



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**



“Evaluación estadística del método Inmuno – nefelométrico para la determinación de Proteína C Reactiva ultrasensible (PCR hs) en el diagnóstico de procesos infecciosos e inflamatorios con base en la NMX 15189”

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA:

Jazmín Elizabeth Hernández García

Q.F.B Elizabeth Guzmán Vázquez  
**Directora**

Mtra. Ma. Isabel Garduño Pozadas  
**Asesora**

México D.F    Junio    2011



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **DEDICATORIAS**

En quien he puesto mis sueños y pensamientos

Y los ha hecho posibles,

Por ello, con toda humildad

Dedico primeramente mi trabajo a Dios.

De igual forma, con todo respeto y admiración

A quienes han sido mi mayor ejemplo

Y mi razón de ser

A mis padres Angel Hernández Jiménez y Rocio García Soto

A mi hermana Marisol Hernández Chiney y a su esposo Filiberto Sosa por el apoyo y consejos que siempre me han brindado.

## AGRADECIMIENTOS

A mi jefa y amiga la Q.F.B Elizabeth Guzmán Vázquez por darme la confianza y el infinito apoyo en la realización de este trabajo, porque creyó en mí y me dio la oportunidad de permitirme ser parte de su equipo en el laboratorio de Inmunología y Alergia.

A Víctor Hugo Becerra y a Isabel Garduño por su amistad, motivación y sobre todo el apoyo incondicional en todo momento a lo largo del desarrollo de mi formación profesional y en la realización de este trabajo.

A mis maestros Pilar Cedillo y Rosalba Cervantes que me asesoraron, porque cada uno, con sus valiosas aportaciones, me ayudaron a crecer como persona y como profesionista.

Agradezco a mis compañeros de el laboratorio de Inmunología y Alergia; a María Angélica Plaza quien me motivó a realizar este tema para mi tesis, a mi segunda madre Rosalía Guevara Leonel a Gabriela Rodríguez, Jonathan Cortes y a Laura Berron, porque ellos han contribuido en gran medida en mi aprendizaje y a mejorar en mi trabajo, especialmente a aquellos que me brindaron cariño y apoyo, dándome con ello, momentos muy gratos.

A Everardo Blaisdell López por ser mi principal apoyo durante la carrera y quien le dio sentido a esta.

A mi hermana Leslie Jeanette por el apoyo en para realizar todos mis tramites de titulación.

A mis amigos Selene Barragan Montes y Rogelio Guzmán Morales por su valiosa amistad y porque juntos hemos estado en esto.

Que Dios los bendiga

Gracias 😊

Jazmín Elizabeth Hernández García

## TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
ABREVIATURAS	1
RESUMEN	2
INTRODUCCIÓN	3
1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	4
MÉTODO ANALÍTICO	
PRINCIPIO DEL MÉTODO INMUNO-NEFELOMÉTRICO	5
PRINCIPIOS BÁSICOS EN LA DETERMINACIÓN INMUNOQUÍMICA DE PROTEINAS	7
Curva de Heidelberger – Kendall	
NORMA ISO 15189:2003	8
PROCEDIMIENTOS VALIDADOS	9
VERIFICACIÓN Y SU IMPORTANCIA	9
PRECISIÓN	10
VERACIDAD	11
LINEALIDAD	12
INCERTIDUMBRE	12
REQUISITOS DE CALIDAD	16
CRITERIOS DE CALIDAD ANALÍTICA	17
EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO	20
ERRORES ALEATORIOS Y SISTEMÁTICOS	20
ERRORES SISTEMÁTICOS	20
ERRORES ALEATORIOS	21
ERROR TOTAL (TE)	21
ETM (Error Total Máximo Permitido)	21
ERROR SISTEMÁTICO CRÍTICO ( $\Delta$ Sec)	22
PLANIFICACIÓN DEL CONTROL DE CALIDAD SIX SIGMA	23
PROTOCOLO EP -15 A2 <i>User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline</i>	25
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	26
3. OBJETIVOS	27
4. HIPÓTESIS	27
5. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	27
6. CRITERIOS	28
7. VARIABLES	28
8. METODOLOGÍA	28
9. DIAGRAMA DE FLUJO	29
10. PROCEDIMIENTO	30
11.. RESULTADOS	38
12. ANÁLISIS DE RESULTADOS	57
13. CONCLUSIONES	59
14. REFERENCIAS	60
ANEXOS	

## ABREVIATURAS

<b>CVi</b>	<b>Coeficiente de variación en condiciones de precisión intermedia</b>
<b>(C)</b>	<b>Concentración</b>
<b>CCE</b>	<b>Control de calidad externo</b>
<b>CCI</b>	<b>Control de calidad interno</b>
<b>SDi</b>	<b>Desvió estándar obtenido en condiciones de precisión intermedia</b>
<b>ESc</b>	<b>Error sistemático crítico</b>
<b>TE</b>	<b>Error total</b>
<b>EQAS</b>	<b>External Quality Assurance System</b>
<b>U</b>	<b>Incertidumbre</b>
<b>IDS</b>	<b>Índice de desviación estándar</b>
<b>NDM</b>	<b>Nivel de decisión médica</b>
<b>PCR hs</b>	<b>Proteína C reactiva ultrasensible</b>
<b>PT</b>	<b>Proficiency testing</b>
<b>TEa</b>	<b>Error total máximo (requisito de calidad)</b>

## RESUMEN

La finalidad del presente trabajo fue realizar una evaluación estadística para conocer y evaluar el desempeño del método nefelométrico en la determinación de la Proteína C reactiva ultrasensible, utilizando el EP-15 A2, el cual es un protocolo de verificación de ensayos cuantitativos, que desde el punto de vista estadístico es ~~un~~ ~~protocolo~~ riguroso y consistente y se adapta a las necesidades del laboratorio en cuanto a costos y utilidad.

El protocolo se llevo a cabo durante 5 días, en los cuales se realizó la medición por triplicado de los controles Bio Rad (nivel 1,2 y 3), dentro de los cuales está considerado el nivel de decisión clínica, así como las concentraciones de estos controles están dentro de los rangos utilizados por el fabricante para su validación. Se calculó la precisión intermedia y la precisión en condiciones de repetibilidad, las cuales fueron comparadas con las especificaciones del fabricante. El nivel 1 y 2 fueron aceptados, para el nivel 3 los resultados superaron la especificación del fabricante lo cual fue rechazado, por lo tal motivo se aplica un test de significancia, sin embargo los resultados volvieron a superar la especificación del fabricante, indicando un ensayo rechazado.

Para el cálculo de la veracidad se utilizaron datos del reporte de comparación inter-laboratorios Bio Rad, y se calculo el intervalo de verificación del Bias y se verificó que el valor asignado al material utilizado se encuentre en ese intervalo. Los niveles 1, 2 y 3 fueron aceptados satisfactoriamente.

El protocolo EP-15 A2 considera la incertidumbre, la cual se calculó con los datos obtenidos del calibrador reumatológico que posee una incertidumbre asociada, la incertidumbre obtenida de los datos acumulados del control de calidad interno y del control de calidad externo (EQAS).

Para evaluar el desempeño del método se utilizaron las siguientes herramientas; Seis sigma, error sistemático crítico y error total, utilizando a la variabilidad biológica como requisito de calidad.

## INTRODUCCIÓN

El término calidad es aplicable a toda organización que necesite demostrar su capacidad para proporcionar productos o servicios que cumplan con los requisitos de sus clientes, incluyendo los establecidos en la normativa vigente aplicable, siendo el objetivo primordial asegurar la satisfacción del cliente.

- 3 -

Un factor determinante en la calidad de un laboratorio clínico es proporcionar resultados de análisis confiables con un nivel adecuado de reproducibilidad, precisión y exactitud, de tal forma que se puedan establecer diagnósticos y se tomen las decisiones pertinentes a partir de dichos resultados.

Un laboratorio debe de tener confianza en sus mediciones realizadas y determinar el grado de cumplimiento con respecto a especificaciones determinadas incluyendo el empleo de métodos analíticos validados y verificados que permitan conocer las características de desempeño y su error total.

Por tal motivo se han emitido una serie de guías, normas y reglamentos que buscan imponer condiciones estandarizadas para la ejecución de los métodos analíticos. Entre estas normas se encuentran las emitidas por la Organización Internacional de Normalización (ISO), a nivel específico del laboratorio clínico está la norma ISO 15189: "Requisitos Particulares para la Calidad y la Competencia de los Laboratorios Clínicos", norma utilizada por los laboratorios clínicos que buscan la acreditación demostrando su competencia técnica.

Debido a lo anterior el tema desarrollado en este trabajo, forma parte de las necesidades del laboratorio de Inmunología y Alergia en el Instituto Nacional de Pediatría, para el cumplimiento del punto 5.5.2 de la norma ISO 15189; validación y verificación de métodos analíticos, en específico se llevó a cabo la verificación del método Inmuno-nefelométrico para la determinación de la Proteína C Reactiva ultrasensible (PCR hs).

Para llevar a cabo la verificación de la metodología analítica en la determinación de PCR hs por el método nefelométrico, se utilizó como base el protocolo EP15- A2 *User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline*, que describe los puntos a considerar para la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos que se realizan en el laboratorio clínico, para el cumplimiento y evaluación del punto 5.5.2 de la norma NMX-EC-15189-IMNC-2006 / ISO 15189:2003.



## 1.- FUNDAMENTO TEORICO

La Proteína C Reactiva fue descrita por Tillet y Francis en 1930<sup>1</sup> como proteína de fase aguda en el suero de pacientes con neumonía; sin embargo, no fue hasta 1941 cuando logró ser aislada. Su nombre es derivado de la capacidad que tiene esta proteína de reaccionar con el polisacárido C aislado de la pared celular del neumococo. Los métodos de laboratorio iniciales fueron sólo cualitativos hasta finales de 1970, en que se logró cuantificar.

La proteína C reactiva es una proteína de fase aguda; el término “fase aguda” se refiere a los diferentes eventos que en forma local y sistémica acompañan a procesos inflamatorios. La respuesta local incluye la vasodilatación, agregación plaquetaria, quimiotaxis de los neutrófilos y liberación de enzimas lisosomales. La respuesta sistémica, sus síntomas son; fiebre, leucocitosis y cambios en la síntesis hepática de proteínas de fase aguda esto es, aumentan o disminuyen su concentración al menos 25%<sup>2</sup>.

Los estímulos para desarrollar una respuesta de fase aguda son diversos: infecciones, reacciones inmuno-alérgicas, lesiones térmicas, hipoxia, trauma, cirugías y otras.

La PCR es sintetizada por los hepatocitos ante un determinado estímulo, los macrófagos activados producen interleucina-6 (IL-6), la cual induce la síntesis de PCR a nivel hepático. El descenso de la concentración de la PCR es constante; por lo tanto, el nivel de PCR en la sangre depende exclusivamente de su síntesis hepática. La PCR actúa como una opsonina para las bacterias, parásitos y complejos inmunes, activando la vía clásica del complemento.

Dado que la respuesta de fase aguda es inespecífica, el valor de cuantificar la concentración de esta proteína está basado principalmente en detectar sus variaciones temporales como reflejo de la actividad inflamatoria, este comportamiento es muy similar a los “marcadores tumorales”. Las proteínas de fase aguda pueden monitorear el curso de una enfermedad en etapas iniciales en las cuales aún no existe manifestación clínica<sup>3</sup>.

La PCR no es la única proteína de fase aguda. Otras proteínas de fase aguda son las proteínas transportadoras (haptoglobina, ceruloplasmina, Alfa 1 inhibidor de la tripsina, etc.), proteínas de la coagulación (fibrinógeno, protrombina, etc.) y componentes del complemento (C3, C4, C5, etc.). De todas ellas, la PCR es el marcador de elección para monitorear la respuesta inflamatoria, dado que su concentración aumenta mucho por sobre su nivel basal, con una vida media corta desde el estímulo<sup>4</sup>.

La determinación de PCR es realizada actualmente por métodos inmunológicos como la nefelometría, éste método se ha convertido en uno de los más aceptados para valorar el grado de inflamación. Esta metodología es más costosa, pero es más específica ya que no se ve afectada por factores no inflamatorios que pueden influir como en la velocidad de sedimentación globular. En este caso es atractiva la suposición de que los tratamientos que reducen las concentraciones de PCR mejoran la enfermedad. Un individuo sano debe tener unas concentraciones indetectables de PCR en suero. El cambio en el nivel de PCR en un individuo indica mejora o deterioro y un tratamiento eficaz hará que disminuya. Esta suele ser una respuesta muy rápida y puede variar significativamente en 24 horas. Una inflamación muy intensa puede producir valores superiores a los 400mg/L. Su vida media es menor a 24 horas. Los niveles plasmáticos aumentan dentro de las primeras 4 a 6 horas posteriores al estímulo o noxa, por ejemplo, una cirugía y continúa elevándose las siguientes 24 a 48 horas<sup>5</sup>.

Por lo tanto, la PCR es una medida directa y cuantitativa de una reacción inflamatoria y sus niveles plasmáticos seriados pueden ser usados como una herramienta clínica en el diagnóstico y tratamiento de procesos infecciosos o inflamatorios.

La Proteína C Reactiva ha tomado en los últimos años gran importancia ya que se ha revalorizado su uso diagnóstico, actualmente se cuenta con métodos de elevada sensibilidad como es el caso de la Nefelometría que al poder automatizarse sustituyeron a la tradicional prueba de aglutinación, lo que permite la detección de respuestas inflamatorias de poca magnitud que habían sido consideradas hasta el momento como clínicamente no significativas y que se conoce como: PCR ultrasensible, debido a lo anterior, cualquiera que sea la metodología utilizada, se requiere la optimización de las condiciones experimentales que determinan la eficiencia del ensayo, debido a que éstas presentan variaciones en función de las características propias de cada equipo y de los requerimientos operacionales del laboratorio donde se llevará a cabo la medición.

## **MÉTODO ANALÍTICO**

### **PRINCIPIO DEL MÉTODO INMUNO-NEFELOMÉTRICO**

El método más usado frecuentemente en la determinación de proteínas en suero, orina y otros fluidos biológicos es la nefelometría.

En este método, la luz dispersada en un ángulo de 90° con respecto a la fuente de luz sobre los complejos antígeno-anticuerpo es medida. La medida de la

intensidad de la luz dispersada es proporcional a la cantidad de complejos antígeno-anticuerpo en la muestra bajo ciertas condiciones. Una curva de referencia es generada por un estándar con una concentración de antígeno conocida en la cual la señal de la luz dispersada de la muestra puede ser evaluada y calculada como una concentración de antígeno. Los complejos antígeno anticuerpo son formados cuando una muestra contiene antígeno y su correspondiente antisuero se pone dentro de la celda. Un rayo de luz es generado con un LED (diodo emisor de luz), el cual se transmite a través de la celda. La luz es dispersada sobre el inmuno-complejo que está presente.

La intensidad de la luz dispersada está relacionada con la concentración y depende del tamaño de la partícula, de la cantidad y del índice de refracción. Es más sensible que la turbidimetría y por eso se prefiere cuando las concentraciones a determinar son más pequeñas.

El tamaño de la mayoría de las proteínas solubles se encuentra entre 1 y 20 nm, y el de los complejos antígeno anticuerpo, de entre 50 y 100 nm. Los agregados que se forman tras la reacción antígeno anticuerpo presentan un tamaño entre 300 y 1000nm.

Como se ha señalado antes, la cantidad de luz dispersada depende del tamaño de partícula, de la cantidad y del índice de refracción de las especies dispersantes, por lo que un aumento de cualquiera de estas magnitudes aumenta la detectabilidad. Para lograr esto se une a los antígenos o los anticuerpos partículas de látex con tamaño de entre 100 y 300 nm, de manera que los agregados que se formen presentarán mayor tamaño.

El BN II Nefelómetro (Figura 1)<sup>7</sup>, es un analizador automático, fabricado por Dade Berhing (Alemania) diseñado para hacer mediciones basadas en la nefelometría. El control del equipo se realiza en línea desde un ordenador externo y mediante un software específico. El analizador prepara las reacciones con la ayuda de brazos mecánicos con pipetas dosificadoras para la dispensación de los reactivos y las muestras. El BN II System utiliza una fuente de luz la cual transmite ondas electromagnéticas con una longitud de onda de 840 nm.

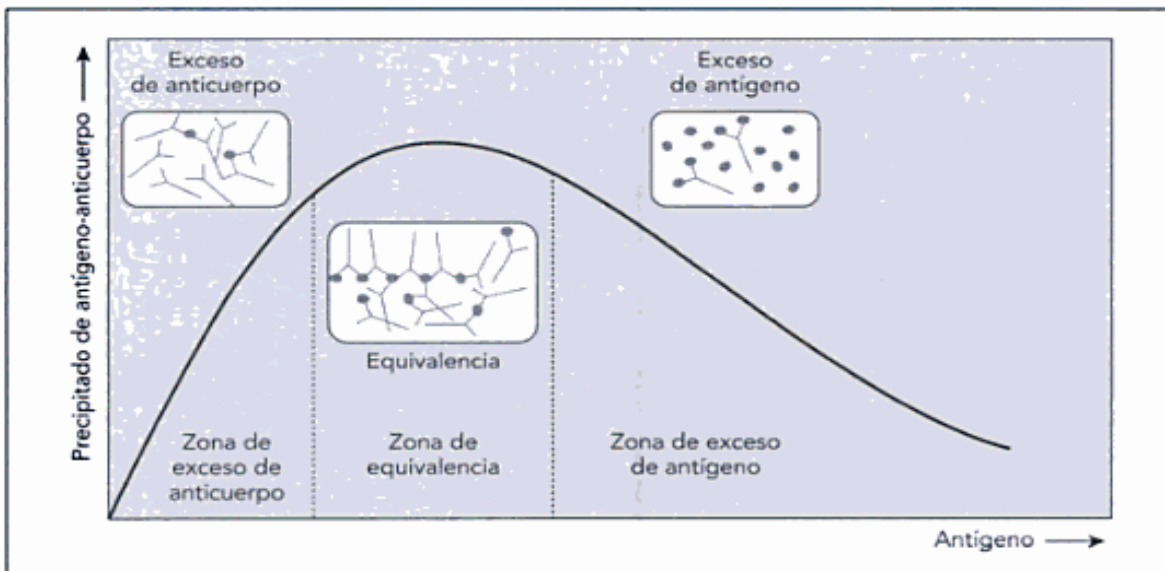


**Figura 1. BN II Nefelómetro Dade Behring®.** Fuente: <http://www.gmi-inc.com/Dade-Behring-BN-II-Nephelometer.htm>

## PRINCIPIOS BÁSICOS EN LA DETERMINACIÓN INMUNOQUÍMICA DE PROTEINAS

### Curva de Heidelberger – Kendall

La curva de Heidelberger - Kendall propuesta en 1929, consiste en mezclar una concentración constante de anticuerpo con concentraciones crecientes de antígeno la reacción antígeno-anticuerpo se desarrolla tal y como se muestra en la Figura 2.



