
|-------------------|----------|---------|-----------|
| GLUCOSA | 2,8 | 0 | 3,4* |
| UREA | 1,5 | 3,4 | 5,5** |
| CREATININA | 8,3 | 5,4 | 8,7*** |
| TGP | 0,2 | 2,6 | 6,0**** |
| TGO | 0,7 | 2,4 | 8,1* |
| LDH | 0,7 | 0,1 | 6,4* |
| COLESTEROL | 0,8 | 4,9 | 6,1* |
| TRIGLICERIDOS | 2,5 | 2,1 | 5,3**** |
| ALBUMINA | 3,3 | 0,2 | 7,2***** |
| PROTEINAS TOTALES | 2,7 | 0,2 | 2,5*** |
| TSH | 1,3 | 3,9 | 8,9** |
| FT3 | 6,2 | 5,0 | 7,2* |
| T3 | 2,5 | 5,1 | 10,4***** |
| FT4 | 7,2 | 6,9 | 14,1***** |
| T4 | 7,0 | 11,8 | 11,8**** |
| CORTISOL | 5,4 | 5,4 | 6,3**** |
| INSULINA | 3,6 | 4,7 | 7,8**** |
| PROGESTERONA | 4,0 | 1,2 | 7,8** |
| TESTOSTERONA | 1,6 | 1,9 | 8,76* |
| FSH | 0,4 | 7,5 | 7,5* |

*Variación biológica mínima /**Variación biológica deseable/***/CLIA/****Variación biológica optima/*****PEEC/*****Rilibak

Tabla 3: Desempeño de error total (ET%) por protocolo aplicado por analito en Química Clínica (Modular P800™) e inmunoquímica (Modular E170™)

| ANALITOS | EP 10 A2 | EP15 A2 | OBJETIVO |
|-------------------|----------|---------|-----------|
| GLUCOSA | 9,1 | 4,5 | 10,4* |
| UREA | 8,1 | 10,0 | 15,7** |
| CREATININA | 11,4 | 11,5 | 15,0*** |
| TGP | 6,5 | 6,0 | 16,1**** |
| TGO | 6,2 | 14,2 | 22,8* |
| LDH | 9,0 | 5,0 | 17,0* |
| COLESTEROL | 7,0 | 9,4 | 12,7* |
| TRIGLICERIDOS | 4,0 | 5,2 | 14,0**** |
| ALBUMINA | 9,3 | 2,7 | 12,9***** |
| PROTEINAS TOTALES | 4,0 | 3,2 | 10,0*** |
| TSH | 3,3 | 6,0 | 25,4** |
| FT3 | 10,8 | 11,4 | 17,0* |
| T3 | 7,3 | 8,9 | 19,1***** |
| FT4 | 11,1 | 10,5 | 24***** |
| T4 | 14,3 | 6,9 | 20,0**** |
| CORTISOL | 11,7 | 12,9 | 14,9**** |
| INSULINA | 8,8 | 7,2 | 16,5**** |
| PROGESTERONA | 7,6 | 6,3 | 33,7** |
| TESTOSTERONA | 4,7 | 6,9 | 20,6* |
| FSH | 8,2 | 13,5 | 18,3* |

*Variación biológica mínima /**Variación biológica deseable/***/CLIA/****Variación biológica optima/*****PEEC/*****Rilibak

En las tablas que se mencionan a continuación se describe el grado de concordancia entre EP 15 A2 y EP10 A2

Tabla 4: Concordancia entre normativa EP15 A2 y EP10 A2 en analitos de química clínica

| Status de validación EP10 A2 (n%) | Status de validación EP15 A2 (n%) | | Total |
|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------|-----------|
| | Aprobado | No aprobado | |
| Aprobado | 10 (100) | 0 | 10 |
| No aprobado | 0 | 0 | 0 |
| Total | 10 | 0 | 10 |

Kappa de Cohen = 0,9

Tabla 5: Concordancia entre normativa EP15 A2 y EP10 A2 en analitos de inmunquímica

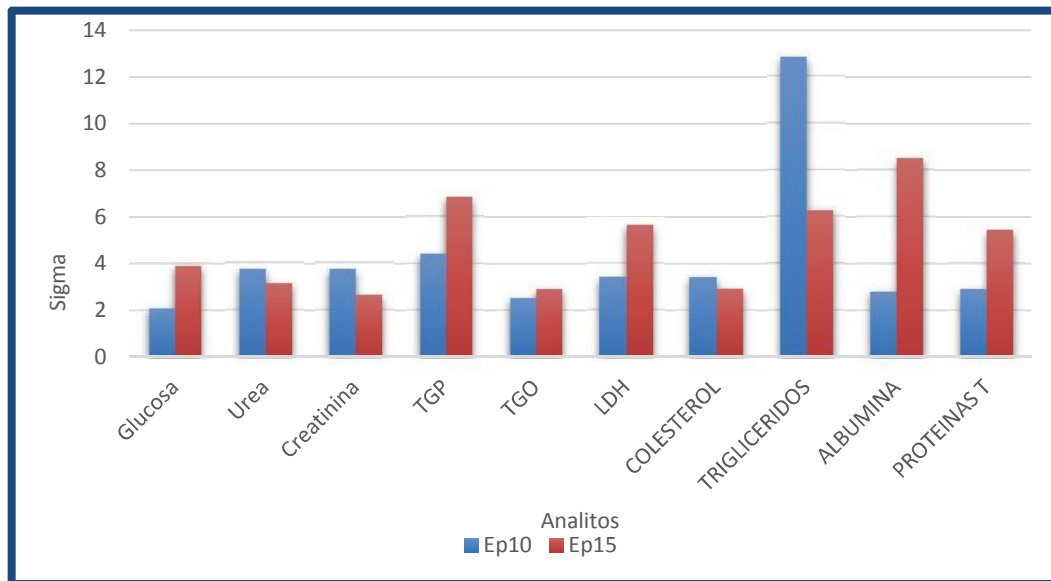
| Status de validación EP10 A2 (n%) | Status de validación EP15 A2 (n%) | | Total |
|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------|-----------|
| | Aprobado | No aprobado | |
| Aprobado | 10 (100) | 0 | 10 |
| No aprobado | 0 | 0 | 0 |
| Total | 10 (100) | 0 | 10 |

Kappa de Cohen = 0,9

En el presente estudio se calculó el desempeño sigma por analito y por protocolo utilizado, los hallazgos se exponen a continuación:

Gráfico 1.

