

Verificación de la imprecisión empleando dos protocolos

Palabras clave: Calidad, precisión, imprecisión, CLIA, CLSI, NCCLS, validación, verificación, métodos analíticos, EP15-A2.

Key words: Quality, precision, imprecision, CLIA, CLSI, NCCLS, validation, verification, analytical methods, EP15-A2.

Abreviaciones:

CLIA: Clinical Laboratory Improvement Amendments

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

IFCC: International Federation of Clinical Chemistry

ILAC: International Laboratory Accreditation Cooperation

ISO: International Organization for Standardization

IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards

Recibido: 12/08/2011

Aceptado: 11/10/2011

Este artículo puede ser consultado en versión completa en: <http://www.medigraphic.com/patologiaclinica>

180

Alberto Zamora Palma*

* Departamento de Calidad del Laboratorio LAPI

Correspondencia:

Alberto Zamora Palma

Departamento de Calidad del Laboratorio LAPI

controldecalidad@lapi.com.mx

albertoz100@hotmail.com

Resumen

Se analizan, ejemplifican y comparan dos metodologías para la evaluación de la imprecisión, la guía EP15-A2 *User Verification of Performance for Precision and Trueness*, propuesta por el CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), antes conocido como NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*), así como el protocolo publicado en la *Guía para la Validación y la Verificación de los Procedimientos de Exámenes Cuantitativos Empleados por el Laboratorio Clínico* publicado por la Entidad Mexicana de Acreditación (ema.ac). Se llevó a cabo un ejercicio con cada uno de los métodos, se presentan los resultados y los criterios de aceptación para cada uno de los ensayos. Con esta explicación se pretende que el lector obtenga la información suficiente para tomar la decisión de qué método utilizará en la evaluación del desempeño de sus métodos analíticos.

Abstract

Two methods for the evaluation of imprecision are compared and discussed, EP15-A2 User Guide Verification of Performance for Precision and trueness, proposed by the CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), formerly known as NCCLS, as well as the protocol published in the "Guide for Validation and Verification of Quantitative Examination Procedures Used by the Clinical Laboratory" published by (ema.ac) Mexican Accreditation Entity. We analyzed an exercise with each of the methods, outcome and acceptance criteria for each of the trials is discussed. With this simple explanation, the reader is expected to gather enough information in order to decide which method shall be used to evaluate staff performance within their analytical methods.

Definiciones

Precisión. La precisión de un método analítico es el grado de proximidad entre resultados independientes obtenidos en condiciones estipuladas. Se expresa cuantitativamente en términos de imprecisión, error aleatorio, desviación estándar (SD) o como coeficiente de variación (CV) de una serie de medidas.

Precisión intermedia. La precisión intermedia es una cantidad que indica la dispersión de una serie de medidas desarrolladas sobre un material, con el mismo procedimiento de medida, en el mismo laboratorio sobre un periodo extenso de tiempo.

Repetibilidad. La repetibilidad o precisión intracorrida es una cantidad que indica la dispersión de una serie de medidas, desarrolladas en idénticas condiciones (dentro de una misma corrida).

Veracidad. La veracidad de un método analítico es el grado de proximidad entre el valor promedio obtenido de una distribución de resultados y el valor verdadero de la muestra. La medida de veracidad es expresada usualmente como el Bias o sesgo.

Validación. Verificación de que los requisitos especificados son adecuados para el uso previsto.

Verificación. Aportación de evidencia objetiva de que un elemento satisface los requisitos específicos.¹

Réplica. Número de veces que se repite una medición

Introducción

Con la creciente cultura de la calidad entre los laboratorios clínicos, también ha aumentado la necesidad de evaluar el desempeño de los métodos analíticos que utiliza para la realización de los exámenes ofrecidos a sus clientes. Una de las herramientas estadísticas que de inicio suelen utilizar para lograr este objetivo es la evaluación de la precisión. Sin embargo, al intentar realizar esta actividad, el profesional del laboratorio encontrará que existen