**Figura. 2 Curva de inmuno-precipitación con concentraciones crecientes de antígeno y concentraciones fijas de anticuerpo<sup>8</sup>.** Fuente: *González JM. Técnicas y métodos de laboratorio clínico. México. Editorial Masson, 1993: 280.*

Cuando el anticuerpo se encuentra en exceso, todos los epítomos están ocupados, pero no ocurre así con los centros de unión de los anticuerpos. No se forma una unión cruzada entre todos los componentes lo que da lugar a agregados pequeños y solubles.

A medida que se va añadiendo más cantidad de antígeno a la solución, los epítomos se van combinando con las zonas de enlace libres de los anticuerpos, hasta que se ocupan los dos centros de unión de los anticuerpos. Se produce así la formación de un retículo. Los inmuno-complejos formados son grandes insolubles y precipitan. Es la zona denominada de equivalencia. Esta zona no significa equivalencia molar exacta de los reactantes, sino que representa la razón óptima entre las concentraciones de antígeno y anticuerpo para formar un inmuno-precipitado en una reacción específica y en condiciones determinadas.

Al aumentar la concentración de antígeno respecto a la de anticuerpos los agregados se hacen más solubles. Los dos centros de unión del anticuerpo están saturados pero no ocurre lo mismo con los epítomos. El inmuno-precipitado desaparece ya que los complejos formados son pequeños.

La dispersión de una radiación electromagnética que incide sobre una solución de inmuno-complejos es máxima en la zona de equivalencia, debido al mayor tamaño de las partículas y a la baja solubilidad. Una vez superada la zona de equivalencia la cantidad de radiación dispersada disminuye a pesar de que la concentración de antígeno es mayor.

Las uniones que mantienen el antígeno y el anticuerpo son enlaces débiles, tales como la atracción electrostática, los puentes de hidrogeno y las fuerzas de Van der Waals, por lo que los cambios en el pH, la fuerza iónica y la temperatura del medio de reacción pueden afectar la formación del inmuno-complejo.

### **NORMA ISO 15189:2003**

En el ámbito del laboratorio clínico, la Organización Internacional de Normas (International Standard Organization, ISO) publica en el 2003 la norma ISO 15189 "*Medical laboratories. Particular Requirements for Quality and Competence*". (Laboratorios Clínicos, Requisitos Particulares para la Calidad y la Competencia). Esta norma considera que el laboratorio clínico no sólo realiza ensayos, sino provee información médica basada en la interpretación analítica de resultados. La Norma ISO 15189, utiliza el lenguaje común usado en el ámbito químico y enfatiza la importancia de las fases pre-examen, examen y post-examen. También incluye aspectos sobre ética y sobre el manejo de los sistemas de información en el laboratorio clínico.

La norma ISO 15189 es una norma para el laboratorio de análisis clínicos que quiere especificar los requisitos generales para su competencia técnica. Es una norma que sirve para la acreditación y la deben aplicar los laboratorios clínicos que se encuentren en alguna etapa del proceso de acreditación ante la EMA (Entidad Mexicana de Acreditación).

En marzo del 2004, la Entidad mexicana de Acreditación (EMA), solicita al Instituto Mexicano de Normalización y Certificación (IMNC) la elaboración de la norma mexicana

sobre la base de la norma internacional ISO 15189:2003. Por tal motivo, en el marco del evento nominado “Seminario Sectorial de Análisis Clínicos”, realizado en las instalaciones del Centro Nacional de Metrología (CENAM) y en conjunto con la EMA se pone en marcha el Grupo de Trabajo de Laboratorios Clínicos (GTLC) de EMA, bajo la tutela del Subcomité de Evaluación de Laboratorios de Prueba de la rama Química del Comité de evaluación de Laboratorios de Ensayo. En septiembre del 2005, se somete a consulta pública el proyecto de la norma PROY-NMX-EC-IMNC-2006/ ISO 15189:2003 entrando en vigor el 22 de septiembre de 2006<sup>9</sup>.

Está constituida por dos partes fundamentales:

✓ **Requisitos de Gestión de calidad.**

Están redactados en el lenguaje habitual del laboratorio de análisis clínicos. Coinciden con los requisitos de Gestión de la calidad de la ISO 9001-2000.

✓ **Requisitos técnicos.**

Buscan asegurar la competencia técnica del laboratorio. El apartado 5 describe los requisitos generales para la competencia:

## PROCEDIMIENTOS VALIDADOS Y/O VERIFICADOS

El laboratorio debe utilizar únicamente procedimientos validados para confirmar que los procedimientos de examen son apropiados para el uso deseado. Las validaciones deben ser tan extensas como sea necesario para cumplir las necesidades en la aplicación dada o campo de aplicación. El laboratorio debe registrar los resultados obtenidos y el procedimiento utilizado para la validación. Los métodos y procedimientos seleccionados para su uso deben ser evaluados y fundamentados para obtener resultados satisfactorios antes de iniciar su uso para exámenes clínicos. Inicialmente debe ser emprendida una revisión de procedimientos por el director del laboratorio o la persona designada y en intervalos definidos. Tal revisión debe ser normalmente llevada a cabo anualmente. Estas revisiones deben ser documentadas<sup>10</sup>.

## VERIFICACIÓN Y SU IMPORTANCIA

La verificación es la aportación de evidencia objetiva de que un elemento satisface los requisitos especificados<sup>11</sup>.

La verificación de un método es el proceso de asegurar que los parámetros de performance del método, previamente establecidos, pueden ser alcanzados por el laboratorio. Los parámetros que típicamente se verifican, son la precisión y la veracidad

del método. En algunos casos puede ser necesario verificar también algún otro parámetro, por ejemplo, el límite de detección o la linealidad y la incertidumbre.

No obstante, el laboratorio debe verificar que puede aplicar correctamente los métodos ya validados por el fabricante, previo a su uso en los exámenes, bajo sus condiciones propias de operación (equipo, calibradores, analistas, etc.) generando evidencias objetivas, para confirmar su aplicación correcta.

El laboratorio debe realizar la verificación de los procedimientos de examen seleccionados antes de ponerlos en uso y evidenciar si éstos cumplen con las características de desempeño en las condiciones del laboratorio. La verificación también se debe realizar cada vez que se realice un cambio mayor en algún procedimiento de examen que ya hubiera sido verificado anteriormente.

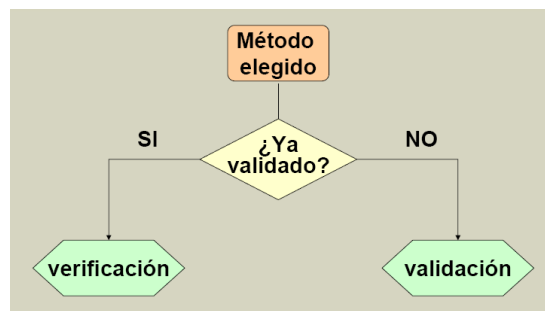


Figura 3. Validación o verificación de métodos

Esta verificación debe incluir los parámetros siguientes:

- Linealidad (intervalo analítico)
- Precisión
- Veracidad
- Incertidumbre

## PRECISIÓN

La primera etapa en la evaluación de un método es precisamente determinar si éste da una respuesta consistente para la misma muestra en análisis repetidos.

La precisión puede definirse en una palabra como reproducibilidad de los valores de una serie de mediciones obtenidas en condiciones estipuladas. Se cuantifica indirectamente, como imprecisión, que determina el error aleatorio o la dispersión de valores. La precisión siempre debe evaluarse, dentro de una misma corrida y en diferentes corridas.

Los organismos internacionales de normalización recomiendan<sup>12</sup> que para la evaluación de las características metrológicas de los sistemas de medida se usen otros conceptos metrológicos diferentes a la imprecisión como son el de repetibilidad y reproducibilidad.

La repetibilidad es la concordancia entre los resultados de mediciones sucesivas del mismo mensurando efectuadas en las mismas condiciones de medida denominadas condiciones de repetibilidad<sup>12</sup>.

Condiciones de repetibilidad son aquellas que se producen cuando en las distintas mediciones se utiliza el mismo procedimiento de medida, el mismo observador, el mismo Instrumento de medida utilizado en las mismas condiciones, el mismo lugar y una repetición de las mediciones a lo largo de un corto período de tiempo, es decir las condiciones de repetibilidad vienen a ser aquellas que se producen dentro de una serie de mediciones.

La reproducibilidad es la concordancia entre los resultados de las mediciones del mismo mensurando realizadas haciendo variar las condiciones de medida<sup>12</sup>. Las condiciones que se pueden variar son: el principio o método de medida, el observador, el instrumento de medida, el lugar, las condiciones de uso y el tiempo. El concepto definido por este término viene a ser el equivalente al de precisión entre laboratorios. La reproducibilidad se expresa cuantitativamente mediante la desviación típica metrológica o el coeficiente de variación metrológico denominados en este caso desviación típica de reproducibilidad o coeficiente de variación de reproducibilidad.

La precisión en condiciones intermedias es aquella que se refiere a la calculada cuando se producen cambios en alguno de las condiciones de medida del procedimiento<sup>13</sup>. En general existen cuatro factores dentro de las condiciones de medida de un laboratorio que se consideran que son la principal contribución a la variabilidad de las mediciones. Estos cuatro factores son: tiempo, calibración, operador e instrumento . La imprecisión en condiciones intermedias hace referencia a aquella imprecisión en la que se han cambiado uno o más de los factores mencionados<sup>13</sup>.

### **Precisión (CV, SD)**

- Estudios de precisión
- EP 5-A2 (Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; approved Guideline—Second Edition).
- Protocolos alternativos
- Datos del Control de Calidad Interno
- Datos de comparación del Grupo par o Interlaboratorio

### **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<sup>14</sup>.

### Veracidad (Bias)

- Protocolos de comparación de métodos
- EP 9-A2 (*Method comparison and bias estimation using patient samples*)
- Protocolo alternativo
  - Esquemas de Evaluación Externa de la Calidad
  - Programas Interlaboratorio o del Grupo Par.

## LINEALIDAD

La capacidad dentro de un intervalo dado para proporcionar resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito en las muestras de examen<sub>6</sub>.

El término linealidad aplicado a un método analítico, se refiere al tramo de concentraciones del analito en el que la respuesta del sistema de medición es una función lineal de la concentración; la representación gráfica de este tramo (concentraciones frente a respuestas) debe exhibir una buena correlación de los puntos experimentales a la recta de regresión para que el método analítico en cuestión sea aceptable<sup>15</sup>.

## INCERTIDUMBRE

Los organismos internacionales de normalización recomiendan que todo resultado de una medición debe ir acompañado de alguna indicación cuantitativa que informe de la calidad metrológica con que se ha obtenido y que permita evaluar la fiabilidad de este resultado ya que de hecho sin esta información los resultados de las mediciones no estarán completos. Esta información cuantitativa sobre un resultado de una medición es la incertidumbre de medida de dicho resultado<sup>13</sup>.

El término incertidumbre utilizado en el lenguaje común significa falta de conocimiento seguro y claro de algo<sup>16</sup>, mientras que en el campo de la metrología incertidumbre de medida significa duda acerca de la validez del resultado de una medición así como duda sobre la exactitud del resultado.

La incertidumbre, según la definición del *Vocabulario Internacional de términos básicos y generales en metrología*, es un parámetro asociado al resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que razonablemente pueden atribuirse a una magnitud particular. Esta dispersión no tiene por qué ser una distribución observada de valores. El parámetro estadístico que caracteriza esta dispersión puede ser la desviación típica, un múltiplo de ella o la amplitud de un intervalo de confianza<sup>13</sup>.

La *Guía para la expresión de la incertidumbre en las mediciones* establece que el procedimiento para evaluar la incertidumbre de los resultados de medida consiste fundamentalmente en cuatro puntos:

- **Especificación de la magnitud.**

Se debe definir y escribir claramente cuál es la magnitud objeto de medición. En el campo de las ciencias de laboratorio clínico la magnitud objeto de medición suele ser generalmente la concentración de un componente en una muestra biológica.

13

- **Identificación de los componentes de incertidumbre.**

Se debe identificar en cada componente aquellas magnitudes y parámetros de los que depende y sus incertidumbres asociadas o bien en los casos en que esto no sea posible cada una de las partes en que se ha dividido el procedimiento de medida y su incertidumbre asociada.

En general para los procedimientos de medida usados en el laboratorio clínico la incertidumbre de un resultado, una vez identificada adecuadamente la magnitud medida, tiene los siguientes componentes:

- El generado durante la fase premetrológica.
- El generado durante la fase metrológica por la variabilidad interdiaria.
- El generado en la valoración de los calibradores.
- El generado por las magnitudes influyentes.

- **Cuantificación de los componentes de incertidumbre.**

Medir o estimar el valor de la incertidumbre asociada a cada uno de los componentes de incertidumbre identificados.

- **Cálculo de la incertidumbre total.**

A partir de los valores de los diversos componentes individuales de incertidumbre estimados se calcula la incertidumbre típica combinada de acuerdo con reglas apropiadas y mediante la aplicación de un factor de cobertura determinado se obtiene la incertidumbre combinada expandida.

Para ello se pueden considerar dos tipos de evaluación:

## **Evaluación Tipo A**

Es aquella que evalúa la incertidumbre por métodos estadísticos de una magnitud que varía de manera aleatoria,  $x_i$ , (concentración), a partir de una serie de  $n$

observaciones experimentales. En este caso la mejor estimación de la incertidumbre estándar de dicha magnitud, se obtiene por medio de la desviación experimental de la media de  $n$  observaciones.

$$s_x = \frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{\sqrt{\frac{(x_i - \bar{x})^2}{n-1}}}{\sqrt{n}}$$

## Evaluación Tipo B

Es aquella que evalúa la incertidumbre por medios diferentes al análisis estadístico de una serie de observaciones. En este caso la evaluación de la incertidumbre estándar se basa en datos o información proporcionados por el proveedor o fabricante, como certificados de materiales de referencia, certificados de calibración de instrumentos, catálogos o manuales y especificaciones técnicas, entre otros.

Para el caso de incertidumbres asignadas a referencias, como por ejemplo la que corresponde al valor reportado de concentración de un material de referencia certificado, ésta se encuentra indicada en el certificado como incertidumbre expandida, es decir, como el producto de la incertidumbre estándar y un factor de cobertura  $k$  correspondiente a un nivel de confianza específico, que permiten suponer una distribución de probabilidad normal para la magnitud concentración.

En otros casos por ejemplo, se dispone de información proporcionada por el fabricante (como especificaciones de material de vidrio) que consiste en los valores de los límites superior e inferior entre los cuales puede variar el volumen nominal del material.

En este caso el analista debe asociar a la variable aleatoria (volumen) con una distribución *a priori*, distribución triangular o rectangular de probabilidad generalmente.

De acuerdo al párrafo anterior, para la evaluación de la incertidumbre estándar deberá suponerse que la variable aleatoria esta descrita por una distribución específica, que para el caso de una distribución rectangular la expresión que evalúa la incertidumbre estándar es:

$$u(x_i) = \frac{a_i}{\sqrt{3}}$$

y para una distribución triangular es:

$$u(x_i) = \frac{a_i}{\sqrt{6}}$$

Donde  $a_i$ , es el valor del semi-intervalo de variación de la desviación estándar.

## Ley de propagación de Incertidumbres

La incertidumbre total del resultado de una medición  $y$ , denotada por  $u_c(y)$ , se llama incertidumbre estándar combinada, y es igual a la raíz cuadrada positiva de la varianza total obtenida al combinar todas las componentes de incertidumbre empleando la ley de propagación de incertidumbre.

$$u_c[y(x_1, x_2, x_3, \dots)] = \sqrt{\sum_i [c_i \cdot u(x_i)]^2} = \sqrt{\sum_i \left[ \frac{\partial Y}{\partial X_i} \cdot u(x_i) \right]^2}$$

$$c_i \cdot u(x_i) = \frac{\partial Y}{\partial X_i} \cdot u(x_i)$$

En donde el producto  $c_i u(x_i)$ , representa la contribución de cada uno de los componentes a la incertidumbre total y  $c_i$  denota la derivada parcial del mensurando respecto de cada componente, mejor conocido como coeficiente de sensibilidad. En algunos casos, la expresión para combinar incertidumbres se reduce a dos reglas simples:

**Regla 1.** Para modelos que involucran solo sumas o restas,  $y=(x_1+x_2+x_3+\dots)$  o  $y=(x_1-x_2-x_3-\dots)$ , la incertidumbre estándar combinada  $u_c(y)$  está dada por la expresión:

$$u_c[y(x_1, x_2, x_3, \dots)] = \sqrt{u^2(x_1) + u^2(x_2) + u^2(x_3) + \dots}$$

**Regla 2.** Para modelos que involucran un producto o cociente,  $y=(x_1 \times x_2 \times x_3 \times \dots)$  o  $y=x_3/(x_1 \times x_2 \times \dots)$ , la incertidumbre estándar combinada  $u_c(y)$  está dada por:

$$u_c[y(x_1, x_2, x_3, \dots)] = y \cdot \sqrt{\left[\frac{u(x_1)}{x_1}\right]^2 + \left[\frac{u(x_2)}{x_2}\right]^2 + \left[\frac{u(x_3)}{x_3}\right]^2 + \dots}$$

Para la mayoría de los propósitos en mediciones químicas, se emplea la incertidumbre expandida, ( $U$ ), la cual proporciona un intervalo dentro del cual se espera se sitúe el valor verdadero de un mensurando con un nivel de confianza específico.  $U$  se obtiene multiplicando  $u_c(y)$  por un factor o multiplicador llamado factor de cobertura ( $k$ ). El valor de este factor se elige de acuerdo al nivel de confianza deseado. Normalmente se elige  $k=2$  para un nivel de confianza de aproximadamente el 95 %. La forma de expresar la incertidumbre expandida será entonces  $U = k u_c(y)$ .