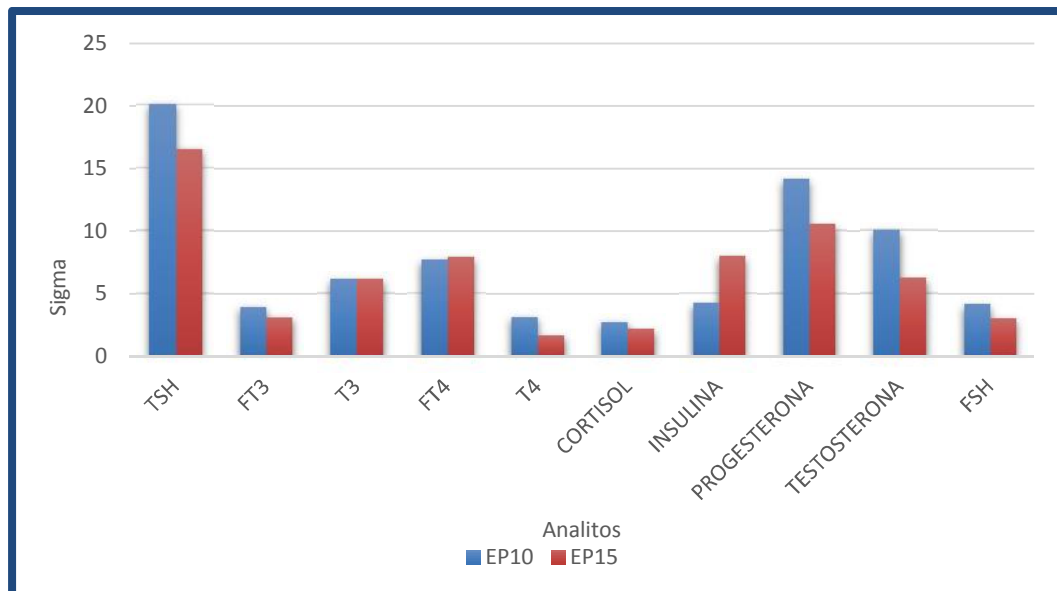
Desempeño sigma por analito estudiado y tipo de protocolo de verificación usado. Química Clínica. Modular P800



Elaborado por: Autor.

Gráfico 2.

Desempeño sigma por analito estudiado y tipo de protocolo de verificación usado. Química Clínica. Modular E170



Elaborado por: Autor.

Las concordancias de calificación de desempeño sigma usando la información de uno y otro protocolo, se resumen en las siguientes tablas:

Tabla 6: Concordancia en desempeños sigmas por normativa EP15 A2 y EP10 A2. Muestra General

| Status Sigma EP10 A2 (n%) | Status Sigma EP15 A2 (n%) | | Total |
|-----------------------------|---------------------------|---------------|-----------------|
| | Sigma ≥ 3 | Sigma <3 | |
| Sigma ≥ 3 | 12 (80) | 3 (20) | 15 (75) |
| Sigma <3 | 3 (60) | 2 (40) | 5 (25) |
| Total | 15 (75) | 5 (25) | 20 (100) |
| Kappa de Cohen = 0.2 | | | |

Tabla 7: Concordancia en desempeños sigmas por normativa EP15 A2 y EP10 A2 en métodos de analitos de Química Clínica

| Status Sigma EP10 A2 (n%) | Status Sigma EP15 A2 (n%) | | Total |
|-------------------------------|---------------------------|---------------|-----------------|
| | Sigma ≥ 3 | Sigma <3 | |
| Sigma ≥ 3 | 4 (66.7) | 2 (33.3) | 6 (60) |
| Sigma <3 | 3 (75) | 1 (25) | 4 (40) |
| Total | 7 (70) | 3 (30) | 10 (100) |
| Kappa de Cohen = -0.08 | | | |

Tabla 8: Concordancia en desempeños sigmas por normativa EP15 A2 y EP10 A2 en métodos de analitos de Inmunoquímica

| Status Sigma EP10 A2 (n%) | Status Sigma EP15 A2 (n%) | | Total |
|------------------------------|---------------------------|---------------|-----------------|
| | Sigma ≥ 3 | Sigma <3 | |
| Sigma ≥ 3 | 8 (88.8) | 1 (11.2) | 9 (90) |
| Sigma <3 | --- | 1 | 1 (10) |
| Total | 8 (80) | 2 (20) | 10 (100) |
| Kappa de Cohen = 0.61 | | | |

Capítulo 4

DISCUSIÓN

4.1 Contrastación empírica:

El 100% de analitos independientemente de la normativa usada, muestran desempeño adecuado frente al objetivo planteado, tanto con EP10-A2 como con EP15-A2 para error aleatorio (CV%), error Sistemático (BIAs%) y Error Total (Tabla 1,2 y 3). La estimación de estos parámetros en la validación o verificación de métodos cuantitativos en laboratorio permite conocer la carga de error asociado a la veracidad (error sistemático) e precisión (error aleatorio) para el método evaluado en cada uno de los analitos seleccionados; el aporte de esta información permite a los laboratorios verificar si el método elegido para análisis cumple los objetivos analíticos de calidad seleccionados por el laboratorio (J. Westgard, 2013).

La concordancia en cumplimiento de objetivos de validación, tanto para error sistemático, aleatorio y error total, es del 100%, independientemente del protocolo de validación usado en los analitos evaluados tanto de Química como de Inmunoquímica. (Tabla 4 y 5).