dos opciones. La primera es el documento EP15-A2, publicado por el CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), previamente conocido como NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*); éste es uno de los primeros documentos de referencia que se han publicado en el mundo para promover las buenas prácticas de laboratorio y es un protocolo riguroso para asegurar la integridad científica de los resultados emitidos por el laboratorio. El otro documento que encontrará es la *Guía para la Validación y la Verificación de los Procedimientos de Exámenes Cuantitativos Empleados por el Laboratorio Clínico*, publicada por la ema. ac (Entidad Mexicana de Acreditación), el cual es un documento sencillo y práctico que toma como base la información publicada en libros emitidos por alguna autoridad en la materia (por ejemplo: ICH, ILAC, ISO, IUPAC, NCCLS, IFCC), métodos establecidos o autorizados por organismos científicos nacionales o internacionales (por ejemplo: NOM-199-SSA1-2000) publicados en artículos o revistas especializadas, métodos revisados por pares o publicados en directrices internacionales, regionales o nacionales, así como los métodos de examen especificados por el fabricante del equipo. Aunque actualmente para fines de acreditación, la Entidad Mexicana de Acreditación acepta los ensayos con cualquiera de las dos aproximaciones, corresponde al profesional del laboratorio tomar en cuenta los costos y la complejidad de las dos propuestas para tomar una decisión correcta en la medición de la imprecisión. A continuación se explican las dos opciones.

I. EP15-A2 User Verification of Performance for Precision and Trueness

Este documento debe utilizarse cuando previamente se ha establecido un método analítico en un laboratorio clínico con la finalidad de verificar el desempeño del método antes de ser utilizado con muestras de pacientes; sin embargo, también

puede emplearse para verificar el desempeño de un método después de implementar Acciones Correctivas para Programa de Ensayos de Aptitud no aprobados.

Para evaluar la precisión, el CLSI recomienda utilizar los documentos EP15-A y EP05-A2. EP05-A se utiliza para validar un método contra los requisitos del usuario y es utilizado generalmente por proveedores de reactivos e instrumentos para demostrar la precisión de sus métodos. En contraste, EP15-A2 se emplea para verificar que el desempeño de un laboratorio es consistente con las especificaciones del fabricante.

Método. Para realizar este protocolo pueden utilizarse varios materiales como un *pool* de muestras de pacientes, materiales de control de calidad o estándares comerciales con valores conocidos.

El protocolo EP05-A2 dice que:

- La evaluación se realiza en al menos dos niveles.
- Cada nivel se corre por duplicado, con dos corridas por día durante 20 días, cada corrida debe realizarse con un tiempo mínimo de dos horas entre ellas.
- Debe haber al menos una muestra control en cada corrida.
- Debe modificarse el orden del análisis del material de prueba y el material de control en cada corrida o por cada día.
- Para simular la operación real, incluya al menos 10 muestras de pacientes en cada corrida.

182

El protocolo EP15-A2 es similar, excepto que el experimento se realiza con tres réplicas por cinco días de al menos dos niveles.

Los valores atípicos (*outliers*) son aquellos que exceden 5.5 veces la desviación estándar (DE) obtenida en la prueba de precisión primaria. En estos casos, los números pares deben ser rechazados, se deben investigar las causas de la desviación y repetir la corrida.

Ejemplo de repetibilidad utilizando un solo nivel de calcio (*cuadro I*).

Cuadro I. Calcio nivel I (mg/dL).

Corrida / Día	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
1	8.1	8.1	7.9
2	8.1	8.0	7.9
3	8.1	7.9	8.0
4	7.9	7.8	7.9
5	7.9	6.6	7.8

La repetibilidad se estima utilizando la siguiente fórmula:

$$Sr = \sqrt{\frac{\sum_{d=1}^D \sum_{r=1}^n (X_{dr} - \bar{X}_d)^2}{D(n-1)}}$$

donde:

D = Número total de días.

n = Número total de réplicas por día.

X_{dr} = Resultado por cada réplica en el día.

\bar{X}_d = Promedio de todas las réplicas en el día.

Primer paso:

1. Calcule la media de los replicados por día.
2. Reste la media a cada uno de los resultados.
3. Eleve al cuadrado el valor resultante.

La tabla quedaría como se ilustra en el *cuadro II*.