### **Incertidumbre expandida**

$$U = u_c * k$$

La incertidumbre expandida se estima multiplicando la incertidumbre típica combinada por un *factor de cobertura*,  $k$ , escogido según el nivel de confianza ( $1-\alpha$ ) deseado. Si  $1-\alpha = 0,95$ , entonces  $k = 2$ ; si  $1-\alpha = 0,99$ , entonces  $k = 2,6$ . La incertidumbre expandida es la que se tiene que hacer constar junto con el resultado de la medida  $x_i$ .

### **REQUISITOS DE CALIDAD**

El laboratorio debe establecer requisitos y especificaciones de calidad. Al hacerlo, podrá adecuar su imprecisión y sesgo para cada magnitud con el fin de asegurar la relevancia clínica de sus resultados. En general, mantener el sesgo dentro de unos márgenes permitirá distinguir entre un resultado patológico y uno normal, mientras que conseguir la precisión requerida permitirá decidir si la variación de un resultado es clínicamente significativa o si se debe a la propia variabilidad de la técnica. La reciente norma publicada para la acreditación de laboratorios clínicos UNE-EN ISO 15189:2003 establece que las especificaciones técnicas para cada procedimiento analítico deben corresponder a la utilización prevista de tal procedimiento. Del contenido se deduce que disponer de especificaciones de calidad, bien definidas, permite asegurar que los procedimientos analíticos estén diseñados para producir resultados de utilidad clínica, así como para demostrar que las necesidades de los usuarios del laboratorio se cumplen<sup>9</sup>.

Los requisitos de calidad son especificaciones acerca de la tasa de error que puede ser permitida en un método analítico sin invalidar la utilidad clínica del resultado. Definen la calidad necesaria para el producto básico del laboratorio: "Resultados de Pacientes"

El establecimiento de los requisitos de calidad requiere de juicio no solo estadístico sino clínico y de experiencia. Si las mediciones se hacen para el seguimiento de una enfermedad, una variación de la imprecisión o del error sistemático puede hacer que se tomen decisiones equivocadas en el diagnóstico del paciente.

Estos hechos indican la necesidad de saber cuáles han de ser los valores máximos tolerables para la imprecisión y el error sistemático y establecerlos como requisitos metrologógicos.

## CRITERIOS DE CALIDAD ANALÍTICA

La literatura es muy abundante en criterios de calidad analítica. En abril de 1999 tuvo lugar en Estocolmo una reunión internacional para lograr un consenso en cuanto a la jerarquía de cada una de las propuestas válidas para establecer criterios de calidad analítica<sup>17</sup>.

Jerarquía	Criterio de calidad
1	Evaluación de los efectos del desempeño analítico en las consecuencias clínicas en estados clínicos específicos
2	Evaluación de los efectos de los errores analíticos en las decisiones clínicas en general a) Datos basados en los componentes de la variabilidad biológica b) Datos basados en el análisis de la opinión de los médicos clínicos
3	Recomendaciones profesionales publicadas a) Por cuerpos de expertos nacionales e internacionales b) Por grupos de expertos locales o individuos
4	Conjunto de objetivos de calidad establecidos a) Organismos reguladores b) Organizadores de programas de evaluación externa de calidad
5	Objetivos de calidad basados en el desarrollo tecnológico actual a) Demostrados por datos de la evaluación externa b) Encontrados en publicaciones de metodología

**Tabla 1. Conclusiones del Consenso sobre Criterios de Calidad (Estocolmo 1999).** Fuente: Fernández Espina C. *Gestión de la calidad en el laboratorio clínico. España. Editorial Medica Panamericana. 2005: 377-378.*

De esta lista, el primer criterio que obviamente sería el mejor, en la práctica es de difícil aplicación puesto que se deberían establecer los criterios de calidad para cada situación crítica en particular. En orden jerárquico le siguen la variabilidad biológica. Estos como se detallan más adelante, tienen un cierto grado de arbitrariedad, pero a su vez tienen sentido porque las medidas de los análisis de importancia clínica tienen *per se* un grado de variación inherente a la homeostasis de cada uno de ellos y la variación analítica no debe sobrepasar a la variación fisiológica.

## VARIABILIDAD BIOLÓGICA

Es un estándar Europeo, calificado como el segundo estudio a nivel mundial por su rigurosidad. Está soportado en un estudio poblacional; individuos sanos, durante 3 años toma de muestras cada 15 días. Demostró que en una población existe una fluctuación que es biológica y por tanto puede haber variación en un paciente así el error fuera 0. Representan variaciones en la concentración de los analitos intra e inter individuo.

Se expresan en CV. Aplican para calcular la probabilidad de que un cambio clínico ocurra en un paciente basado en la diferencia de una serie de resultados. No aplican a drogas, algunos marcadores tumorales y determinaciones cualitativas.

Algunos TEa basados en variabilidad biológica son muy grandes y otros muy pequeños. El uso de BV asume que estos CV obtenidos son constantes en todo tipo de poblaciones

La imprecisión debe ser estimada entonces teniendo en cuenta la variación individual del sujeto. Lo deseable es que el laboratorio fluctúe máximo 50%.

NIVEL	REQUISITO
ÓPTIMA	CVa < 0.25 CVI
DESEABLE	CVa < 0.50 CVI
MÍNIMO	CVa < 0.75 CVI

**Tabla 2. Especificaciones de imprecisión.** Fuente Fernández Espina C. *Gestión de la calidad en el laboratorio clínico. España. Editorial Médica Panamericana. 2005: 377-378.*

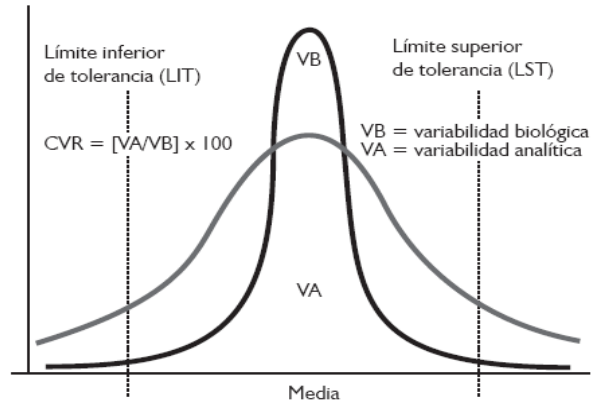
**CVa:** coeficiente de variación analítico

**CVI:** coeficiente de variabilidad biológica intraindividual

Cabe preguntarse porque existen 3 niveles de especificaciones y no uno solo. En un principio, cuando se propuso la Variabilidad biológica como criterio para el establecimiento de estos requisitos (en Aspen Colorado 1976) se estableció un único nivel que era precisamente el intermedio, es decir se recomendaba que el coeficiente de variación analítico fuera la mitad de la variabilidad biológica intraindividual. Con este criterio si bien se obtenían coeficientes de variación razonables en algunos analitos (particularmente aquellos homeostáticamente muy regulados) se obtenían CVa tan bajos que no se lograban ni con los instrumentos más complejos. Este es el caso del sodio que con un CVi = 0.7%, la especificación de calidad resulta ser CVa = 0.35%, el calcio es otro ejemplo. El nivel deseable es el más utilizado en términos generales, pero el responsable de la calidad analítica debe evaluar con qué nivel se puede cumplir, para luego adaptarlo como meta de imprecisión analítica<sup>17</sup>.

Existen algunos analitos para los cuales resulta muy difícil alcanzar los requerimientos **deseables**; por ende se deberían aplicar los requerimientos **mínimos**.

Existen analitos que alcanzan los requerimientos de calidad deseables fácilmente; para estos ensayos se podrían aplicar las especificaciones **óptimas**<sup>17</sup>.



**Figura 4. Integración de la variabilidad biológica con la variabilidad analítica para el establecimiento de metas analíticas**<sup>18</sup>. Fuente: *Rev. Mex Patol Clin*, Vol. 57, Núm. 4, pp 179-189 • Octubre - Diciembre, 2010

## REQUERIMIENTOS REGULATORIOS: CLIA (*Clinical Laboratory Improvement Amendments*)

Es un estándar estadounidense, tercer estudio en rigurosidad. Soporta su calidad analítica solo en pruebas de evaluación externa. Las tablas de CLIA traen los valores permitidos para el error total en general <30%. Existen valores para, aproximadamente, 75 analitos (CLIA). Originalmente fueron asignados en forma teórica.

Cuando están disponibles CLIA 88 u otros valores obtenidos a partir de PT u EQAs, Representan los límites superiores para el TEa.

## ERROR ALCANZABLE

### ✓ EQAs o PT (resultados por grupo)

Pueden ser afectados por el efecto matriz de los materiales.

Son muy accesibles. Se basan en lo que puede ser hecho y no en requerimientos médicos o variabilidad biológica.

### ✓ SD DEL PROCESO EN % (CV)

Los valores seleccionados deben representar el desempeño verdadero del proceso a largo plazo. Se calculan a partir del SD o CV del proceso. Representan el límite inferior para el TEa.



✓ **ESPECIFICACIONES DEL FABRICANTE**

Utiliza las especificaciones del fabricante de veracidad y precisión. Se utiliza cuando no se pueden obtener valores en ninguna de las variantes anteriores.

## **EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO**

El desempeño de un método es considerado aceptable cuando la magnitud de los errores obtenidos en el estudio de verificación es menor a los errores máximos tolerables según los requerimientos de calidad establecidos.

**ERROR ALEATORIO (SD O CV) + ERROR SISTEMÁTICO (BIAS) = ERROR TOTAL**

**ET ERROR TOTAL < TEa = ACEPTABLE**

**ET ERROR TOTAL > TEa = RECHAZADO**

TE: ERROR TOTAL

TEa: ERROR MÁXIMO TOLERABLE

## **ERRORES ALEATORIOS Y SISTEMÁTICOS**

En todas las mediciones realizadas en los laboratorios clínicos, los datos y resultados numéricos están sujetos a errores. Los errores pueden clasificarse como: sistemáticos o determinados y aleatorios u ocasionales.

### **A) ERRORES SISTEMÁTICOS**

Los errores sistemáticos son los que se presentan de manera continua y definida, y con una magnitud fija de una determinación a otra. Son de tal naturaleza que sus magnitudes pueden determinarse y sus efectos eliminarse o por lo menos reducirse en su mayor parte. Estos errores incluyen los instrumentales, los personales y los errores de método y pueden corregirse por medio de calibraciones u otros métodos experimentales. Los errores sistemáticos afectan la exactitud.

Un error sistemático se manifiesta como un cambio en la media de los valores de control. El cambio en la media puede ser gradual y mostrarse como una tendencia o puede ser abrupto y mostrarse como un desplazamiento.

## **B) ERRORES ALEATORIOS**

Los errores aleatorios son los que se encuentran más o menos fuera del control del analista. Pueden ser ocasionados por factores como: las fluctuaciones en temperatura y energía eléctrica, material mal lavado etc.

### **ERROR TOTAL (TE)**

El error total es la combinación de errores analíticos (aleatorio y sistemático) que estima la magnitud de error que puede ser esperado de una medición simple.

- Los errores aleatorios y sistemáticos no siempre ocurren independientemente.
- Debemos calcular el TE para reflejar la variación total respecto al valor verdadero.
- Representa el efecto combinado de los errores sistemáticos y aleatorios.
- Puede calcularse en % o en unidades de concentración.
- El TE por sí solo no indica si los resultados cumplen con los requerimientos de calidad. Para lograr esa información se debe definir previamente los requerimientos de calidad. (TEa).

### **ETM (Error Total Máximo Permitido)**

Conocer el ETM permite asegurar con gran margen de seguridad que las muestras de los pacientes tendrán un error total (inexactitud) menor o igual al ETM<sup>19</sup>.

Si el laboratorio tiene establecidos niveles de calidad analítica y el procedimiento empleado los cumple, se puede asegurar que el resultado desde el punto de vista clínico, tiene un error que no compromete su interpretación. Por lo que el diseño de la calidad del laboratorio clínico empieza por la calidad analítica porque esta es una característica esencial de la calidad de cualquier examen. Su punto de partida es la definición de los límites de tolerancia de los diferentes analitos sobre los cuales reposa la seguridad del paciente.



**Figura 5. Algoritmo de Rhoads<sup>19</sup>.** Fuente: Migliarino Gabriel. *Requisitos de Calidad*. Curso: *Acreditación del laboratorio Clínico*. Instituto Nacional de Cancerología. Septiembre 24 de 2010.

### ¿QUÉ CRITERIO DEBO ELEGIR?

- A. Considerar el uso previsto del ensayo.
- B. Considerar la jerarquía de los requerimientos de calidad.
- C. Calcular el Mínimo TEa y el Máximo TEa.
- D. Mínimo:  $3 * SD$  o  $CV$  del proceso
- E. Máximo: CLIA 88 (Como máximo se emplea un TEa regulatorio) o uno de máxima jerarquía.
- F. Seleccionar el TEa a partir de la fuente de mayor jerarquía disponible.
- G. Si el TEa seleccionado se encuentra entre el máximo y el mínimo utilizarlo.
- H. Si es menor que el mínimo, emplear el mínimo.
- I. Si es mayor que el máximo, emplear el máximo.
- J. Aplicar algoritmo

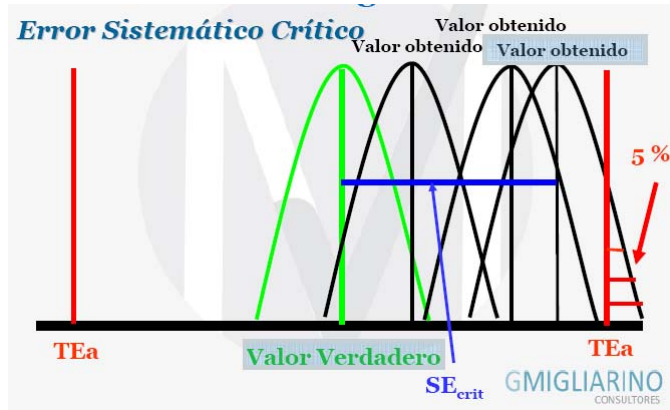
### ERROR SISTEMÁTICO CRÍTICO ( $\Delta Sec$ )

El error sistemático crítico representa el número de desviaciones estándar que la media puede desviarse antes de que el 5% de los resultados excedan el límite para el error total permitido (TEa). Esta definición asume que un proceso analítico deberá detenerse si un 5% de los resultados son defectuosos. Es el mejor marcador del desempeño del método con respecto a los requerimientos de calidad<sup>20</sup>.

$$\Delta Sec = \text{Sigma} - 1.65$$

**1.65:** Z-score que corresponde a un intervalo de confianza del 95%. La media  $\pm 1.65$  SD contiene el 90% de los puntos. Restando el 1.65 solo el 5% de los puntos caería fuera del límite superior o inferior del TEa.

Evaluación estadística del método Inmuno-nefelométrico para la determinación de Proteína C Reactiva ultrasensible (PCR hs) en el diagnóstico de procesos infecciosos e inflamatorios con base a la NMX 15189



**Figura 6. Error sistemático crítico**<sup>21</sup> Fuente: Migliarino Gabriel. "Planificación de Control de Calidad en el Laboratorio Clínico"  
[http://www.galenica.cl/QC/2009/Planificacion\\_de\\_control\\_de\\_calidad.pdf](http://www.galenica.cl/QC/2009/Planificacion_de_control_de_calidad.pdf). Consultado 23 de octubre 2010.

## PLANIFICACIÓN DEL CONTROL DE CALIDAD SEIS SIGMA

La historia Seis-Sigma se inicia a mediados de los 80 en Motorola, cuando el ingeniero Mikel Harry comienza a estudiar la reducción en la variación de los procesos para mejorarlos. Esta herramienta pretendía alcanzar unos niveles de calidad en los procesos y en los productos de la organización próximos a cero defectos.

El modelo Seis Sigma implica haber definido previamente una especificación de la calidad para el proceso que se investiga. James Westgard, teniendo en cuenta el error total, la inexactitud y la imprecisión ha adaptado los errores por millón al laboratorio clínico, obteniendo, de este modo, una medida de la Calidad Total del proceso analítico<sup>22</sup>.

Sigma es una letra griega que representa una unidad estadística de medida para definir la desviación estándar de una población. Mide la variabilidad o la dispersión de los datos<sup>23</sup>.

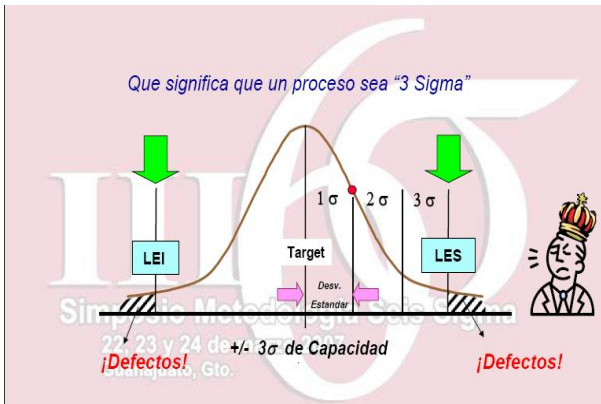


Figura 7. Proceso 3 Sigma<sup>23</sup>.

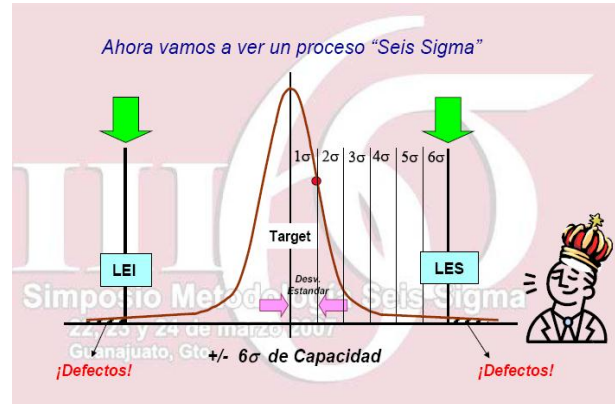


Figura 8. Proceso 6 Sigma<sup>23</sup>.