El protocolo Ep12 A2 “*User Protocol for Evaluation of Qualitative test performance*” del CLSI, hace referencia a un algoritmo para la aplicación de normativas en la evaluación de fuentes de error en laboratorios clínicos, en el que se expone la aplicación tanto EP10-A2 y EP15-A2, para la obtención de error sistemático, aleatorio y error total (CLSI, 2008).

Con los resultados obtenidos en el presente estudio se observa el cumplimiento de lo referenciado por el protocolo EP12 A2 pues la utilización independientemente de normativas elegidas (EP10 A2 o EP15 A2) posibilita la validación/verificación de métodos cuantitativos de frente a objetivos de calidad, los mismos que se encuentran jerarquizados en 5 categorías,

en base al consenso de Estocolmo de 1999 y que en el Consenso de Milán del año 2014 fueron modificadas a tres, siendo las más usadas por un lado la relacionada con los efectos de los errores analíticos en decisiones médicas (variabilidad biológica, opiniones de médicos) y por otra parte, los objetivos establecidos por organismos reguladores (CLIA, CAP, RILIBAK). Estos criterios pueden ser adoptados por los laboratorios en función del estado del aseguramiento de la calidad y de las necesidades de los mismos (Fernández, 2005).

Si bien es cierto que el objetivo base de EP15 A2 es verificar el cumplimiento de un método adoptado en cuanto a precisión y veracidad de frente a la información proporcionada por el fabricante en la validación del mismo (CLSI, 2005), es importante resaltar que los protocolos experimentales y estadísticos de esta guía permiten el cálculo del error total y sus componentes; en tal virtud, los laboratorios pueden determinar si el método sometido a estudio, cumple con los objetivos de calidad escogidos (Gella, 2005), además de posibilitar la planeación del control interno de calidad mediante la métrica sigma y las curvas de poder (J. O. Westgard, 2013).

Con los datos obtenidos se calculó el desempeño sigma por protocolo y por analito (gráficos 1 y 2), las concordancias de calificación de desempeño sigma usando la información de uno y otro protocolo se resumen en las tablas 6, 7 y 8; con los datos expuestos se observa que en la muestra general (métodos de química y de Inmunoquímica) no existe concordancia en la calificación del desempeño sigma en la aplicación de los protocolos, tanto EP10-A2 y EP15-A2, además se puede evidenciar que con la aplicación del protocolo EP15-A2, se obtuvieron mayor cantidad de procedimientos de medida de química clínica, con un sigma superior a 3 (70%) en tanto que al emplear EP10-A2 el 60%.

Para los procedimientos de medida usados para Inmunoquímica la mayor cantidad de métodos que superaron los 3σ , fue a través del protocolo EP10-A2 (90%) derente al 80% que se obtuvo con la aplicación de EP15-A2; la causa probable de esta variación puede atribuirse a la variabilidad, en cuanto a precisión que poseen lo métodos Inmunoquímicos frente a los usados en química clínica, razón por lo cual una mayor robustez estadística proporcionada por EP10-A2 facilita una mejor aproximación a la precisión dado el mayor número de muestra empleada lo que tiende a disminuir la desviación estándar y por ende el coeficiente de variación.

4.2 Limitaciones:

Se trata de una propuesta que empleó normativas que pueden ser modificadas por la CLSI según se crea conveniente.

4.3 Líneas de investigación:

La línea de investigación es el aseguramiento de calidad analítica de un procedimiento de medida, los resultados obtenidos en el presente estudio pueden usarse como punto de partida para evaluación de otras guías relacionadas no solo con precisión y veracidad sino como linealidad, factor importante en la verificación del desempeño de un método

4.4 Aspectos relevantes:

Aportar con evidencia relativa al uso de normativas internacionales para la verificación de métodos “*in situ*”.

Capítulo 5

PROPUESTA

La aplicación de las guías EP 15 A2 y EP 10 A2 permite cumplir con el requisito 5.5.2 de la norma ISO 15189, las dos guías pueden ser usadas con la finalidad de cumplir con objetivos de calidad analítica escogidos por el laboratorio, la aplicación de EP15-A2 si bien es cierto que no expresa con detalle el cumplimiento a objetivos de calidad es posible trazarlo a estos como lo refiere en EP 12 A2 teniendo la posibilidad de tomar en cuenta tanto las exigencias de fabricante como objetivos de calidad analíticos mientras que la aplicación de EP 10- A2 toma en consideración solo objetivos de calidad analítico pero con esta se puede contar con información de otros parámetros en la validación de métodos como linealidad arrastre entre otros, en cuanto a recurso económico y de tiempo la EP15 A2 es la más corta y demanda menor inversión que la EP10 A2

Se propone que para la verificación de solo precisión y veracidad en un método de medida con previa validación por fabricante se utilice EP 15 A2, si se necesita la evaluación de precisión, veracidad y otros parámetros adicionales como linealidad arrastre entre otros la aplicación de EP 10 A2 puede ser una opción.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El grado de concordancia es alto en términos de aceptación para verificación de métodos cuantitativos en analitos seleccionados de uso habitual en Química Clínica e Inmunoquímica, al emplear las guía CLSI EP15 A2 y EP10 A2 considerando los objetivos de calidad en precisión, veracidad y error total.

El grado de cumplimiento de objetivos de calidad analíticos en procedimientos de medida seleccionados de química e inmunoquímica al aplicar las guías CLSI EP 10 A2 “Evaluación Preliminar de Métodos Cuantitativos en el Laboratorio Clínico” y CLSI EP 15 A2 “Verificación del Desempeño de la Precisión y Veracidad por el Usuario” fue del 100 %

Se sugiere la aplicación de las normas EP15 A2 o EP10 A2 del CLSI no solo para verificar métodos cuantitativos utilizados en el laboratorio clínico sino como una herramienta de buenas prácticas de laboratorio

Se propone que la decisión en cuanto al uso de las normas EP15 A2 y EP10 A2 del CLSI se lo realice en base a las necesidades operativas y técnicas del laboratorio, ya que si bien es cierto que el uso del protocolo EP 15-A2 demanda menor recurso también es cierto que la práctica la EP 10-A2 proporciona una mayor robustez estadística aplicable a procedimientos de medida de una alta variabilidad o en métodos en que se necesite verificar linealidad

Bibliografía:

Armbruster, D. (2013). Accuracy Controls. *Elsevier*, 33, 125–137.