La suma de las diferencias al cuadrado es 1.1200 y sabemos que:

$$D = 5 \text{ y } n = 3$$

$$Sr = \sqrt{\frac{1.1200}{5(3-1)}} \quad Sr = 0.3347 \text{ mg/L}$$

Cuadro II. Media de las réplicas por día.			
Promedio por día	(R1- Promedio) ²	(R2- Promedio) ²	(R3- Promedio) ²
8.0	0.00444	0.00444	0.01778
8.0	0.01000	0.00000	0.01000
8.0	0.01000	0.01000	0.00000
7.9	0.00111	0.00444	0.00111
7.4	0.21778	0.69444	0.13444
Suma	0.24333	0.71333	0.16333

Segundo paso:

El siguiente paso es calcular la varianza de los promedios diarios (S_b^2) utilizando la siguiente ecuación:

$$S_b^2 = \frac{\sum_{d=1}^D (\bar{X}_d - \bar{X})^2}{D-1}$$

donde:

D = Número total de días.

\bar{X}_d = Promedio de todas las réplicas en el día.

\bar{X} = Promedio de todos los resultados.

Utilizando los valores de nuestro ejemplo, la media de todos los resultados es 7.9 mmol/L. En el día 1 la media de las tres réplicas es 8 (cuadro II), de manera que el cuadrado de las diferencias es $(8 - 7.9)^2 = 0.0178$

El cuadro III muestra los cálculos para los siguientes días.

Cuadro III. Cálculos para los siguientes días.		
Promedio por día	$(\bar{X} - \bar{X})^2$	
8.0	0.0178	
8.0	0.0100	
8.0	0.0100	
7.9	0.0011	
7.4	0.2178	

Sumando los cuadrados de las diferencias tendremos un total de 0.2567. Así, la varianza de los promedios diarios es:

$$S_b^2 = \frac{0.2567}{4} = 0.064166$$

Cálculo de la precisión intralaboratorio.
Podemos realizar el cálculo utilizando la siguiente ecuación

183

$$S_i = \sqrt{\frac{n-1}{n} * S_r + S_b^2}$$

donde:

n = Número de réplicas por dia.

Así, utilizando los valores del ejemplo tendremos:

$$S_i = \sqrt{\frac{3-1}{3} * 0.3347 + 0.064167} = 0.53598135 \text{ mg/dL}$$

Evaluación de los resultados. El método EP15-A2 se utiliza para verificar que el método cumpla con las especificaciones del fabricante; por lo tanto, si la repetibilidad y la desviación estándar (DE) son menores que las indicadas por el fabri-

cante para el analito en particular, podemos afirmar que el ensayo es aceptado y no se requiere ninguna verificación.²⁻⁴

II. Protocolo publicado en la Guía para la Validación y la Verificación de los Procedimientos de Exámenes Cuantitativos Empleados por el Laboratorio Clínico

Para evaluar la imprecisión de acuerdo al protocolo propuesto por la ema.ac, se puede aplicar alguna de las siguientes opciones:

- 1) Realizar el examen de un material (muestras de pacientes, muestras control, etcétera) de valor conocido o no, analizado por lo menos 20 veces en forma continua, llamado intraserial o intracorrida; o 20 veces en el transcurso del día (24 horas), llamado intradía.
- 2) Utilizar 20 valores obtenidos uno cada día de la misma muestra de un paciente o bien obtenidos de una curva de un programa de control de calidad interno de 20 días diferentes y del mismo lote (interserial o intercorrida).

En ambos casos se debe calcular la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación expresado en porcentaje.

Criterio de aceptabilidad:

Acorde al fabricante. La precisión del método obtenida por el laboratorio debe ser menor o igual a la precisión del método que proporciona el fabricante. En caso de que sea mayor, el laboratorio deberá presentar la justificación estadística documentada de que no existe una diferencia significativa.

Precisión acorde a criterios del Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA).

Los resultados en la corrida intraserial o en la intradía tendrán menor precisión que la interserial; por lo tanto, el criterio de aceptabilidad debe ser diferente. Para la precisión intraserial o intradía, la desviación estándar (DE) obtenida debe ser igual o menor a 1/4 del error total permitido (ET) esto es: DE intraserial o DE intradía ≤ 0.25 ET

De manera similar para la precisión interserial, la desviación estándar debe ser de 1/3 o menor del error total permitido (ET), esto es: DE interserial ≤ 0.33 ET

Una mayor desviación estándar implica un mayor coeficiente de variación y, por lo tanto, una mayor precisión del método analítico.⁵

Ejemplo: Con los datos mostrados en el cuadro IV generamos la tabla mostrada en el cuadro V.