**Fuente** Nava Muñoz Sergio. Simposio Aplicación de Seis Sigma en Servicios (Taller en línea). Guanajuato.CIMAT.2007<[http://www.cimat.mx/Sitios/seissigma/archivos/Ponencia\\_Sergio\\_Nava\\_y\\_Carlos.pdf](http://www.cimat.mx/Sitios/seissigma/archivos/Ponencia_Sergio_Nava_y_Carlos.pdf)> consulta 23 diciembre 2010.

“Está dirigida al mejoramiento de procesos” El nombre de *Six Sigma* deriva de un “gold standard” de calidad que apunta a lograr que entre los límites de tolerancia de un Proceso dado se puedan alojar seis unidades de desvío estándar.

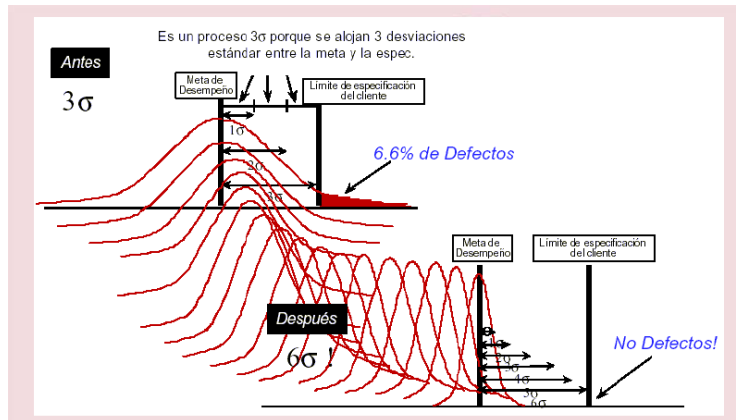


Figura 9. Variabilidad mínima y Proceso centrado<sup>23</sup>. **Fuente** Nava Muñoz Sergio. Simposio Aplicación de Seis Sigma en Servicios (Taller en línea). Guanajuato.CIMAT.2007 <[http://www.cimat.mx/Sitios/seissigma/archivos/Ponencia\\_Sergio\\_Nava\\_y\\_Carlos.pdf](http://www.cimat.mx/Sitios/seissigma/archivos/Ponencia_Sergio_Nava_y_Carlos.pdf)> consulta 23 diciembre 2010.

La meta de desempeño de cualquier proceso de producción es ser Seis Sigma. Esto implica que 6 sigmas o desvíos estándar de la variación propia del proceso deben entrar entre los límites de tolerancia o requerimientos de calidad.

$$\text{Seis Sigma} = (\text{TEa}\% - \text{Bias}\%)/\text{CV}$$

## INTERPRETACIÓN DEL DESEMPEÑO SEIS SIGMA

- Por debajo de 2  $\sigma$ : Por debajo de 2  $\sigma$ : Inaceptable
- Entre 2  $\sigma$  y 3  $\sigma$ : Marginal, necesita de un estricto esquema de control de calidad total.
- Entre 3  $\sigma$  y 4  $\sigma$ : Pobre, necesita de un estricto esquema de control de calidad estadístico.
- Entre 4  $\sigma$  y 5  $\sigma$ : Bueno
- Entre 5  $\sigma$  y 6  $\sigma$ : Muy Bueno
- Por encima de 6  $\sigma$ : *Gold Estandard*

## **PROTOCOLO EP -15 A2 *User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline***

El EP 15 es un protocolo de muy bajo costo para los laboratorios, se ajusta a los nuevos requerimientos ISO y además es el primer protocolo de la CLSI que considera el concepto de incertidumbre. Mediante la utilización del mismo se simplifica y economiza en gran medida la incorporación de un nuevo método en el laboratorio<sup>24</sup>.

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a la diversidad de pruebas de laboratorio y el desarrollo tecnológico en los equipos automatizados, el laboratorio de Inmunología y Alergia en el Instituto Nacional de Pediatría, se enfrenta a la necesidad de una mejora continua en la que asegure que sus métodos analíticos cumplan con las especificaciones de calidad, esto afecta ante todo a los pacientes. Se calcula que en los países desarrollados más del 80% de las decisiones médicas se toman sobre la base de un resultado de laboratorio, por lo que asegurar la calidad de las determinaciones analíticas efectuadas en el laboratorio asegura la liberación de resultados útiles para el diagnóstico de los pacientes.

Entre las pruebas que se realizan en este laboratorio se encuentra la Proteína C Reactiva de alta sensibilidad (hs PCR), la cual posee un gran valor informativo en el diagnóstico terapéutico y control del desarrollo de procesos infecciosos e inflamatorios en niños. Es necesario que los ensayos de los laboratorios cumplan determinadas especificaciones que garanticen la calidad de sus servicios. La confiabilidad del resultado está fundamentado en dos pilares base: la Gestión de la calidad por un lado y por el otro el Aseguramiento de la Calidad.

La norma ISO 15189 “Requisitos Particulares para la Calidad y la Competencia de los Laboratorios Clínicos” fue desarrollada con la meta de establecer requisitos para acreditar el sistema de Gestión de Calidad y la Competencia Técnica de los laboratorios clínicos en todo el mundo. Desde el punto de vista técnico, lo más sobresaliente de esta norma es evaluar la competencia técnica, mediante la verificación del método analítico, aplicando criterios uniformes y consistentes.

Por esta razón, el presente proyecto tiene como propósito realizar y documentar el proceso de verificación del método Inmuno-nefelométrico en la determinación de PCR hs. Por lo que la evaluación estadística del método Inmuno-nefelométrico será el punto de partida para lograr resultados de alta calidad, que aseguren la confiabilidad en los resultados.

### 3. OBJETIVOS

#### Objetivo General

- Establecer y desarrollar el proceso de evaluación estadística del método Inmuno-Nefelométrico en la determinación de PCR (Proteína C reactiva), que permita asegurar la utilidad clínica de los resultados desde la perspectiva de la Norma 15189, para la evaluación de la competencia técnica de los laboratorios clínicos en materia de validación.

#### Objetivos Particulares

- Conocer las características del desempeño y sus limitaciones del método inmuno-nefelométrico en la determinación de Proteína C reactiva.
- Definir los requisitos de calidad para la determinación de Proteína C reactiva.
- Comparar el TE (error total) con el TEa (error máximo tolerable) establecido previamente como requerimiento de calidad.
- Conocer dentro de las condiciones del laboratorio, que niveles de precisión y exactitud pueden alcanzarse.
- Juzgar la aceptabilidad del método considerando su desempeño.

### 4. HIPÓTESIS

Las mediciones analíticas deben realizarse utilizando métodos y equipos que han sido validados y/o verificados para asegurar que son adecuados para el propósito utilizado, así el cumplimiento establecido en la NMX 15189 en el punto 5.5.2 validación de métodos, permite la conformidad en la aplicación del método Inmuno-nefelométrico para la determinación de PCR hs obteniendo resultados de diagnósticos más confiables.

### 5. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Se realiza un estudio de tipo retrospectivo y descriptivo en el Instituto Nacional de Pediatría en el laboratorio de Inmunología y Alergia, el estudio está basado en los lineamientos del EP15- A2 *User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline*, utilizando controles Bio Rad Nivel 1, 2 y 3, y datos de los ensayos de aptitud en los que participa el laboratorio (Programa inter-laboratorio Bio Rad y EQAS).



## 6. CRITERIOS

- **Criterios de Inclusión.**

Datos de control de calidad interno de PCR de los controles Bio Rad de los lotes 52381(nivel 1), 52382(nivel 2) y 52383 (nivel 3). Los datos de control de calidad externo (EQAS) de la proteína C reactiva, del ciclo 36 del año 2010.

- **Criterios de Exclusión**

Datos de control de calidad que se encuentre fuera de los parámetros establecidos.

- **Criterios de Eliminación**

Datos aberrantes del control de calidad interno

## 7. VARIABLES

- **Variables dependientes**

Controles Bio Rad Nivel 1, 2 y 3.

- **Variables independientes**

Instrumento BN II Nefelómetro Dade Berhing®.

## 8. METODOLOGÍA

### Equipo

- Instrumento BN II Nefelómetro Dade Berhing®.

### Material

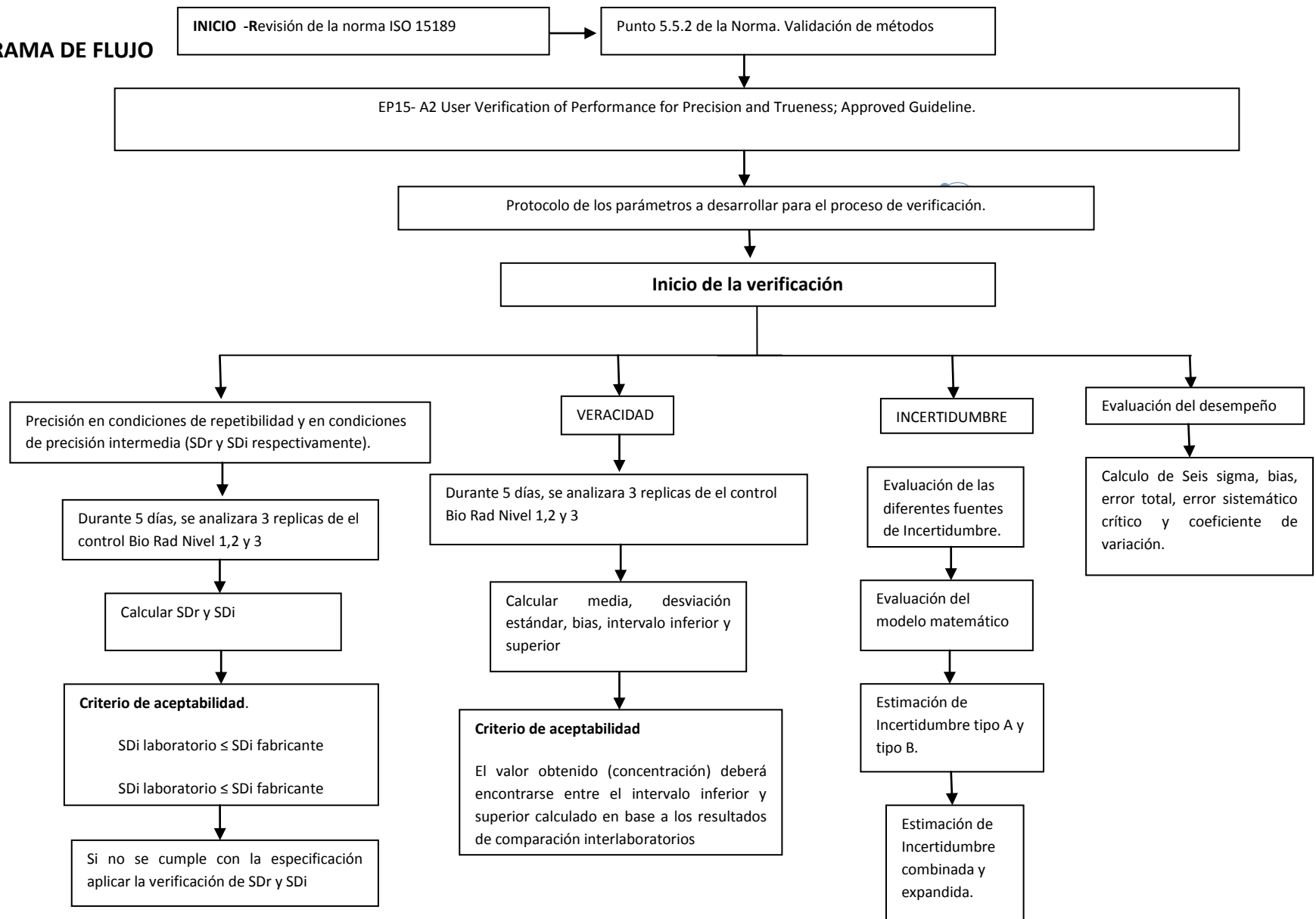
- Tubos de ensaye de 5ml
- Pipetas semi-automáticas Finnpiptette®
- Gradillas
- Pipetas Pasteur
- Agua destilada

### Reactivos

- Reactivo Cardio Phase hsPCR.
- Calibrador reumatológico
- BIO RAD. Liquichek Immunology Control, Nivel 1, 2 y 3. Lotes 52381, 52382 y 52383 respectivamente.
- Control EQAS



### 9. DIAGRAMA DE FLUJO



## 10. PROCEDIMIENTO

### 1. Seleccionar las muestras para evaluar la precisión en condiciones de repetibilidad y en condiciones de precisión intermedia.

Se utilizan materiales con un valor conocido (controles internos o externos, calibradores que poseen una incertidumbre asociada) en una concentración cercana al punto de decisión médica para el analito en cuestión. Para algunos analitos se aconseja utilizar concentraciones límites del intervalo de referencia (mínima y máxima), pero usualmente se utilizan aquellos materiales con concentración cercana a la utilizada por el fabricante en la validación de la precisión del método.

31

### 2. Obtener los datos críticos del inserto

- Especificación del fabricante para precisión en condiciones de repetibilidad (precisión intra-ensayo).
- Especificación del fabricante para precisión en condiciones de precisión intermedia (precisión intracorrida).

Estos datos corresponden a la validación realizada por el fabricante. Los datos son volcados por el fabricante en el inserto del reactivo. Los datos del fabricante son estimados para una concentración distinta (estimación del valor verdadero) a la que yo empleo.

### 3. Adaptar la especificación a la concentración que se va a emplear durante el ensayo

1. Tener el CVr en el inserto
2. Estimar la especificación para la concentración establecida
3. De la Fórmula de CV se despeja SD  $SDr = (CVr * Media) / 100$
4. Estimar la especificación para mi concentración
5. “Como Media emplear el valor verdadero estimado para el material que yo uso”
6. Adaptar las concentraciones en condiciones de repetibilidad y en condiciones de precisión intermedia.

## Procedimiento

1. Analizar una corrida por día con tres replicas de cada muestra de 2 o 3 concentraciones durante 5 días.
2. Si una corrida es rechazada por dificultades en la operación o en el control de calidad, descartar el dato y adicionar una corrida más al ensayo.
3. Analizar los datos estadísticamente.

### Procedimiento para la determinación de la repetibilidad (Precisión dentro de la corrida).

Calcular la repetibilidad con la siguiente fórmula

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum_{d=1}^D \sum_{i=1}^n (x_{di} - \bar{x}_d)^2}{D(n-1)}}$$

Donde:

$S_r$  = Desvío estándar dentro de la corrida  
 $D$  = Número total de días (5).  
 $n$  = Número total de replicas por día (3)  
 $x_{di}$  = Resultado de las replicas por día (3).  
 $\bar{x}_d$  = Promedio de todos los resultados por día.

Nota: Si el protocolo no se sigue como lo especifica el EP15, la precisión estimada puede ser incorrecta.

### Procedimiento para determinar la precisión intermedia (dentro del laboratorio)

La precisión dentro del laboratorio se calcula con la siguiente fórmula:

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

Donde:

$S_b^2$  = Varianza entre corridas.  
 $\bar{x}_d$  = Promedio de todos los resultados por día ( $x_1$  promedio del día 1).  
 $\bar{\bar{x}}$  = Promedio de todos los resultados.

1. Comparar la repetibilidad estimada en el laboratorio con la especificación del fabricante.

### Criterio de aceptabilidad

Si la desviación estándar en condiciones de repetibilidad son menor a la especificación del fabricante el ensayo es aceptado, se demuestra que la precisión es consistente. Si la desviación estándar es mayor a la especificación del fabricante, se debe aplicar la verificación y ver si es significativamente diferente a las especificaciones del fabricante.

### Verificación

2. Calcular los grados de libertad, V. Para el protocolo recomendado de 5 días de duración y tres replicas por día  $V = 10$

$$V = D * (n - 1)$$

Donde:

D= Días de duración.

n = Replicas por día.

3. Determinar  $(1 - \alpha)$  de  $\chi^2$  (chi cuadrada), de la distribución con  $\nu$  grados de libertad. Aquí  $\alpha$  es nivel de confianza (usualmente 5%) y  $\nu$  es en número de niveles

Degree of Freedom	Number of Levels		
	2	3	4
3	9.35	10.24	10.86
4	11.14	12.09	12.76
5	12.83	13.84	14.54
6	14.45	15.51	16.24
7	16.01	17.12	17.88
8	17.53	18.68	19.48
9	19.02	20.21	21.03
10	20.48	21.71	22.56
11	21.92	23.18	24.06
12	23.34	24.63	25.53
13	24.74	26.06	26.98
14	26.12	27.48	28.42
15	27.49	28.88	29.84
16	28.85	30.27	31.25
17	30.19	31.64	32.64
18	31.53	33.01	34.03

Para el protocolo recomendado de 5 días con 3 replicas; C = 21.71.

4. Calcular el valor de verificación.

$$\frac{\sigma_r \cdot \sqrt{C}}{\sqrt{V}}$$

34

5. Si la repetibilidad estimada,  $S_r$ , es menor o igual al valor de verificación del fabricante, la precisión está verificada.
6. Comparar la precisión intermedia estimada en el laboratorio con la especificación del fabricante.

### **Criterio de aceptabilidad**

Si la desviación estándar en condiciones de precisión intermedia son menor a la especificación del fabricante el ensayo es aceptado, se demuestra que la precisión es consistente. Si la desviación estándar es mayor a la especificación del fabricante, se debe aplicar la verificación y ver si es significativamente diferente a las especificaciones del fabricante.

7. Calcular los grados de libertad de la precisión intermedia, para un experimento con D días de duración y n replicas por corrida.

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

8. Determinar  $(1-\alpha/l)$  de  $\chi^2$  (chi cuadrada), de la distribución con  $v$  grados de libertad. Aquí  $\alpha$  es nivel de confianza (usualmente 5%) y  $l$  es el número de niveles probados.
9. Calcular el valor de la verificación con la siguiente fórmula.

$$\frac{\sigma_1}{T} \sqrt{C}$$

10. Si la precisión intermedia analizada es menor o igual a la especificación dada por el fabricante, el ensayo se considera verificado.