<http://doi.org/10.1016/j.cll.2012.10.002>

Burnnet, D. (2013). *A Practical Guide to ISO 15189 in Laboratory Medicine*. (A. V. Publication, Ed.) *Venture Publication ACB* (1st ed.). London: Publication, ACB Venture.

CLSI. (2005). *Verificación del Desempeño de la Precisión y Veracidad por el Usuario*.

(CLSI, Ed.) (Segunda). Pennsylvania: CLSI.

CLSI. (2008). *User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance*. (CLSI,

Ed.) *CLSI* (Second). Pennsylvania.

Dasgupta, A. (2014). *Clinical Chemistry Immunology and Laboratory Quality Control* (1st ed., pp. 47–48). Houston: Elsevier.

EMA. (2008). *Guía para la Validación y la Verificación de los Procedimientos de Examen Cuantitativos empleados por el Laboratorio Clínico*. México.

Fernández, C. (2005). *Gestión de La Calidad en el Laboratorio Clínico*. (M. Panamerica, Ed.) (Primera). Buenos Aires.

Gella, J. (2005). *Control de la Calidad en el Laboratorio Clínico*. (Biosystems, Ed.)

(Segunda). Barcelona.

Guglielmone, R., & Elias, R. (2011). Verificación de Métodos en un Laboratorio Acreditado y Planificación del Control de Calidad Interno. *Acta Bioquímica Latinoamericana*, 45,

335–47. Retrieved from

http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-

[29572011000200012&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572011000200012&lng=es&nrm=iso)

Handdo, A. (2012). Clinical Laboratory Accreditation in India. *Elsevier*, 32, 281–292.

<http://doi.org/10.1016/j.cll.2012.04.009>

INEN. (2000). Normalización y actividades conexas vocabulario general. Quito. Retrieved

- from [http://app.ute.edu.ec/content/3250-166-20-1-6-16/guia isoiec 2.pdf](http://app.ute.edu.ec/content/3250-166-20-1-6-16/guia_isoiec_2.pdf)
- INEN. (2009). *laboratorios Clínicos Requisitos Particulares Relativos a la Calidad y a la Competencia* (No. NT INEN-ISO 15189:2009). Quito.
- Izquierdo-Alvarez, S. (2015). Acreditación: el camino hacia la excelencia en el laboratorio clínico. *Elsevier*, 30, e1–e3. <http://doi.org/10.1016/j.cali.2015.12.001>
- Marques-Garcia et al, F. (2015). Importance of implementing an analytical quality control system in a core laboratory. *Elsevier*, 30, 302–309. <http://doi.org/doi:10.1016/j.cali.2015.07.007>
- Metrología, C. E. de. (2012). *Vocabulario Internacional de Metrología*.
- Migliarino, G. (2013). Eslabones de la Calidad en el Laboratorio de Análisis Clínicos. *Bioanálisis*.
- NCCLS. (2002). *Preliminary Evaluation of Quantitative Clinical Laboratory Methods*. (NCCLS, Ed.) (Second). Pennsylvania: NCCLS.
- OAA. (2013). *Guia para la Validación de Métodos Microbiológicos* (No. GUI-LE-05). Buenos Aires. Retrieved from [http://www.oaa.org.ar/docs/GUI-LE-05 v1.pdf](http://www.oaa.org.ar/docs/GUI-LE-05_v1.pdf)
- OAE. (2011). *Validación de Métodos de Ensayo en Laboratorios Clínicos* (No. OAE G04). Quito.
- Perich, C. (2014). Aplicación práctica del control interno de calidad en los procedimientos de medida cuantitativos. *Elsevier*, 7, 25–32. <http://doi.org/10.1016/j.labcli.2013.12.001>
- Pineda Tenor, D. (2012). Importancia de la selección de una especificación de calidad en la aplicación del modelo Seis-Sigma en el laboratorio clínico. *Elsevier*, 5, 170–176. <http://doi.org/10.1016/j.labcli.2012.04.003>
- Pineda, D., & Cabezas, A. (2013). Aplicación del Modelo Seis sigma en el Laboratorio Clínico. In Asociación Española de Biopatología Médica (Ed.), *Curso de Formación a Distancia 2012-2013* (pp. 755–775). Asociación Española de Biopatología Médica.

Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/257998684>

Saenz, K. (2014). Calidad en Servicios de Salud Estado del Arte. *Servicio de Acreditación Ecuatoriano*, 21–23.

SEQC. (2008). Control de Calidad Analítica. Retrieved from
file:///C:/Users/user/Downloads/Control de la calidad (3).pdf

Westgard, J. (2013). *Validación Básica de Método*. (J. O. Westgard, Ed.) (Wallace Co).
Madison: QC Westgard, Inc.

Westgard, J. O. (2013). *Prácticas Básicas de Control de Calidad*. (J. O. Westgard, Ed.)
(Wallace Co). Madison: QC Westgard, Inc.