Cuadro IV. Imprecisión de calcio nivel I.

Repeticiones	Valor Observado
1	8.8
2	8.9
3	8.7
4	8.9
5	9.0
6	8.8
7	8.8
8	8.7
9	8.6
10	8.6
11	8.4
12	8.5
13	9.1
14	8.8
15	8.8
16	8.9
17	8.8
18	8.8
19	8.7
20	8.6
Promedio	
DS	
CV	

Cuadro V. Modelo para el informe de la imprecisión	
Fuente de los datos	Material de referencia
El material o espécimen utilizado	Suero Control Bio-Rad Lote 14171
Concentración	De: 7.84 A: 9.59
Unidades	mg/dL
Condiciones del Ensayo	Intracorrida
Periodo del Ensayo	De: 27/09/2010 A: 31/09/2010
ETa (CLIA)	11.4 %
Criterio de Aceptación	1.90 < 3.8
Resultado	Ensayo aceptado

Análisis

Es evidente que el protocolo EP15-A2 *User Verification of Performance for Precision and Trueness* resulta un tanto más complejo que el propuesto en la *Guía para la Validación y la Verificación de los Procedimientos de Exámenes Cuantitativos Empleados por el Laboratorio Clínico*. Publicado por la Entidad Mexicana de Acreditación (ema.ac). Sin embargo, también es uno de los protocolos con mayor solidez metrológica para evaluar la imprecisión; la dificultad que presenta el modelo matemático es impactante de inicio, pero basta con familiarizarse con la metodología para entender que es muy práctico y útil para la evaluación del desempeño de los métodos analíticos. Por otra parte, el modelo propuesto por la ema.ac es mucho más sencillo y no es menos confiable que el primero para evaluar la imprecisión. Ambos métodos son herramientas estadísticas fundamentales que le permiten al profesional del laboratorio evaluar confiablemente el desempeño de sus métodos analíticos.

Conclusiones

Probablemente la actividad esencial del profesional del laboratorio es la medición, lo hacemos todos

los días y, en un mundo globalizado, lo debemos hacer con base en estándares internacionales, de manera que nuestros resultados puedan tener trazabilidad y, por lo tanto, validez en cualquier país. Dos herramientas básicas y útiles son el modelo propuesto por el CLSI con el protocolo EP15-A2 *User Verification of Performance for Precision and Trueness*, y el protocolo propuesto por la ema.ac en la *Guía para la Validación y la Verificación de los Procedimientos de Exámenes Cuantitativos Empleados por el Laboratorio Clínico*; el primero con mayor difusión internacional y probablemente con mayor aceptación; sin embargo, el propuesto por la ema.ac es interesante por su fácil aplicación e interpretación sin perder su validez metrológica.

Es necesario realizar evaluaciones comparativas y prospectivas para saber cuál de los métodos propuestos refleja mejor el desempeño de los métodos analíticos.

Independientemente del protocolo que decida emplear el usuario, no debe perderse de vista que esta actividad metrológica siempre se deberá hacer con bases científicas y con la responsabilidad suficiente de manera que puedan brindarse resultados confiables y siempre con la idea de medir correctamente en beneficio de nuestros pacientes.

185

Referencias

1. Vocabulario Internacional de Metrología – Conceptos Fundamentales y Generales y Términos Asociados (VIM). Traducción al Español de VIM 3°. JCGM 200:2008.
2. Tholen D. CLSI EP Documents, CLSI evaluation protocols. August 2006. www.mlo.online.com (Acceso el 20 de Julio 2011).
3. Chesher D, Evaluating Assay Precision. Clin Biochem Rev 2008; 29 (suppl 1).
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. User verification of performance for precision and trueness; approved guideline – second edition. CLSI document, EP15-A2. Wayne, PA, USA: CLSI; 2005.
5. Entidad Mexicana de Acreditación (EMA). Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico, publicada. México, Abril 2008.