**Tabla de datos para el cálculo de la precisión intermedia y en condiciones de repetibilidad.**

	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Fecha/operador					
Replica 1 (x <sub>1</sub> )					
Replica 1 (x <sub>2</sub> )					
Replica 1 (x <sub>3</sub> )					
$\sum_{i=1}^3 X_i = X_1 + X_2 + X_3$					
$\bar{X}_d = \frac{\sum_{i=1}^3 X_i}{3}$					
$X_1 - \bar{X}_d$					
$(X_1 - \bar{X}_d)^2$					
$X_2 - \bar{X}_d$					
$(X_2 - \bar{X}_d)^2$					
$X_3 - \bar{X}_d$					
$(X_3 - \bar{X}_d)^2$					
$\sum_1^3 (x_i - \bar{x}_d)^2 = (x_1 - \bar{x}_d)^2 + (x_2 - \bar{x}_d)^2 + (x_3 - \bar{x}_d)^2$					
$sd_{run}^2 = \frac{\sum_{i=1}^3 (x_i - \bar{x}_d)^2}{2}$					
$\bar{X}_d - \bar{\bar{X}}$					
$(\bar{X}_d - \bar{\bar{X}})^2$					



1. Cálculo de la media

$$\bar{\bar{X}} = \frac{\bar{X}_1 + \bar{X}_2 + \bar{X}_3 + \bar{X}_4 + \bar{X}_5}{5} =$$

2. Cálculo de Sr

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

3. Cálculo de  $S_1$  (desviación estándar dentro del laboratorio).

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

Donde n= número de réplicas por corrida.

## DEMOSTRACIÓN DE LA VERACIDAD

1. Seleccionar el material para el procedimiento de medida.
2. Medir el material en 3 a 5 corridas, cada una por triplicado.
3. Calcular la media y la desviación estándar de los resultados de cada concentración.

Tabla de datos para el cálculo de la Veracidad.

Nivel 1	Resultado	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$
Replicado 1			
Replicado 2			
Replicado 3			
Replicado 1			
Replicado 2			
Replicado 3			
Replicado 1			
Replicado 2			
Replicado 3			
Replicado 1			
Replicado 2			
Replicado 3			
Replicado 1			
Replicado 2			
Replicado 3			
$\sum_{i=1}^n x_i = (x_1 + x_2 + x_3 + x_4 + x_5 + x_6 + x_7 + x_8 + x_9 + x_{10})$			
$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} = \frac{\sum_{i=1}^6 x_i}{10}$			
$\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 = (x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + (x_3 - \bar{x})^2 + (x_4 - \bar{x})^2 + (x_5 - \bar{x})^2 + (x_6 - \bar{x})^2 + (x_7 - \bar{x})^2 + (x_8 - \bar{x})^2 + (x_9 - \bar{x})^2 + (x_{10} - \bar{x})^2$			

1. Cálculo de la media

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n} = \frac{(X_1 + X_2 + X_3 + X_4 + X_5 + X_6 + X_7 + X_8 + X_9 + X_{10})}{10} =$$

2. Cálculo de la desviación estándar.

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

$$s_x^2 = \frac{(X_1 - \bar{X})^2 + (X_2 - \bar{X})^2 + (X_3 - \bar{X})^2 + (X_4 - \bar{X})^2 + (X_5 - \bar{X})^2 + (X_6 - \bar{X})^2 + (X_7 - \bar{X})^2 + (X_8 - \bar{X})^2 + (X_9 - \bar{X})^2 + (X_{10} - \bar{X})^2}{9}$$

$$s_x = \sqrt{s_x^2} = \underline{\hspace{2cm}}$$

3. Calculo del intervalo de verificación para el bias.

$$\bar{X} \pm t_{1-\alpha, 2n-1} \bullet \sqrt{S_x^2 + S_a^2}$$

Donde  $S_a$  = SD del grupo de comparación/  $\sqrt{n}$   
 $n$  = numero de laboratorios participantes

Grados de libertad =  $3n-1$   
 Donde 3= numero de replicas  
 $n$  = número de días.

**Criterio de aceptabilidad**

Si el valor obtenido se encuentra en el intervalo de verificación, la veracidad es satisfactoriamente aceptada

## 11. RESULTADOS

**Tabla 1. Datos de concentración de los controles Bio Rad Nivel 1,2 y 3**

DETERMINACIÓN	UNIDADES	CONCENTRACIÓN MATERIAL 1	CONCENTRACIÓN MATERIAL 2	CONCENTRACIÓN MATERIAL 3
PCR	mg/dl	0.587	2.59	4.34

Especificación del fabricante para precisión en condiciones de repetibilidad (precisión intra-ensayo) y precisión intermedia (precisión intermedia)”

**Tabla 2. Datos del inserto del reactivo Cardio Phase hsPCR**

PRECISIÓN n=40			
Contenido de PCR(mg/dL)	Intra-ensayo CV (%)	CV serie a serie (%)	CV total (%)
1.4	2.7	2.0	3.1
5.57	2.1	2.1	2.9
0.069	2.3	2.3	3.1
0.59	4.6	4.0	5.8
0.92	2.6	1.3	2.6
17.9	2.1	1.1	2.2

**Especificación del fabricante para precisión en condiciones de repetibilidad**

**Nivel 1** 0.587 mg/dl  
 $SDr = (CVr * media) / 100$   
 Datos:  
 CVr: 4.6%  
 Media: 0.587  
 $SDr = (4.4 * 0.757) / 100$   
**SDr= 0.30**

**Especificación del fabricante para precisión en condiciones de precisión intermedia**

**Nivel 1** 0.587 mg/dl  
 $SDr = (CVr * Media) / 100$   
 Datos:  
 CVr: 5.8%  
 Media: 0.587  
 $SDr = (5.8 * 0.587) / 100$   
**SDi= 0.030**

### **Especificación del fabricante para precisión en condiciones de repetibilidad**

**Nivel 2** 2.59 mg/dl

$SDr = (CVr * Media) / 100$

Datos:

CVr: 2.3%

Media: 2.59

$SDr = (2.7 * 2.59) / 100$

**SDr= 0.07**

### **Especificación del fabricante para precisión en condiciones de precisión intermedia**

**Nivel 2** 2.59 mg/dl

$SDr = (CVr * Media) / 100$

Datos:

CVr: 3.1%

Media: 2.59

$SDr = (2.59 * 3.1) / 100$

**SDi= 0.08**

### **Especificación del fabricante para precisión en condiciones de repetibilidad**

**Nivel 3** 4.34 mg/dl

$SDr = (CVr * Media) / 100$

Datos:

CVr: 2.1%

Media: 4.34

$SDr = (2.1 * 4.34) / 100$

**SDr= 0.09**

### **Especificación del fabricante para precisión en condiciones de precisión intermedia**

**Nivel 3** 4.34 mg/dl

$SDr = (CVr * Media) / 100$

Datos:

CVr: 2.9%

Media: 4.34

$SDr = (2.9 * 4.34) / 100$

**SDi= 0.13**

**Tabla 3. Datos obtenidos intra-corrída e inter-corrída.**

<b>Nivel I 0.587mg/dL</b>				
Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
0.62	0.60	0.55	0.63	0.56
0.58	0.57	0.57	0.58	0.57
0.58	0.57	0.56	0.59	0.60
<b>Nivel II 2.59 mg/dL</b>				
2.57	2.63	2.52	2.52	2.57
2.49	2.57	2.60	2.62	2.59
2.68	2.67	2.64	2.62	2.48
<b>Nivel III 4.34mg/dL</b>				
4.35	4.20	4.01	4.40	4.34
4.08	4.01	4.16	4.38	4.38
4.41	4.61	4.11	4.11	4.15

**Tabla 4. Cálculo de la precisión intermedia y precisión en condiciones de repetibilidad. Nivel 1.**

Evaluación estadística del método Inmuno-nefelométrico para la determinación de Proteína C Reactiva ultrasensible (PCR hs) en el diagnóstico de procesos infecciosos e inflamatorios con base a la NMX 15189

<b>Instrumento</b>	Nefelómetro Dade Berhing	<b>Material</b>	Control Bio Rad	<b>Lote</b>	52381
<b>Lote del reactivo</b>	8540	<b>Analito</b>	Proteína C Reactiva	<b>SDr(fabricante)</b>	0.030
<b>Operador</b>	QFB: Rosalía Guevara	<b>Concentración</b>	0.587 mg/dL	<b>SDi(fabricante)</b>	0.030

42

<b>NIVEL 1</b>	<b>Corrida 1</b>	<b>Corrida 2</b>	<b>Corrida 3</b>	<b>Corrida 4</b>	<b>Corrida 4</b>
Fecha	28/02/2011	01/03/2011	02/03/2011	03/03/2011	04/03/2011
Replica 1 (x <sub>1</sub> )	0.62	0.60	0.55	0.63	0.56
Replica 1 (x <sub>2</sub> )	0.58	0.57	0.57	0.58	0.57
Replica 1 (x <sub>3</sub> )	0.58	0.57	0.56	0.59	0.60
$\sum_{i=1}^3 X_i = X_1 + X_2 + X_3$	2	2	2	2	2
$\bar{X}_d = \frac{\sum_{i=1}^3 X_i}{3}$	0.59	0.58	0.56	0.60	0.58
$X_1 - \bar{X}_d$	0.03	0.02	-0.01	0.03	-0.02
$(X_1 - \bar{X}_d)^2$	0.0009	0.0004	0.0001	0.0009	0.0004
$X_2 - \bar{X}_d$	-0.01	-0.01	0.01	-0.02	-0.01
$(X_2 - \bar{X}_d)^2$	0.0001	0.0001	0.0001	0.0004	0.0001
$X_3 - \bar{X}_d$	-0.01	-0.01	0.00	-0.01	0.02
$(X_3 - \bar{X}_d)^2$	0.0001	0.0001	0.0000	0.0001	0.0004
$\sum_{i=1}^3 (X_i - \bar{X}_d)^2 = (X_1 - \bar{X}_d)^2 + (X_2 - \bar{X}_d)^2 + (X_3 - \bar{X}_d)^2$	0.0011	0.0006	0.0002	0.0014	0.0009
$sd_{num}^2 = \frac{\sum_{i=1}^3 (X_i - \bar{X}_d)^2}{2}$	0.0006	0.0003	0.0001	0.0007	0.0005
$\bar{X}_d - \bar{X}$	0.01	0.00	-0.02	0.02	0.00
$(\bar{X}_d - \bar{X})^2$	0.0001	0.00000	0.0004	0.0004	0.0000

**Xtotal**

0.58

Evaluación estadística del método Inmuno-nefelométrico para la determinación de Proteína C Reactiva ultrasensible (PCR hs) en el diagnóstico de procesos infecciosos e inflamatorios con base a la NMX 15189

<b>SD<sup>2</sup> corrida (promedio)</b>	0.00044
<b>Sr</b>	0.021
<b>Sb<sup>2</sup></b>	0.00023
<b>n</b>	3
<b>Días</b>	5
<b>C(tabla)</b>	21.71
<b>Si</b>	0.02
<b>WSDr</b>	0.039
<b>WSDi</b>	0.04

<b>Repetibilidad</b> <b>0.021&lt;0.030</b>
<b>Ensayo aceptado,</b> <b>No se necesita verificación</b>

<b>Desvió Estándar intralaboratorio</b> <b>0.02&lt;0.030</b>
<b>Ensayo aceptado,</b> <b>No se necesita verificación</b>

**Tabla 5. Cálculo de la precisión intermedia y precisión en condiciones de repetibilidad. Nivel 2.**



Evaluación estadística del método Inmuno-nefelométrico para la determinación de Proteína C Reactiva ultrasensible (PCR hs) en el diagnóstico de procesos infecciosos e inflamatorios con base a la NMX 15189

<b>Instrumento</b>	Nefelómetro Dade Berhing	<b>Material</b>	Control Bio Rad	<b>Lote</b>	52381
<b>Lote del reactivo</b>	8540	<b>Analito</b>	Proteína C Reactiva	<b>SDr(fabricante)</b>	0.070
<b>Operador</b>	QFB: Rosalía Guevara	<b>Concentración</b>	2.59 mg/dL	<b>SDi(fabricante)</b>	0.080

44

<b>NIVEL 1</b>	<b>Corrida 1</b>	<b>Corrida 2</b>	<b>Corrida 3</b>	<b>Corrida 4</b>	<b>Corrida 4</b>
Fecha	28/02/2011	01/03/2011	02/03/2011	03/03/2011	04/03/2011
Replica 1 (x <sub>1</sub> )	2.57	2.63	2.52	2.52	2.57
Replica 1 (x <sub>2</sub> )	2.49	2.57	2.60	2.62	2.59
Replica 1 (x <sub>3</sub> )	2.68	2.67	2.64	2.62	2.48
$\sum_{i=1}^3 X_i = X_1 + X_2 + X_3$	8	8	8	8	8
$\bar{X}_d = \frac{\sum_{i=1}^3 X_i}{3}$	2.58	2.62	2.59	2.59	2.55
$X_1 - \bar{X}_d$	-0.01	0.01	-0.07	-0.07	0.02
$(X_1 - \bar{X}_d)^2$	0.0001	0.0001	0.0049	0.0049	0.0004
$X_2 - \bar{X}_d$	-0.09	-0.05	0.01	0.03	0.04
$(X_2 - \bar{X}_d)^2$	0.0081	0.0025	0.0001	0.0009	0.0016
$X_3 - \bar{X}_d$	0.10	0.05	0.05	0.03	-0.07
$(X_3 - \bar{X}_d)^2$	0.0100	0.0025	0.0025	0.0009	0.0049
$\sum_{i=1}^3 (X_i - \bar{X}_d)^2 = (X_1 - \bar{X}_d)^2 + (X_2 - \bar{X}_d)^2 + (X_3 - \bar{X}_d)^2$	0.0182	0.0051	0.0075	0.0067	0.0069
$sd_{\text{num}}^2 = \frac{\sum_{i=1}^3 (X_i - \bar{X}_d)^2}{2}$	0.0091	0.0026	0.0038	0.034	0.0035
$\bar{X}_d - \bar{X}$	0.00	0.04	0.01	0.01	-0.03
$(\bar{X}_d - \bar{X})^2$	0.0000	0.00160	0.0001	0.0001	0.0009

**Xtotal**

2.58

Evaluación estadística del método Inmuno-nefelométrico para la determinación de Proteína C Reactiva ultrasensible (PCR hs) en el diagnóstico de procesos infecciosos e inflamatorios con base a la NMX 15189

<b>SD<sup>2</sup> corrida (promedio)</b>	0.00448
<b>Sr</b>	0.067
<b>Sb<sup>2</sup></b>	0.00068
<b>n</b>	3
<b>Días</b>	5
<b>C(tabla)</b>	21.71
<b>Si</b>	0.06
<b>WSDr</b>	0.099
<b>WSDi</b>	0.10

<b>Repetibilidad</b> <b>0.067&lt;0.070</b>
<b>Ensayo aceptado,</b> <b>No se necesita verificación</b>

<b>Desvió Estándar intralaboratorio</b> <b>0.06&lt;0.080</b>
<b>Ensayo aceptado</b> <b>No se necesita verificación</b>

**Tabla 6. Cálculo de la precisión intermedia y precisión en condiciones de repetibilidad. Nivel 3.**

Evaluación estadística del método Inmuno-nefelométrico para la determinación de Proteína C Reactiva ultrasensible (PCR hs) en el diagnóstico de procesos infecciosos e inflamatorios con base a la NMX 15189

<b>Instrumento</b>	Nefelómetro Dade Berhing	<b>Material</b>	Control Bio Rad	<b>Lote</b>	52381
<b>Lote del reactivo</b>	8540	<b>Analito</b>	Proteína C Reactiva	<b>SDr(fabricante)</b>	0.09
<b>Operador</b>	QFB: Rosalía Guevara	<b>Concentración</b>	4.34 mg/dL	<b>SDi(fabricante)</b>	0.13

46

<b>NIVEL 1</b>	<b>Corrida 1</b>	<b>Corrida 2</b>	<b>Corrida 3</b>	<b>Corrida 4</b>	<b>Corrida 4</b>
Fecha	28/02/2011	01/03/2011	02/03/2011	03/03/2011	04/03/2011
Replica 1 (x <sub>1</sub> )	4.35	4.20	4.01	4.40	4.34
Replica 1 (x <sub>2</sub> )	4.08	4.01	4.16	4.38	4.38
Replica 1 (x <sub>3</sub> )	4.41	4.61	4.11	4.11	4.15
$\sum_{i=1}^3 X_i = X_1 + X_2 + X_3$	13	13	12	13	13
$\bar{X}_d = \frac{\sum_{i=1}^3 X_i}{3}$	4.28	4.27	4.09	4.30	4.29
$X_1 - \bar{X}_d$	0.07	-0.07	-0.08	0.10	0.05
$(X_1 - \bar{X}_d)^2$	0.0049	0.0049	0.0064	0.0100	0.0025
$X_2 - \bar{X}_d$	-0.20	-0.26	0.07	0.08	0.09
$(X_2 - \bar{X}_d)^2$	0.0400	0.0676	0.0049	0.0064	0.0081
$X_3 - \bar{X}_d$	0.13	0.34	0.02	-0.19	-0.14
$(X_3 - \bar{X}_d)^2$	0.0169	0.1156	0.0004	0.0361	0.0196
$\sum_{i=1}^3 (X_i - \bar{X}_d)^2 = (X_1 - \bar{X}_d)^2 + (X_2 - \bar{X}_d)^2 + (X_3 - \bar{X}_d)^2$	0.0618	0.1881	0.0117	0.0525	0.0302
$sd_{num}^2 = \frac{\sum_{i=1}^3 (X_i - \bar{X}_d)^2}{2}$	0.0309	0.941	0.0059	0.0263	0.0151
$\bar{X}_d - \bar{\bar{X}}$	0.03	0.02	-0.16	0.05	0.04
$(\bar{X}_d - \bar{\bar{X}})^2$	0.0009	0.00040	0.0256	0.0025	0.0016