Zima, T. (2010). Accreditation in clinical laboratories. *Biochemia Medica*, 20(2), 215–220.
<http://doi.org/10.11613/BM.2010.026>

ANEXOS

Anexo 1

Hoja electrónica de datos EP15-A2¹ aplicada en procedimientos de medida en equipos Modular P 800 y E 170 (Roche)

| | | | |
|----------------------------|--|--|--------------|
| Fecha (dd-mm-aa) | | | |
| Instrumento | | | Número Serie |
| Analito | | | Unidad |
| Método | | | |
| Responsable | | | |
| | | | |
| Instrumento de comparación | | | |
| Método de comparación | | | |

B. REQUISITOS DE CALIDAD

| Fuente de Requisito | ETMax% | ESMax% | EAMax% |
|-----------------------------------|--------|-----------------------|------------------------------|
| Resultados Promedio de Requisitos | ETMax% | # ₇ DIV/0! | EAMax% # ₇ DIV/0! |

A. CARACTERIZACIÓN DE MATERIALES

| Material ¹ | Lote | Vencimiento | Valor asignado |
|-------------------------|--------------|---------------|----------------|
| Material ² | Lote | Vencimiento | Valor asignado |
| Valor Mínimo Material 1 | Valor Máximo | Incertidumbre | 0 |
| Valor Mínimo Material 2 | Valor Máximo | Incertidumbre | 0 |
| Reactivo | Lote | Vencimiento | |
| Calibrador | Lote | Vencimiento | |

B. DATOS DE FABRICANTE MATERIAL 1

| | | |
|--|---------------------|---------------------------------|
| | Repetibilidad (SDr) | Precisión intralaboratorio (Si) |
|--|---------------------|---------------------------------|

C. DATOS DE ANÁLISIS

| Muestra | DÍAS /CORRIDAS | | | | |
|-----------------------------|----------------|------------|------------|----------|----------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Fecha | 02/10/2014 | 02/11/2014 | 02/12/2014 | 13/2/14 | 14/2/14 |
| Operador | c. checa | C. Checa | C. Checa | C. Checa | C. Checa |
| Réplica 1 (X ₁) | | | | | |
| Réplica 2 (X ₂) | | | | | |
| Réplica 3 (X ₃) | | | | | |

B. DATOS DE FABRICANTE MATERIAL 2

| | | |
|--|---------------------|---------------------------------|
| | Repetibilidad (SDr) | Precisión intralaboratorio (Si) |
|--|---------------------|---------------------------------|

C. DATOS DE ANÁLISIS

| Muestra | DÍAS /CORRIDAS | | | | |
|-----------------------------|----------------|------------|------------|----------|----------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Fecha | 02/10/2014 | 02/11/2014 | 02/12/2014 | 13/2/14 | 14/2/14 |
| Operador | c. checa | C. Checa | C. Checa | C. Checa | C. Checa |
| Réplica 1 (X ₁) | | | | | |
| Réplica 2 (X ₂) | | | | | |
| Réplica 3 (X ₃) | | | | | |

¹ Fuente: Net lab S.A.

ANEXO 2

Precisión intracorrida repetibilidad²

1. Cálculo de la Gran Media, $\bar{\bar{x}}$:

$$\bar{\bar{x}} = \frac{\bar{x}_1 + \bar{x}_2 + \bar{x}_3 + \bar{x}_4 + \bar{x}_5}{5} = \underline{\hspace{2cm}}$$

2. Cálculo de s_r :

$$sd_{run, average}^2 = \frac{sd_{run 1}^2 + sd_{run 2}^2 + sd_{run 3}^2 + sd_{run 4}^2 + sd_{run 5}^2}{5} = \underline{\hspace{2cm}}$$

$$s_r = \sqrt{sd_{run, average}^2} = \underline{\hspace{2cm}}$$

[run=corrida; average=promedio;]

3. Cálculo de s_b :

$$s_b = \underline{\hspace{2cm}}, \text{ de arriba}$$

$$s_b^2 = \frac{\sum_{d=1}^5 (\bar{x}_d - \bar{\bar{x}})^2}{4} = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{\bar{x}})^2 + (\bar{x}_2 - \bar{\bar{x}})^2 + (\bar{x}_3 - \bar{\bar{x}})^2 + (\bar{x}_4 - \bar{\bar{x}})^2 + (\bar{x}_5 - \bar{\bar{x}})^2}{4} = \underline{\hspace{2cm}}$$

$$s_r = \sqrt{\frac{n-1}{n} \cdot s_r^2 + s_b^2}, \text{ en donde } n = \text{número de réplicas en cada corrida}$$

$$s_1 = \sqrt{\frac{2}{3} \cdot s_r^2 + s_b^2} = \underline{\hspace{2cm}}$$

4. Verificación de la Repetibilidad Definida:

Compare la s_1 calculada con la σ_r definida por el fabricante:

Si s_1 calculada $<$ σ_r definida, se ha demostrado la repetibilidad al ser consistente con las indicaciones del fabricante. Ver punto 5, "Verificación de las Indicaciones Intralaboratorio".

Si s_1 calculada $>$ σ_r definida, nótese que la repetibilidad puede ser mayor que la definida por el fabricante y no ser tan diferente estadísticamente de la definida.

Calcule el valor de verificación:

$$v = 10, C = 20.48$$

$$\text{Valor de verificación} = \frac{\sigma_r \cdot \sqrt{C}}{\sqrt{v}} = \sigma_r \cdot 1.431 = \underline{\hspace{2cm}}$$

² Tomado de :CLSI. (2005). *Verificación del Desempeño de la Precisión y Veracidad por el Usuario*. (CLSI, Ed.) (Segunda). Pennsylvania: CLSI.

Continuación

Compare s_1 calculada con el valor de verificación:

Si s_1 calculada \leq valor de verificación, se ha demostrado la repetibilidad al ser consistente con la definida por el fabricante.

Si s_1 calculada $>$ valor de verificación, se ha demostrado que la repetibilidad no es consistente con la definida por el fabricante: contacte al fabricante para obtener ayuda.

5. Verificación de las Indicaciones Intralaboratorio:

Compare s_1 calculada con σ_1 definida:

Si s_1 calculada $<$ σ_1 definida, se ha demostrado que la precisión dentro del laboratorio es consistente con la definida por el fabricante.

Si s_1 calculada $>$ σ_1 definida, nótese que la precisión intralaboratorio del usuario puede ser mayor que la definida por el fabricante y no ser tan diferente estadísticamente.