**Xtotal**

4.25

Evaluación estadística del método Inmuno-nefelometrico para la determinación de Proteína C Reactiva ultrasensible (PCR hs) en el diagnóstico de procesos infecciosos e inflamatorios con base a la NMX 15189

<b>SD<sup>2</sup> corrida (promedio)</b>	0.03446
<b>Sr</b>	0.186
<b>Sb<sup>2</sup></b>	0.00775
<b>n</b>	3
<b>Días</b>	5
<b>C(tabla)</b>	21.71
<b>Si</b>	0.18
<b>WSDr</b>	0.130
<b>WSDi</b>	0.16

<b>Repetibilidad</b> <b>0.186&gt;0.09</b>
<b>Ensayo rechazado</b> <b>Aplicar verificación</b>

<b>Desvió Estándar intralaboratorio</b> <b>0.18&gt;0.13</b>
<b>Ensayo rechazado</b> <b>Aplicar verificación</b>

<b>Verificación SDr</b> <b>0.186&gt;0.130</b>
<b>Ensayo rechazado</b>

<b>Verificación SDi</b> <b>0.18&gt;0.16</b>
<b>Ensayo rechazado</b>

## VERACIDAD

Evaluación estadística del método Inmuno-nefelométrico para la determinación de Proteína C Reactiva ultrasensible (PCR hs) en el diagnóstico de procesos infecciosos e inflamatorios con base a la NMX 15189

<b>Analito</b>	<b>PCR hs</b>
<b>Concentración</b>	0.548mg/dl

**Tabla 7. Cálculo de la veracidad. Nivel 1**

Nivel 1	Resultado	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$
<b>Replicado 1</b>	0.62	0.038	0.0014
<b>Replicado 2</b>	0.58	-0.002	0.0000
<b>Replicado 3</b>	0.58	-0.02	0.0000
<b>Replicado 1</b>	0.60	0.018	0.0003
<b>Replicado 2</b>	0.57	-0.012	0.0001
<b>Replicado 3</b>	0.57	-0.012	0.0001
<b>Replicado 1</b>	0.55	-0.032	0.0010
<b>Replicado 2</b>	0.57	-0.012	0.0001
<b>Replicado 3</b>	0.56	-0.022	0.0005
<b>Replicado 1</b>	0.63	0.048	0.0023
<b>Replicado 2</b>	0.58	-0.002	0.0000
<b>Replicado 3</b>	0.59	0.008	0.0001
<b>Replicado 1</b>	0.56	-0.022	0.0005
<b>Replicado 2</b>	0.57	-0.012	0.0001
<b>Replicado 3</b>	0.60	0.018	0.0003
$\sum_{i=1}^n x_i = (x_1 + x_2 + x_3 + x_4 + x_5 + x_6 + x_7 + x_8 + x_9 + x_{10})$	9		
$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} = \frac{\sum_{i=1}^6 x_i}{10}$	0.58		
$\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 = (x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + (x_3 - \bar{x})^2 + (x_4 - \bar{x})^2 + (x_5 - \bar{x})^2 + (x_6 - \bar{x})^2 + (x_7 - \bar{x})^2 + (x_8 - \bar{x})^2 + (x_9 - \bar{x})^2 + (x_{10} - \bar{x})^2$			0.0070

48

Evaluación estadística del método Inmuno-nefelométrico para la determinación de Proteína C Reactiva ultrasensible (PCR hs) en el diagnóstico de procesos infecciosos e inflamatorios con base a la NMX 15189

$S_x^2$	<b>0.00352</b>
$S_x$	0.059
<b>Grados de libertad</b> <b>14 grados de libertad y alfa 1%</b>	14
t	2.624
<b>Concentración evaluada</b>	0.548
<b>Valor obtenido</b>	0.59
<b>Bias (c)</b>	0.03
<b>Bias %</b>	6.2

<b>Sa</b>	<b>0.03</b>
<b>Valor inferior</b>	0.43
<b>Valor superior</b>	0.74
<b>Conclusión</b>	Verificación de veracidad aceptada

<b>Analito</b>	<b>PCR hs</b>
<b>Concentración</b>	2.41 mg/dl

**Tabla 8. Cálculo de la veracidad. Nivel 2**

Nivel 2	Resultado	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$
Replicado 1	2.57	-0.015	0.0002
Replicado 2	2.49	-0.095	0.0090
Replicado 3	2.68	0.095	0.0091
Replicado 1	2.63	0.045	0.0021
Replicado 2	2.57	-0.015	0.0002
Replicado 3	2.67	0.085	0.0073
Replicado 1	2.52	-0.065	0.0042
Replicado 2	2.60	0.015	0.0002
Replicado 3	2.64	0.055	0.0031
Replicado 1	2.52	-0.065	0.0042
Replicado 2	2.62	0.035	0.0012
Replicado 3	2.62	0.035	0.0012
Replicado 1	2.57	-0.015	0.0002
Replicado 2	2.59	0.005	0.0000
Replicado 3	2.48	0.105	0.0110
$\sum_{i=1}^n X_i = (X_1 + X_2 + X_3 + X_4 + X_5 + X_6 + X_7 + X_8 + X_9 + X_{10})$	39		
$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n} = \frac{\sum_{i=1}^6 X_i}{10}$	2.58		
$\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 = (x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + (x_3 - \bar{x})^2 + (x_4 - \bar{x})^2 + (x_5 - \bar{x})^2 + (x_6 - \bar{x})^2 + (x_7 - \bar{x})^2 + (x_8 - \bar{x})^2 + (x_9 - \bar{x})^2 + (x_{10} - \bar{x})^2$			0.0532

Evaluación estadística del método Inmuno-nefelométrico para la determinación de Proteína C Reactiva ultrasensible (PCR hs) en el diagnóstico de procesos infecciosos e inflamatorios con base a la NMX 15189

$S_x^2$	<b>0.003798095</b>
$S_x$	0.062
<b>Grados de libertad</b> <b>14 grados de libertad y alfa 1%</b>	14
t	2.624
<b>Concentración evaluada</b>	2.41
<b>Valor obtenido</b>	2.58
<b>Bias (c)</b>	0.17
<b>Bias %</b>	7.2

<b>Sa</b>	<b>0.032</b>
<b>Valor inferior</b>	2.40
<b>Valor superior</b>	2.77
<b>Conclusión</b>	Verificación de veracidad aceptada

<b>Analito</b>	<b>PCR hs</b>
<b>Concentración</b>	4.12 mg/dl



**Tabla 9. Cálculo de la veracidad. Nivel 3**

Nivel 3	Resultado	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$
Replicado 1	4.35	0.103	0.0107
Replicado 2	4.08	-0.167	0.0278
Replicado 3	4.41	0.163	0.0267
Replicado 1	4.20	-0.047	0.0022
Replicado 2	4.01	-0.237	0.0560
Replicado 3	4.61	0.363	0.1320
Replicado 1	4.01	-0.237	0.0560
Replicado 2	4.16	-0.087	0.0075
Replicado 3	4.11	-0.137	0.0187
Replicado 1	4.40	0.153	0.0235
Replicado 2	4.38	0.133	0.0178
Replicado 3	4.11	-0.137	0.0187
Replicado 1	4.34	0.093	0.0087
Replicado 2	4.38	0.133	0.0178
Replicado 3	4.15	-0.097	0.0093
$\sum_{i=1}^n x_i = (x_1 + x_2 + x_3 + x_4 + x_5 + x_6 + x_7 + x_8 + x_9 + x_{10})$	64		
$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} = \frac{64}{10}$	4.25		
$\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 = (x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + (x_3 - \bar{x})^2 + (x_4 - \bar{x})^2 + (x_5 - \bar{x})^2 + (x_6 - \bar{x})^2 + (x_7 - \bar{x})^2 + (x_8 - \bar{x})^2 + (x_9 - \bar{x})^2 + (x_{10} - \bar{x})^2$			0.4333

$S_x^2$	0.030952381
---------	-------------

Evaluación estadística del método Inmuno-nefelométrico para la determinación de Proteína C Reactiva ultrasensible (PCR hs) en el diagnóstico de procesos infecciosos e inflamatorios con base a la NMX 15189

<b>S<sub>x</sub></b>	0.176
<b>Grados de libertad</b> <b>14 grados de libertad y alfa 1%</b>	14
<b>t</b>	2.624
<b>Concentración evaluada</b>	4.12 mg/dl
<b>Valor obtenido</b>	4.25 mg/dl
<b>Bias (c)</b>	0.13 mg/dl
<b>Bias %</b>	3.1%

<b>S<sub>a</sub></b>	<b>0.03</b>
<b>Valor inferior</b>	3.78
<b>Valor superior</b>	4.71
<b>Conclusión</b>	Verificación de veracidad aceptada

## INCERTIDUMBRE

## 1. Especificación del mensurando.

Concentración de Proteína C Reactiva en suero determinándolo en un material de control comercial (Bio Rad)

## 2. Identificación de las fuentes de Incertidumbre

54

Los únicos componentes de la incertidumbre de esta medición serán los siguientes:

### 2.1 Incertidumbre de medición del valor del calibrador.

$$\mu^2 = (\mu\text{CAL})^2 + (\mu\text{QCI})^2 + (\mu\text{CCE})^2$$

El fabricante declara que la incertidumbre expandida es de 5.80% (con un intervalo de confianza del 95%). Como el factor de cobertura corresponde al nivel de confianza del 95% es 2, la incertidumbre típica relativa del valor asignado al material de referencia certificado es 2.9%.

### 2.2 Precisión interdiaria. CCI

Se utilizan los datos de coeficiente de variación acumulado del programa interlaboratorio Bio Rad del mes de febrero de 2011.

### 2.3 Índice de desviación estándar CCE de los últimos 6 meses

Se utilizan los datos del promedio del Índice de desviación estándar del Grupo par correspondiente al último ciclo del programa (No. 36).

IDS 4.73%

El IDS expresa la desviación del resultado del participante de la media

## Tabla 10. Estimación de la incertidumbre

No.	Fuente de incertidumbre	Fuente de información	Tipo, distribución	Incertidumbre original			Incertidumbre estándar		
1	Calibrador	Certificado de calibración	B normal, K=2	5.80%			2.9%		
2	Índice de desviación estándar (IDS)	EQAS (CCE)	A normal K=1	4.73%			4.73%		
3	Precisión inter-diaria (CV%)	Reporte inter-laboratorio (CCI)	A normal K=1	Nivel 1 7.9%	Nivel 2 5.1%	Nivel 3 4.7%	Nivel 1 7.9%	Nivel 2 5.1%	Nivel 3 4.7%

**Tabla 11. Expresión de la incertidumbre**

	Incertidumbre Combinada u %	Incertidumbre Expandida U%	Expresión final	Intervalo
Nivel 1	8.42	16.84	0.58 ± 0.09 mg/dl	0.47-0.69mg/dL
Nivel 2	5.87	11.74	2.58± 0.30 mg/dl	2.19-2.97mg/dL
Nivel 3	5.53	11.06	4.25± 0.61 mg/dl	3.63-4.87mg/dL

## 12. EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO

### REQUISITOS DE CALIDAD

Calcular el ETa mínimo y máximo:

ETa mínimo = 3\*CV proceso

#### Nivel 1

3.9 \* 3= 11.7%

#### Nivel 2

2.3\*3=6.9%

#### Nivel 3

4.0\*3= 12.0 %

### ETa de mayor jerarquía

**Tabla 12. Variabilidad biológica de la Proteína C reactiva**

Analito	Variación biológica		Especificación deseable		
	CVW	CVg	I(%)	B(%)	TE(%)
Proteína C reactiva	42.2	76.3	21.1	21.8	56.6

Fuente: <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>

CVw = (Coeficiente de variación intra-individual)

CVg = (coeficiente de variación inter-individual)

I = Especificación deseable para imprecisión.

B = Especificación deseable para inexactitud.

TE = Especificación deseable para el error total.

**En condiciones deseables la especificación para variabilidad biológica es 28.3%**

### CÁLCULO DE ERROR TOTAL

*Cálculo del CVi:*

$$CVi = Si \times 100 / \text{concentración}$$

$$Error\ Total = Bias + 2 \times CV$$

#### Nivel 1

$$CVi = 0.02 \times 100 / 0.587$$

$$CVi = 3.9\%$$

$$Error\ Total = 6.2\% + 2 \times 3.9\%$$

$$Error\ Total = 14\%$$

#### Nivel 2

$$CVi = 0.06 \times 100 / 2.59$$

$$CVi = 2.31\%$$

$$Error\ Total = Bias + 2 \times CV$$

$$Error\ Total = 7.2\% + 2 \times 2.31\%$$

$$Error\ Total = 14.0\%$$

#### Nivel 3

$$CVi = 0.18 \times 100 / 4.06$$

$$CVi = 4.43\%$$

$$Error\ Total = Bias + 2 \times CV$$

$$Error\ Total = 3.1\% + 2 \times 4.43\%$$

$$Error\ Total = 11.2\%$$

### CÁLCULO DE SEIS SIGMA

$$\text{Seis sigma} = (\text{TEa\%} - \text{\%bias}) / \text{CV}$$

**NIVEL 1**

$$\text{SEIS SIGMA} = (28.3\% - 6.2\%) / 3.9 = 5.7$$

**NIVEL 2**

$$\text{SEIS SIGMA} = (28.3\% - 7.2\%) / 2.3 = 9.0$$

**NIVEL 3**

$$\text{SEIS SIGMA} = (28.3\% - 3.1\%) / 4.0 = 6.2$$

**CALCULO DE EL ERROR SISTEMÁTICO CRÍTICO**

$$\Delta \text{SEc} = \text{Sigma} - 1.65$$

**NIVEL 1**

$$\Delta \text{SEc} = 5.7 - 1.65 = 4.1$$

**NIVEL 2**

$$\Delta \text{SEc} = 9.0 - 1.65 = 7.4$$

**NIVEL 3**

$$\Delta \text{SEc} = 6.2 - 1.65 = 4.6$$

**EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO**

**Tabla 13. Desempeño**

PCR	(c)	unidades	TEa	SDi	CVi	Bias%	TE%	Sigma	ESC	μ
Nivel 1	0.587	mg/dl	28.3	0.02	3.9	6.2	14.0	5.7	4.1	16.84
Nivel 2	2.59	mg/dl	28.3	0.06	2.3	7.2	11.9	9.0	7.4	11.74
Nivel 3	4.34	mg/dl	28.3	0.18	4.0	3.1	11.2	6.2	4.6	11.06

### 13. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para el desarrollo del protocolo se utilizaron los 3 niveles de control para evaluar el desempeño, es importante mencionar que es de fundamental importancia evaluar el desempeño de la prueba en concentraciones próximas al nivel de decisión médica como lo es el nivel 1, que tiene una concentración de 0.587 mg/dl y el nivel de decisión médica es de 0.5mg/dl, ya que es en esa zona donde el desempeño es crítico. Los resultados obtenidos muestran que a ese nivel de concentración el desempeño en general es aceptable, con un nivel sigma excelente de 7.1, lo cual indica que el proceso controlado.

58

Para el nivel 2 de concentración, el desempeño es nuevamente aceptable siendo aun mejor con un seis sigma de 9.0. Sin embargo el nivel 3 de concentración presenta algunas inconsistencias en el caso de la precisión en condiciones de repetibilidad y en condiciones de precisión intermedia (SDr y SDi respectivamente) ya que los resultados obtenidos en estos dos parámetros superaron las especificaciones del fabricante, sin embargo los fabricantes al momento de establecer sus especificaciones no trabajan en condiciones de rutina, como lo hizo el laboratorio durante la evaluación (con una alta carga de trabajo), los fabricantes trabajan con condiciones especiales de operación, como equipo nuevo, seguramente una única prueba, y sobre todo condiciones ambientales controladas al extremo, lo cual en el laboratorio ha sido muy difícil de controlar debido a que es un laboratorio grande y con suficiente personal, por lo que las condiciones de trabajo en el laboratorio difieren mucho a las condiciones que tuvo el fabricante, otro punto importante es que el fabricante utiliza un protocolo de evaluación diferente, sin embargo el desempeño general del método en este nivel de concentración también es aceptable ya que presenta un Seis sigma de 6.2.

Para la evaluación de la veracidad los 3 niveles fueron aceptados, se utilizó el reporte de comparación inter-laboratorio Bio Rad del mes de febrero, y se utilizó el grupo de comparación por método para la estimación del Bias, ya que este grupo par resultado ser el mejor grupo de comparación debido al número de laboratorios participantes y a la desviación estándar reportada.

Para el cálculo de la incertidumbre solo se considera la parte analítica, por lo que quedan fuera otras fuentes significativas de incertidumbre, aun no hay un consenso internacional o protocolo para su cálculo, por lo que el resultado puede diferir bastante, sin embargo es útil para el laboratorio conocer su incertidumbre para comprender el real significado de la información brindada y es información que debe estar disponible, aunque para el médico quien es el que recibe y hace uso de los resultados pueda ser un concepto que le cause más problemas.

El uso de herramientas como Seis sigma, error sistemático crítico y error total puede ayudar a planificar el control de calidad y seguir el desempeño del método, son

herramientas de control de calidad que me van a permitir detectar los errores clínicamente significativos.

Para el establecimiento de los requisitos de calidad, aquí se propuso un esquema utilizando el algoritmo de Rhoads, sin embargo queda a criterio del laboratorio cual utilizar, un requisito debe ser una exigencia que pueda ser alcanzada por el laboratorio, sobre todo cuando se habla de inmuno-ensayos, de los cuales hay poco conocimiento acerca de su estandarización y manejo del control de calidad, debido a la poca estabilidad que presentan estos ensayos.



## 14. CONCLUSIONES

Se cumplió el objetivo planteado, el método para la determinación de la proteína C reactiva es aceptable.

Se logro conocer el desempeño de el método en condiciones estables y conocer el TE y evaluar el desempeño frente a Requisitos de Calidad (TEa)

La herramienta Seis sigma es una medida del desempeño frente a los requisitos de calidad y nos ayuda a planificar el control de calidad de la prueba.

La verificación es de fundamental importancia más allá de cualquier norma o regulación por el hecho de asegurar la utilidad clínica de los resultados generados en el laboratorio.

## 11. REFERENCIAS CONSULTADAS

1. Tillet WM y Francis Jr T. Serological reactions in pneumonia with a non protein somatic fraction of pneumococcus. J Exp Med 1930; 52:561-71.
2. Husain T y Kim D. C reactive protein and erythrocyte sedimentation rate in orthopaedics. The University of Pennsylvania Orthopaedic Journal 2002; 15:13-16.
3. Choudhry RR, Rice RP, Triffitt PD, Harper WM, Gregg PJ. Plasma viscosity and C reactive protein alter total hip and knee arthroplasty. J Bone Joint Surg 1992; 74B:523-4.
4. Meyer B, Schaller K, Rodhe V, Hassler W. The C reactive protein for detection Of early infections alter lumbar microdiscectomy. Acta Neurochirurg 1995; 136(3-4):145-150.
5. Carol D y lloid H. La Rehabilitación reumatológica. España: Editorial Harcourt, 1998: 341.
6. Olsen D, Eugene. Métodos Ópticos de Análisis. Barcelona: Editorial Reverte, 1990:482-486.
7. <http://www.gmi-inc.com/Dade-Behring-BN-II-Nephelometer.htm>
8. González J M. Técnicas y métodos de laboratorio clínico. México. Editorial Masson, 1993: 280
- 9 Sierra Amor R, Melchor Díaz C. Acreditación de laboratorios clínicos ISO 15189:2003. Rev Bioquímica 2008; 33 (3): 86-90.
10. NMX-EC-15189-IMNC-2006 / ISO 15189:2003. "Laboratorios clínicos-Requisitos particulares para la calidad y la competencia".
11. Vocabulario Internacional de Metrología (VIM). Conceptos fundamentales y generales y términos asociados. 1era edición. 2008.
12. ISO. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and result.

Part 1. General principles and definitions. ISO/DIS 5725-1. Geneva: ISO, 1991.

13. González De la Presa Bernardino. Estudio De La Incertidumbre Asociada A Los resultados Obtenidos Con Ciertos Procedimientos De Medida Bioquímico-Clínicos (para optar al grado de doctor en biología). 2002. Barcelona. Disponible en: <[http://www.tdr.cesca.es/TESIS\\_UAB/AVAILABLE/TDX-1015103-150140//bgp1de1.pdf](http://www.tdr.cesca.es/TESIS_UAB/AVAILABLE/TDX-1015103-150140//bgp1de1.pdf)> consulta 15 noviembre 2010.

14. NMX-CH-5725-IMNC-1-IMNC-2006. Exactitud (veracidad y precisión) de resultados y métodos de medición.

15. NCCLS. Document EP6-A: evaluation of the linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach: Approved Guideline. 2003.

11. Real Academia Española. Diccionario de la lengua española. Editorial Espasa Calpé, S.A. Madrid 2001.

17. Fernández Espina C. Gestion de la calidad en el laboratorio clinico. España. Editorial Medica Panamericana. 2005: 377-378.

18. Rev Mex Patol Clin, Vol. 57, Núm. 4, pp 179-189 • Octubre - Diciembre, 2010

19. *Migliarino Gabriel. Requisitos de Calidad. Curso: Acreditación del laboratorio Clínico. Instituto Nacional de Cancerología. Septiembre 24 de 2010.*

20. Gonzales de Buitrago José Manuel. Técnicas Y métodos de laboratorio clínico. Barcelona. Editorial Masson. 2005: 92-91.

21. *Migliarino Gabriel. "Planificación de Control de Calidad en el Laboratorio Clínico". Disponible en: [http://www.galenica.cl/QC/2009/Planificacion\\_de\\_control\\_de\\_calidad.pdf](http://www.galenica.cl/QC/2009/Planificacion_de_control_de_calidad.pdf). Consultado 23 de octubre 2010.*

22. Ricós C, Perich C, Álvarez V, et al. Aplicación del modelo Seis-Sigma en la mejora de la calidad analítica del laboratorio clínico. Laboratorio Clínico. 2009; 02:2-7

Evaluación estadística del método Inmuno-nefelométrico para la determinación de Proteína C Reactiva ultrasensible (PCR hs) en el diagnóstico de procesos infecciosos e inflamatorios con base a la NMX 15189

23. Nava Muñoz Sergio. Simposio Aplicación de Seis Sigma en Servicios (Taller en línea). Guanajuato.CIMAT.2007 Disponible en :<[http://www.cimat.mx/Sitios/seis sigma/archivos/Ponencia Sergio Nava y Carlos.pdf](http://www.cimat.mx/Sitios/seis_sigma/archivos/Ponencia_Sergio_Nava_y_Carlos.pdf)> consulta 23 diciembre 2010.

24. EP15- A2 User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline



# ANEXOS



BIO-RAD LABORATORIES

**EQAS**

**External Quality Assurance Services**

---

**Inmunoensayo**

**REPORTE QUINCENAL**

Su número de laboratorio : 4492

Reporte del ciclo : 36 : Agosto 2010 - Enero 2011

Núm. de muestra : 3

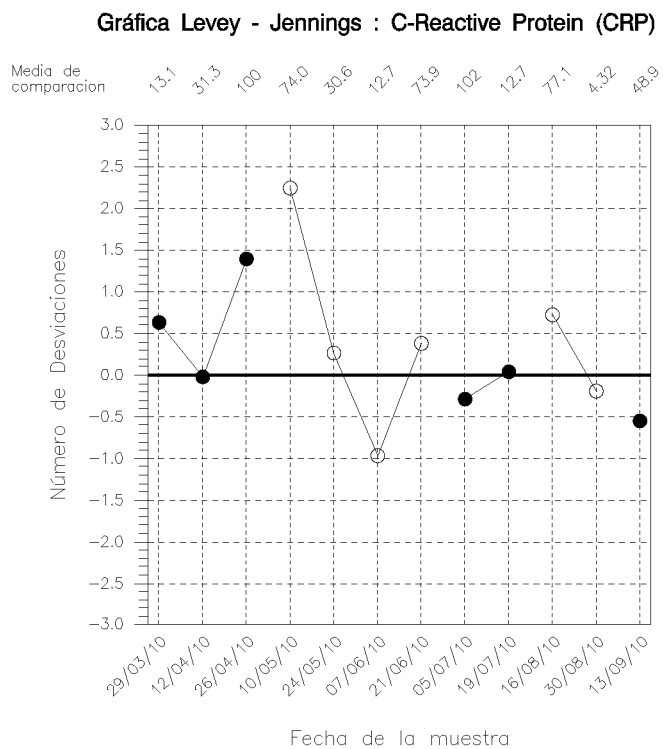
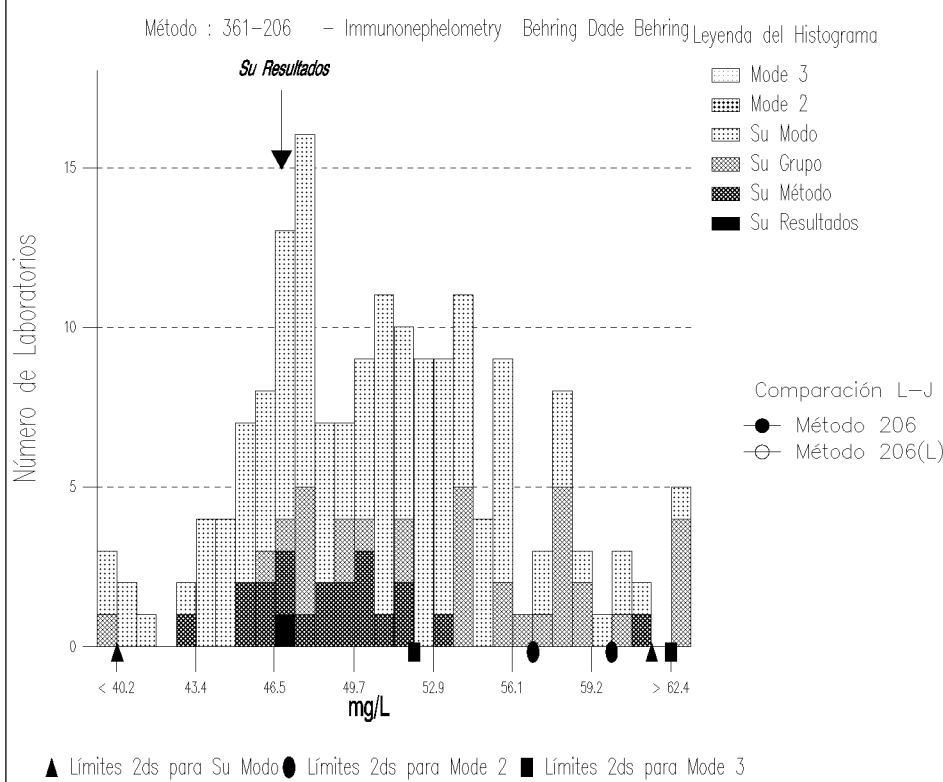
Fecha de la muestra : 13/09/10

QFB ELIZABETH GUZMAN VAZQUEZ  
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA  
AV. INSURGENTES SUR 3700  
COLONIA: CIUCUILCO  
C.P.  
D.F.  
04530  
MEXICO

4492

Su Res.: **46.8** mg/L

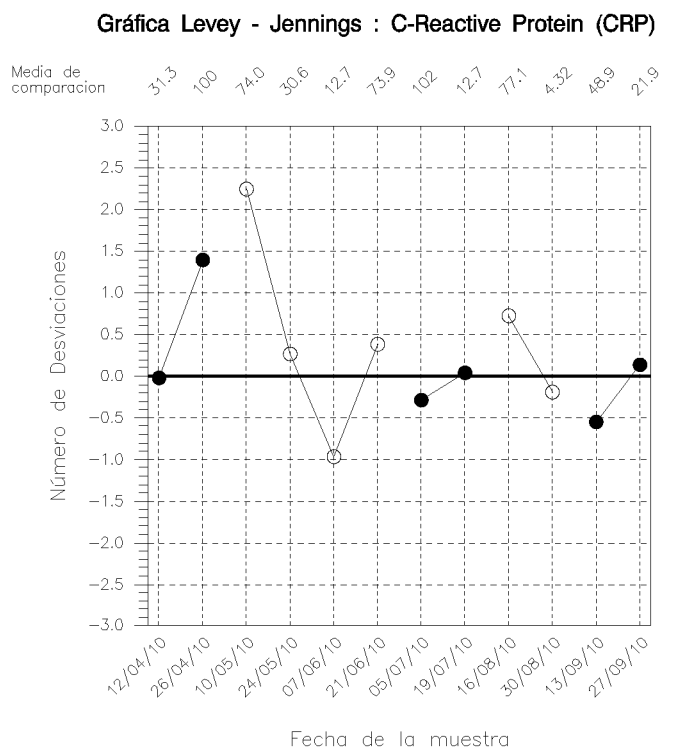
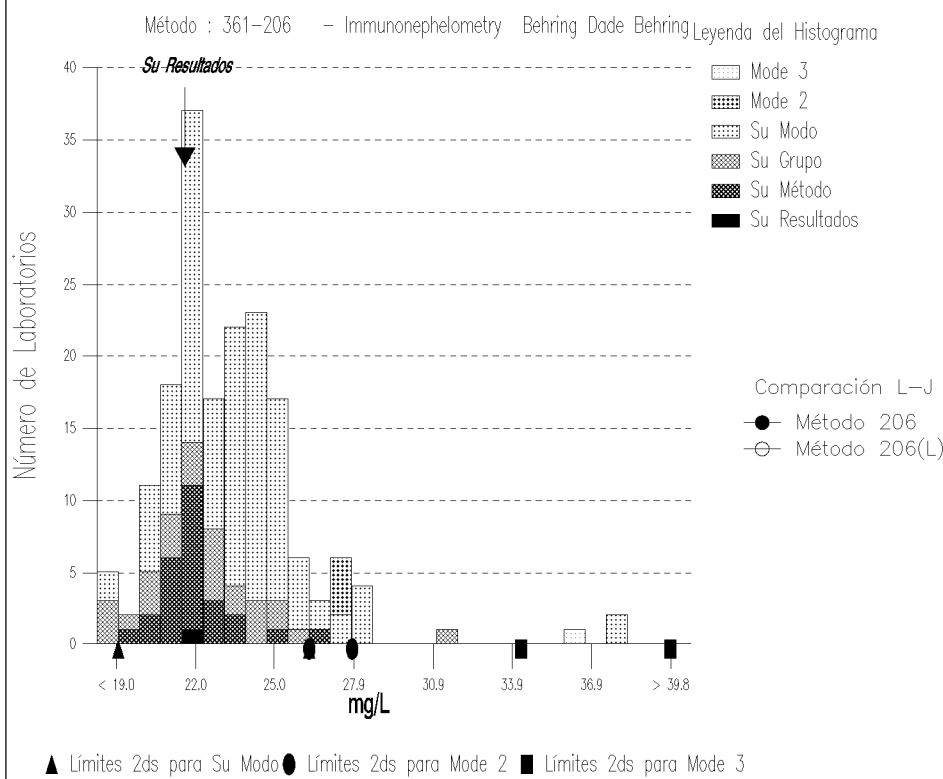
	Resultados			Resultados Excluidos	Su desviación de la media		Valoración Clínica		
	Aceptados	Media	SD		SDI	%	Bajo	Normal	Elevado
Su Modo	172	51.0	5.43	0	-0.78	-8.3	0	0	49
Su Grupo	54	52.4	6.33	0	-0.88	-10.7	0	0	14
Su Método	21	48.9	3.84	0	-0.56	-4.4	0	0	6
Mode 2	8	58.7	0.86	0			0	0	0
Mode 3	3	57.4	2.48	0			0	0	0





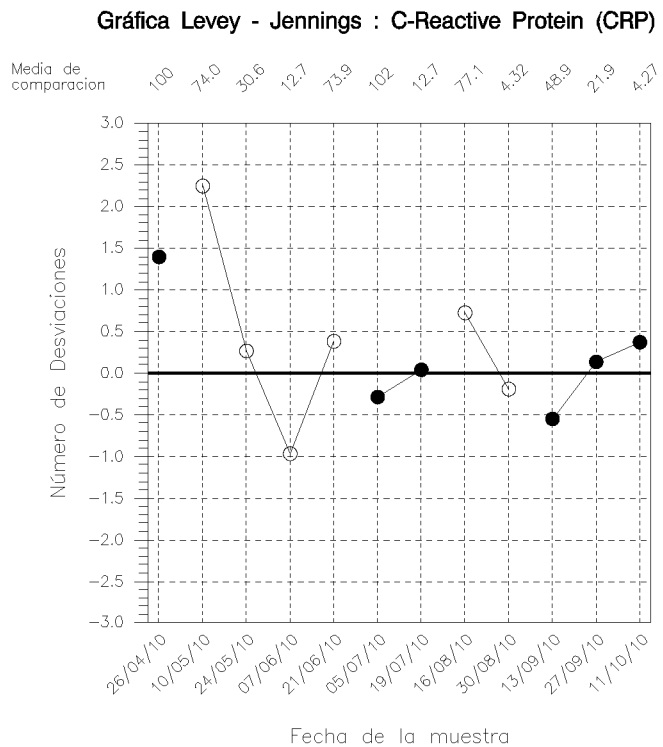
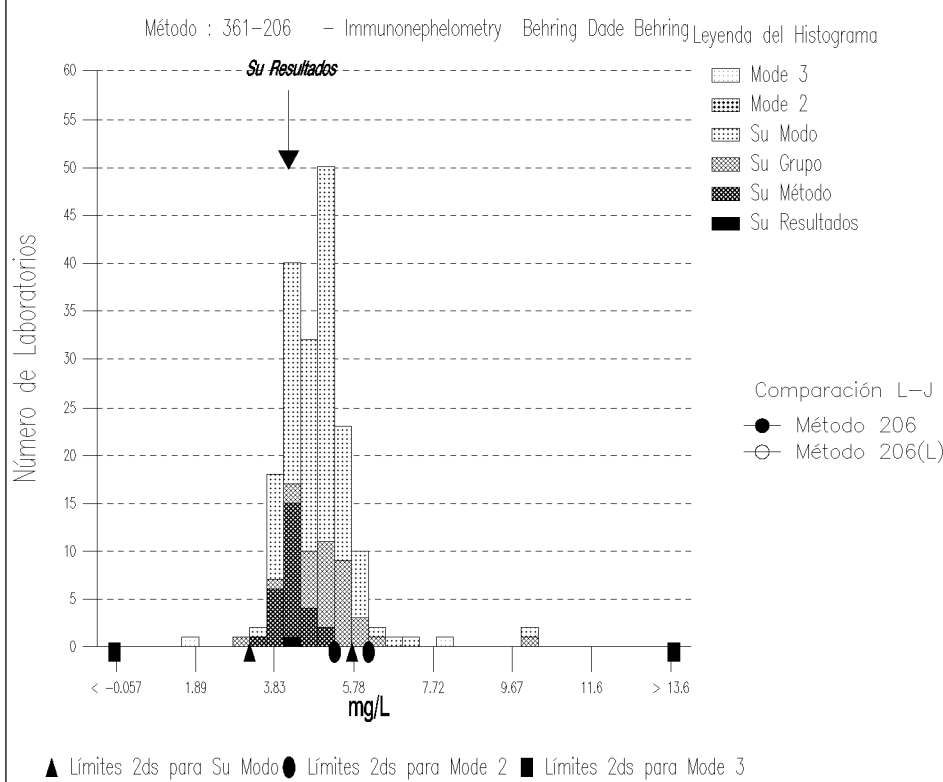
Su Res.: **22.1** mg/L

	Resultados			Resultados Excluidos	Su desviación de la media		Valoración Clínica		
	Acceptados	Media	SD		SDI	%	Bajo	Normal	Elevado
Su Modo	165	23.0	1.97	5	-0.44	-3.7	1	1	48
Su Grupo	51	22.1	1.71	3	+0.00	+0.0	0	0	15
Su Método	27	21.9	1.51	0	+0.13	+0.9	0	0	8
Mode 2	7	27.4	0.45	0			0	0	0
Mode 3	2	37.0	1.41	0			0	0	0