Calcule los grados de libertad efectivos, T:

$$T = \frac{((n-1)s_r^2 + (ns_b^2))^2}{\left(\frac{n-1}{D}\right)s_r^4 + \left(\frac{n^2(s_b^2)^2}{D-1}\right)}$$

Donde D = número de días, y
n = número de réplicas por día.

$$T = \frac{(2s_r^2 + 3(s_b^2))^2}{0.4s_r^4 + \frac{9(s_b^2)^2}{4}} = \underline{\hspace{2cm}}$$

C =

$$\text{Valor de verificación} = \frac{\sigma_1 \cdot \sqrt{C}}{\sqrt{T}} = \underline{\hspace{2cm}}$$

Compare s_1 calculada con el valor de verificación:

Si s_1 calculada \leq valor de verificación, se ha demostrado que la precisión intralaboratorio es consistente con la definida por el fabricante.

Si s_1 calculada $>$ valor de verificación, se ha demostrado que la precisión intralaboratorio no es consistente con la definida por el fabricante; contacte al fabricante para obtener ayuda. Podría ayudar con la solución de problemas contar con información adicional como la fecha de la última calibración, los resultados reales de los controles en cada corrida, los rangos esperados de los controles y demás información que se proporciona con los controles.

ANEXO 3

VERACIDAD (comparación de los resultados de una muestra de paciente con los de otro procedimiento)³

Ecuaciones para calcular los términos en la hoja de registro de datos:

$$b_i = (\text{resultado del procedimiento de prueba}_i - \text{resultado del procedimiento comparativo}_i)$$

$$\bar{b} = \frac{\sum_{i=1}^n b_i}{n}$$

Sesgo de las muestras individuales en porcentaje = %b_i

$$\%b_i = 100 \cdot \left(\frac{\text{resultado del procedimiento de prueba}_i - \text{resultados del procedimiento comparativo}_i}{\text{resultados del procedimiento comparativo}_i} \right)$$

1. Cálculo de la media del sesgo en las unidades reportables y porcentaje entre los dos procedimientos:

$$\bar{b} = \frac{\sum_{i=1}^n b_i}{n} = \underline{\hspace{2cm}}$$

$$\overline{\%b} = \frac{\sum_{i=1}^n \%b_i}{n} = \underline{\hspace{2cm}}$$

2. Cálculo de las desviaciones estándar del sesgo y porcentaje de éste:

$$s_b = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (b_i - \bar{b})^2}{n-1}} = \underline{\hspace{2cm}}$$

$$s_{\%b} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\%b_i - \overline{\%b})^2}{n-1}} = \underline{\hspace{2cm}}$$

3. Cálculo de los límites de verificación para el sesgo en unidades reportables y porcentaje de éste:

Tenga en cuenta una tasa de falso rechazo, α . Los valores típicos seleccionados para esta tasa de error son $\alpha = 1\%$ y $\alpha = 5\%$. Determinar los puntos porcentuales $(100-\alpha/2)$, t , de la distribución-t con $n-1$ grados de libertad. En este caso, n representa el número de muestras de pacientes. Por ejemplo, si α equivale a 1% y n es igual a 20, el punto de la distribución-t con $n-1$ grados de libertad $(100 - \alpha/2)$ es 2.861. Se pueden obtener otros valores de t bilaterales de los libros de estadísticas estándar o lo más común es usar programas de computadora especializados en hojas de cálculo con valores distintos para α y n .

³ Tomado de: CLSI. (2005). *Verificación del Desempeño de la Precisión y Veracidad por el Usuario*. (CLSI, Ed.) (Segunda). Pennsylvania: CLSI.

Continuación

$$\text{Límites de verificación (sesgo)} = \beta - \frac{t_{1-\alpha/2, n-1} \cdot s_E}{\sqrt{n}} = \underline{\hspace{2cm}} \quad \text{y} \quad \beta + \frac{t_{1-\alpha/2, n-1} \cdot s_E}{\sqrt{n}} = \underline{\hspace{2cm}} .$$

$$\text{Límites de verificación (sesgo \%)} = \beta - \frac{t_{1-\alpha/2, n-1} \cdot s_{\%}}{\sqrt{n}} = \underline{\hspace{2cm}} \quad \text{y} \quad \beta + \frac{t_{1-\alpha/2, n-1} \cdot s_{\%}}{\sqrt{n}} = \underline{\hspace{2cm}} .$$

Compare el sesgo calculado o el porcentaje del sesgo con los límites de verificación. Si el sesgo calculado o el porcentaje del sesgo está dentro de los límites de verificación, se ha demostrado que el sesgo o el porcentaje del sesgo son consistentes con las especificaciones de los fabricantes. Si el sesgo o el porcentaje del sesgo excede el valor apropiado del valor de verificación, se ha demostrado que el sesgo no es consistente con las especificaciones de los fabricantes; contacte al fabricante.

ANEXO 4

VERACIDAD (Recuperación de valores esperados del material de referencia con valores asignados)⁴

2. Cálculo del error estándar de la media:

$$s_x^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1} = \frac{\sum_{i=1}^{10} (x_i - \bar{x})^2}{9}$$

$$s_x^2 = \frac{(x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + (x_3 - \bar{x})^2 + (x_4 - \bar{x})^2 + (x_5 - \bar{x})^2 + (x_6 - \bar{x})^2 + (x_7 - \bar{x})^2 + (x_8 - \bar{x})^2 + (x_9 - \bar{x})^2 + (x_{10} - \bar{x})^2}{9}$$

$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{s_x^2}{n}} = \text{_____}$$

3. Cálculo de intervalo de verificación para el sesgo en unidades reportables.

Intervalo de verificación = $\bar{x} \pm t_{1-\alpha/2, 2n-1} \cdot \sqrt{s_x^2 + s_a^2}$, con s_x definida o calculada de acuerdo con la Sección

Determinar el punto porcentual $t(100 - \alpha/2)$, de la distribución-t con $2n-1$ grados de libertad. Aquí, n , representa el número de muestras probadas, y 2 representa el número de réplicas (usar 3 o 4 si se está probando ese número de réplicas). Por ejemplo, si α equivale a 1% y n equivale a 5, el punto de distribución-t ($100 - \alpha/2$) con 9 grados de libertad es 3.250. En cualquier libro de estadísticas estándar¹³ se pueden obtener otros valores de t o más fácilmente, usando programas de hojas de cálculo con valores diferentes de α y n .

4. Si el intervalo de verificación incluye el valor asignado, entonces las especificaciones del fabricante para la veracidad están verificadas.
5. Si el sesgo medido o el porcentaje del sesgo es muy diferente al valor asignado, pero sigue dentro del intervalo de verificación, el usuario puede hacer una prueba más poderosa analizando de dos a cinco muestras más (en diferentes corridas) y recalculando todas las estadísticas usando los datos combinados.
6. Si el valor asignado no está incluido en el intervalo de verificación, el usuario no ha demostrado la veracidad consistente con las especificaciones del fabricante, y debería considerar una de las siguientes opciones:
 - a. Determinar si el sesgo y el error total son aceptables para las necesidades del laboratorio. En algunas de las publicaciones de la lista de referencias se incluyen discusiones de la relación entre el error permitido y la desviación estándar y sesgo permitidos.
 - b. Contactar al fabricante para asistencia. Incluir información adicional que podría ayudar con la detección del problema como: la fecha de la última calibración, los resultados actuales de los materiales de referencia en cada corrida, y los rangos esperados de los materiales de referencia y otra información proporcionada por los materiales de referencia.

⁴ Tomado de: CLSI. (2005). *Verificación del Desempeño de la Precisión y Veracidad por el Usuario*. (CLSI, Ed.) (Segunda). Pennsylvania: CLSI.

ANEXO 5

Hoja electrónica de datos EP10 A2⁵ aplicada en procedimientos de medida en equipos Modular P 800 y E 170 (Roche)

| | | | |
|-----------------------------------|--|---------------------|--|
| Fecha (dd-mm-aa) | | | |
| Instrumento | | Número Serie | |
| Analito | | Unidad | |
| Método | | | |
| Responsable | | | |
| Instrumento de comparación | | | |
| Método de comparación | | | |

| PROTOCOLO DE PRECISIÓN, ARRASTRE, EXACTITUD (APROXIMACIÓN) | | | | | | | |
|--|--|---------------|----------------------------|--------------------|----------------------------|-----------------------|----------------------------|
| A. CARACTERIZACIÓN DE MATERIALES | | | | | | | |
| Material ¹ -BAJO | | Lote | | Vencimiento | | Valor asignado | |
| Material ² -MEDIO | | Lote | | Vencimiento | | Valor asignado | |
| Material ³ -ALTO | | Lote | | Vencimiento | | Valor asignado | |
| B. REQUISITOS DE CALIDAD | | | | | | | |
| Fuente de Requisito | | ETMax% | | ESMax% | | EAMax% | |
| Resultados Promedio de Requisitos | | ETMax% | #_iDIV/0! | ESMax% | #_iDIV/0! | EAMax% | #_iDIV/0! |

| C. DATOS DE ANÁLISIS | | | | | |
|----------------------|-------------|----------|----------|----------|----------|
| Muestra | DÍAS | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Medio (2) | | | | | |
| Alto (3) | | | | | |
| Bajo (1) | | | | | |
| Medio (2) | | | | | |
| Medio (2) | | | | | |
| Bajo (1) | | | | | |
| Bajo (1) | | | | | |
| Alto (3) | | | | | |
| Alto (3) | | | | | |
| Medio (2) | | | | | |

⁵ Fuente: Net Lab S.A.

ANEXO 6

Estimación de desviación estándar y varianza para aplicación en precisión EP10-A2⁶

Computing Components of Variance

The formula for the uncorrected total standard deviation is as follows:

$$SD_L = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N_L} (x_i - \bar{x})^2}{N_L - 1}}$$

where

- L = level number (1 = low, 2 = mid, 3 = high)
- N_L = total number of observations at level L
- x_i = the i^{th} point at level L ($i = 1, \dots, N_L$); and,
- \bar{x} = the mean of the points at level L .

The three components should be calculated separately for each level, as follows:

| Equation Description | $J = 1$ | $J > 1$ | Equation # |
|--------------------------------|---|--|------------|
| within-run ("uncorrected") | $S_w^2 = \frac{\sum_{j,k} (x_{jk} - \bar{x}_j)^2}{I(K-1)}$ | $S_w^2 = \frac{\sum_{j,k} \sum_{l} (x_{jkl} - \bar{x}_{jl})^2}{IJ(K-1)}$ | (2) |
| between-run ("uncorrected") | Not Applicable | $S_R^2 = \frac{\sum_{j,j'} (\bar{x}_j - \bar{x}_{j'})^2}{I(J-1)}$ | (3) |
| between-day ("uncorrected") | $S_D^2 = S_R^2 = \frac{\sum_i (\bar{x}_i - \bar{x})^2}{I-1}$ | $S_D^2 = \frac{\sum_i (\bar{x}_i - \bar{x})^2}{I-1}$ | (4) |
| within-run estimate | $\hat{\sigma}_w^2 = S_w^2$ | $\hat{\sigma}_w^2 = S_w^2$ | (5) |
| between-run estimate | (Not Used) | $\hat{\sigma}_R^2 = S_R^2 - \frac{S_w^2}{K}$ | (6) |
| between-day estimate | $\hat{\sigma}_D^2 = \hat{\sigma}_R^2 = S_D^2 - \frac{S_w^2}{K} = S_R^2 - \frac{S_w^2}{K}$ (actual) | $\hat{\sigma}_D^2 = S_D^2 - \frac{\hat{\sigma}_R^2}{J} - \frac{S_w^2}{JK} = S_D^2 - \frac{S_R^2}{J}$ | (7) |
| total estimate | $\hat{\sigma}_T^2 = \hat{\sigma}_D^2 + \hat{\sigma}_w^2$ | $\hat{\sigma}_T^2 = \hat{\sigma}_D^2 + \hat{\sigma}_R^2 + \hat{\sigma}_w^2$ | (8) |

Note: If either equation 6 or 7 results in a negative number, set that component equal to zero.

Where:

- I = number of days (usually five);
- J = number of runs on each day (one in this document);
- K = number of observations in each run (i.e., three at each level);
- $x_{j,k}$ = observation k in run j on day I ;
- \bar{x}_j = mean of the K observations in run j on day I ;
- \bar{x} = mean of all observations on day I ;
- \bar{x} = grand mean of all observations.

Remember that these formulae are used at each concentration level separately.

⁶ Tomado de: NCCLS. (2002). *Preliminary Evaluation of Quantitative Clinical Laboratory Methods*. (NCCLS, Ed.) (Second). Pennsylvania: NCCLS

ANEXO 7

Información de material de control Precicontrol ClinChem Multi 1 para Química Clínica y Precicontrol Universal 1 para Inmunoquímica (Roche)

| ANALITOS | Valor asignado | Límite inferior | Límite superior | Incertidumbre |
|--|-----------------------|------------------------|------------------------|----------------------|
| GLUCOSA (mg/dL) | 101 | 86 | 116 | 15 |
| UREA (mg/dL) | 41,3 | 35,0 | 47,6 | 6,3 |
| CREATININA (mg/dL) | 1,05 | 0,9 | 1,2 | 0,18 |
| TGP (U/L) | 43,7 | 35,9 | 51,5 | 7,8 |
| TGO (U/L) | 49,1 | 40,4 | 57,8 | 8,7 |
| LDH (U/L) | 361 | 295,0 | 427,0 | 66,0 |
| COLESTEROL (mg/dL) | 88,50 | 75,3 | 101,7 | 13,2 |
| TRIGLICERIDOS (mg/dL) | 105,0 | 90,0 | 120,0 | 15,0 |
| ALBUMINA (g/dL) | 3,30 | 2,7 | 3,9 | 0,6 |
| PROTEINAS TOTALES (g/dL) | 5,01 | 4,4 | 5,6 | 0,6 |
| TSH (UI /ml) | 1,5 | 1,23 | 1,77 | 0,27 |
| FT3 (pg/mL) | 3,96 | 3,25 | 4,67 | 0,71 |
| T3 (mg/dL) | 159 | 126 | 196 | 35 |
| FT4 (ng/dL) | 1,24 | 1,05 | 1,43 | 0,19 |
| T4 (ug/dL) | 7,67 | 6,06 | 9,28 | 1,61 |
| CORTISOL (ug/dL) | 14,3 | 11,3 | 17,3 | 3 |
| INSULINA (uUI/mL) | 25,1 | 19,8 | 30,4 | 5,3 |
| PROGESTERONA (mg/ml) | 7,64 | 6,04 | 9,24 | 1,6 |
| TESTOSTERONA (ng/mL) | 5,62 | 3,93 | 7,31 | 1,69 |
| FSH (mUI/mL) | 16,3 | 11,4 | 21,2 | 4,9 |

Información de material de control Precicontrol ClinChem Multi 2 para Química Clínica y Precicontrol Universal 2 para Inmunquímica (Roche)

| ANALITOS | Valor asignado | Límite inferior | Límite superior | Incertidumbre |
|--|-----------------------|------------------------|------------------------|----------------------|
| GLUCOSA (mg/dL) | 240 | 204 | 276 | 36 |
| UREA (mg/dL) | 126 | 108 | 144 | 18 |
| CREATININA (mg/dL) | 3,75 | 3,1 | 4,4 | 0,69 |
| TGP (U/dL) | 115,0 | 94,0 | 136,0 | 21,0 |
| TGO (U/dL) | 140 | 116,0 | 164,0 | 24 |
| LDH (U/L) | 592,0 | 484,0 | 700,0 | 108,0 |
| COLESTEROL (mg/dL) | 172,0 | 145,0 | 199,0 | 27,0 |
| TRIGLICERIDOS (mg/dL) | 207,0 | 177,0 | 237,0 | 30,0 |
| ALBUMINA (g/dL) | 4,81 | 3,9 | 5,7 | 0,87 |
| PROTEINAS TOTALES (g/dL) | 7,55 | 6,7 | 8,5 | 0,9 |
| TSH (UI /ml) | 8,38 | 7,12 | 9,64 | 1,26 |
| FT3 (pg/mL) | 18,6 | 15,3 | 21,9 | 3,3 |
| T3 (mg/dL) | 350 | 266 | 434 | 84 |
| FT4 (ng/dL) | 4,8 | 4,08 | 5,52 | 0,72 |
| T4 (ug/dL) | 14,5 | 11,5 | 17,5 | 3 |
| CORTISOL (ug/dL) | 31,0 | 24,5 | 37,5 | 6,5 |
| INSULINA (uUI/mL) | 83,5 | 66,0 | 101,0 | 17,5 |
| PROGESTERONA (mg/mL) | 18,0 | 14,2 | 21,8 | 3,8 |
| TESTOSTERONA (ng/mL) | 2,36 | 1,65 | 3,07 | 0,71 |
| FSH (mUI/mL) | 51,8 | 36,3 | 67,3 | 15,5 |

ANEXO 8

Clasificación de objetivos de calidad analítica

| CRITERIOS DE CALIDAD | EJEMPLO |
|---|--------------|
| Evaluación de los efectos del desempeño analítico en las consecuencias clínicas en estados clínicos específicos | N.A. |
| Evaluación de los efectos del desempeño analítico en las decisiones clínicas: <ul style="list-style-type: none">• Variación biológica• Opiniones de médicos clínicos | N.A. |
| Recomendaciones de publicaciones profesionales: <ul style="list-style-type: none">• Cuerpos de expertos nacionales e internacionales | N.A. |
| Objetivos de calidad dados por: <ul style="list-style-type: none">• Cuerpos regulatorios• Esquemas de organizaciones externas de aseguramiento de la calidad | CLIA-RILIBAK |
| Objetivos basados en el estado el arte: <ul style="list-style-type: none">• Demostraciones basadas en programas de eficiencia• Publicaciones actuales sobre la metodología | PEEC |

N.A: No aplica