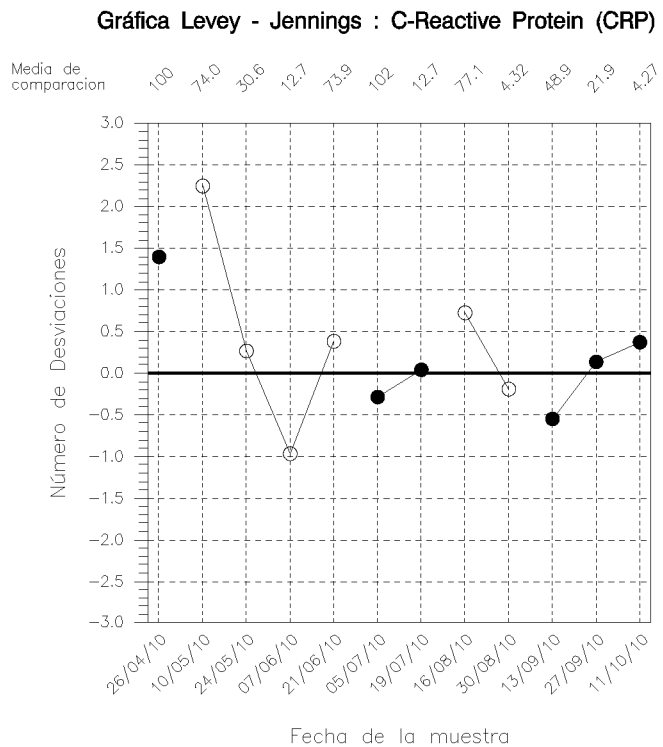
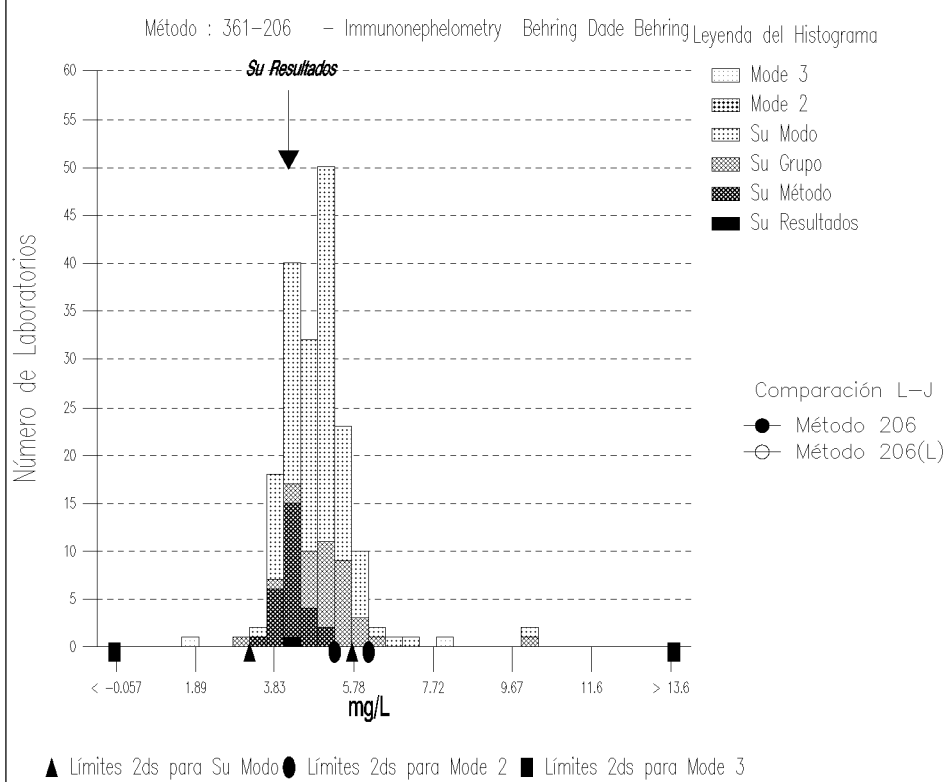
Su Res.: **4.4** mg/L

	Resultados			Resultados Excluidos	Su desviación de la media		Valoración Clínica		
	Acceptados	Media	SD		SDI	%	Bajo	Normal	Elevado
Su Modo	180	4.81	0.651	2	-0.62	-8.5	2	39	10
Su Grupo	60	4.73	0.676	1	-0.49	-6.9	0	15	4
Su Método	28	4.27	0.345	0	<b>+0.37</b>	<b>+3.0</b>	0	8	3
Mode 2	8	5.91	0.291	0			0	0	0
Mode 3	4	6.75	3.403	0			0	1	0



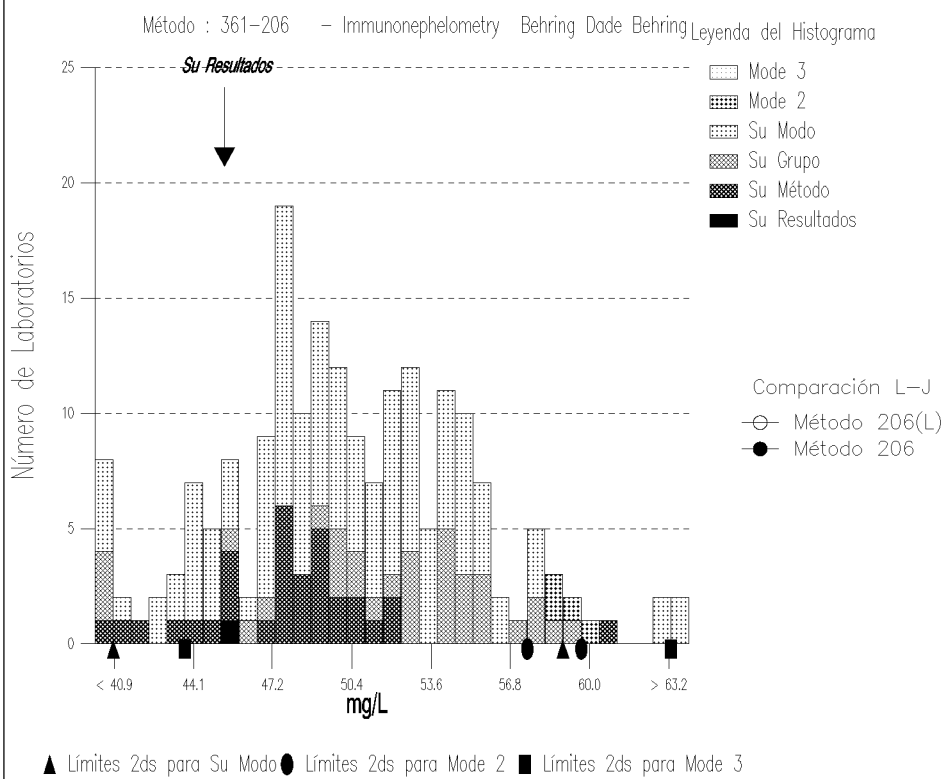
Su Res.: **4.4** mg/L

	Resultados			Resultados Excluidos	Su desviación de la media		Valoración Clínica		
	Acceptados	Media	SD		SDI	%	Bajo	Normal	Elevado
Su Modo	180	4.81	0.651	2	-0.62	-8.5	2	39	10
Su Grupo	60	4.73	0.676	1	-0.49	-6.9	0	15	4
Su Método	28	4.27	0.345	0	<b>+0.37</b>	<b>+3.0</b>	0	8	3
Mode 2	8	5.91	0.291	0			0	0	0
Mode 3	4	6.75	3.403	0			0	1	0

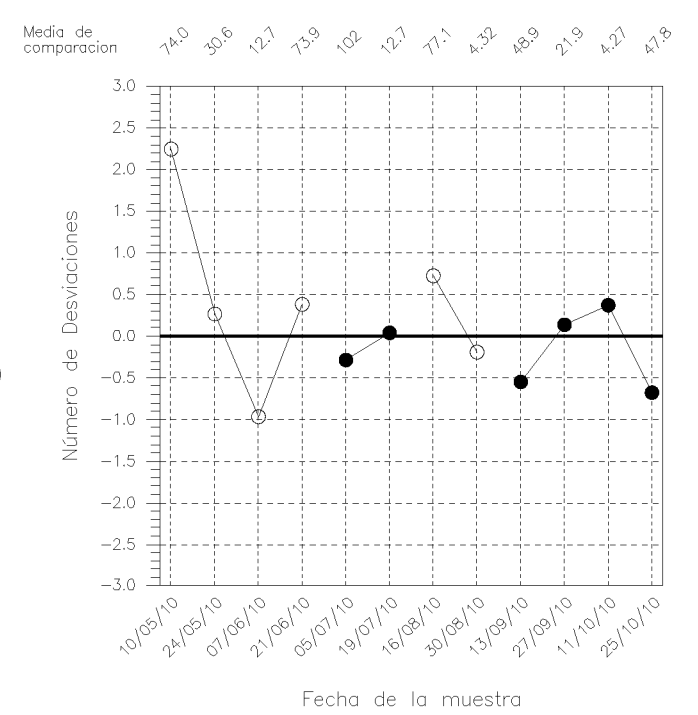


Su Res.: **45.2** mg/L

	Resultados			Resultados Excluidos	Su desviación de la media		Valoración Clínica		
	Aceptados	Media	SD		SDI	%	Bajo	Normal	Elevado
Su Modo	185	50.2	4.65	4	-1.07	-9.9	0	0	53
Su Grupo	66	50.1	4.75	1	-1.02	-9.7	0	0	17
Su Método	33	47.8	3.81	0	-0.68	-5.4	0	0	10
Mode 2	6	59.0	0.56	0			0	0	0
Mode 3	4	53.8	4.72	0			0	0	1



Gráfica Levey - Jennings : C-Reactive Protein (CRP)



Bio-Rad Laboratories

Inmunoensayo

Número de Muestra: 7

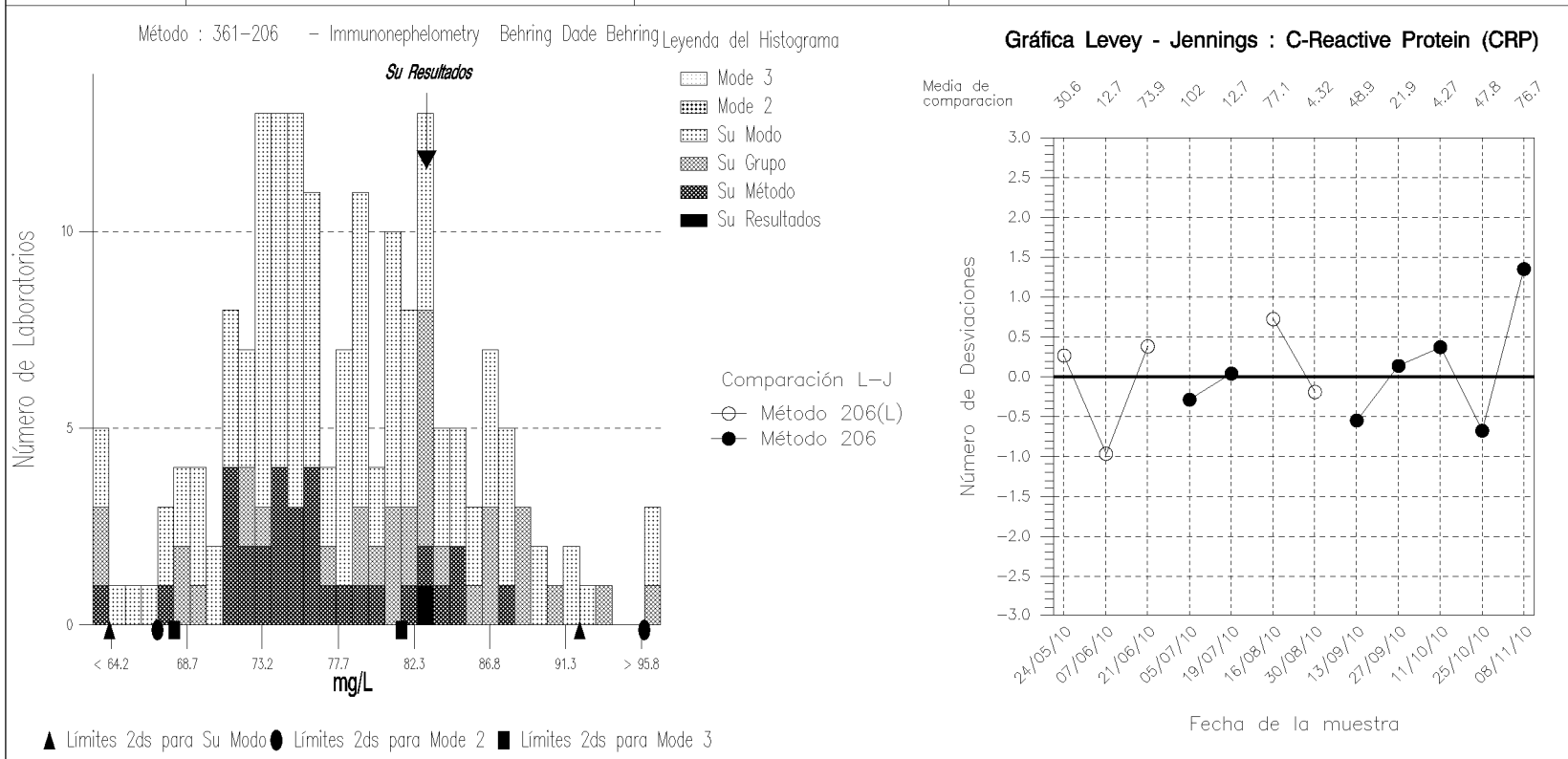
Número de Laboratorio: 4492

49 : C-Reactive Protein (CRP)

Fecha de la muestra: 08/11/10

Su Res.: **83.1** mg/L

	Resultados			Resultados Excluidos	Su desviación de la media		Valoración Clínica		
	Aceptados	Media	SD		SDI	%	Bajo	Normal	Elevado
Su Modo	179	78.4	7.09	2	+0.67	+6.1	1	2	46
Su Grupo	65	78.8	7.55	1	+0.57	+5.5	0	0	17
Su Método	31	76.7	4.78	1	<b>+1.35</b>	<b>+8.4</b>	0	0	9
Mode 2	4	81.9	6.99	0			0	0	0
Mode 3	3	75.0	3.46	0			0	0	0

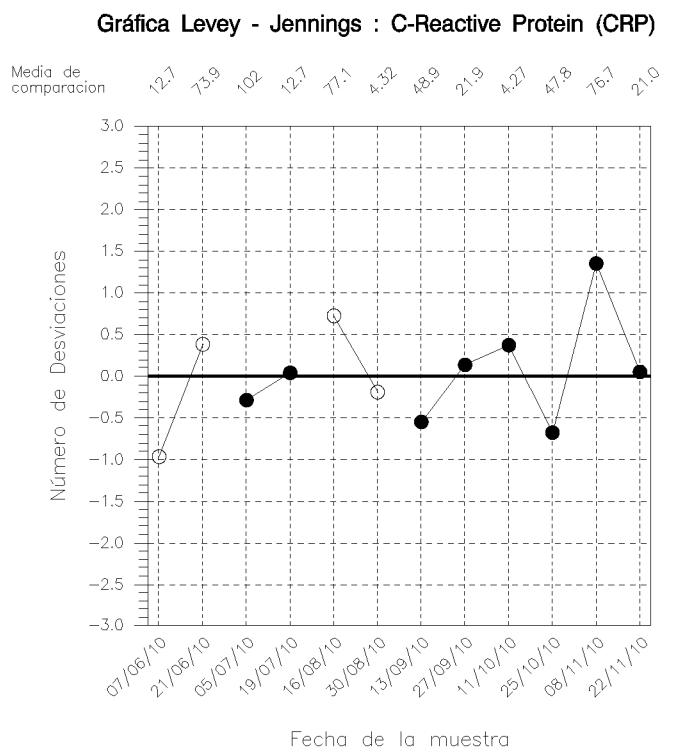
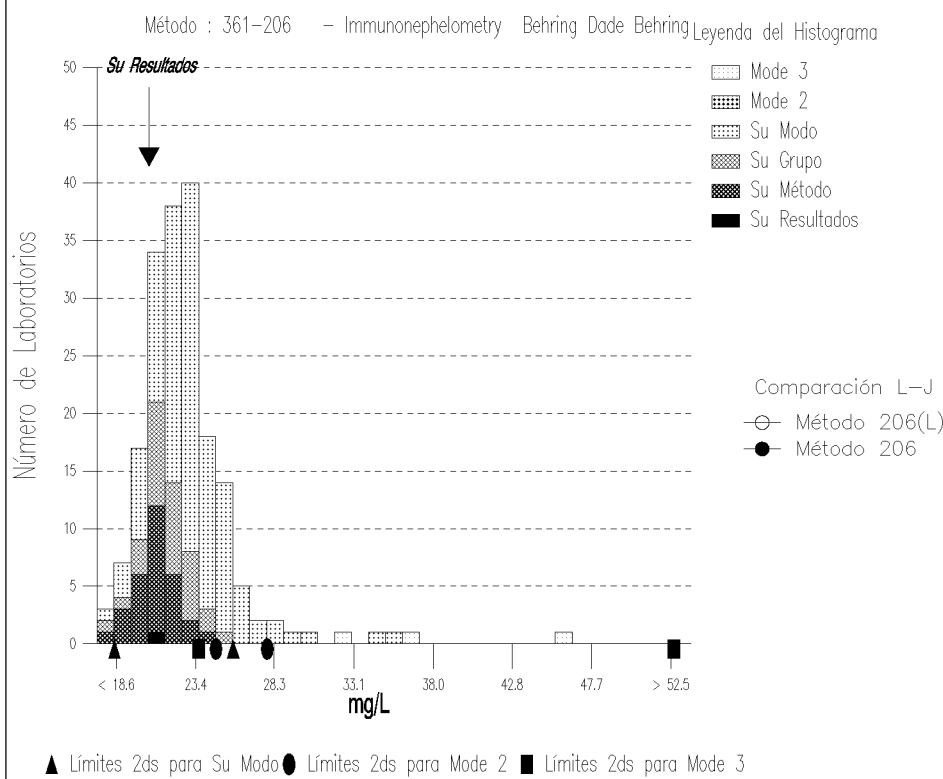


Número de Muestra: 7

Fecha de la muestra: 08/11/10

Su Res.: **21.1** mg/L

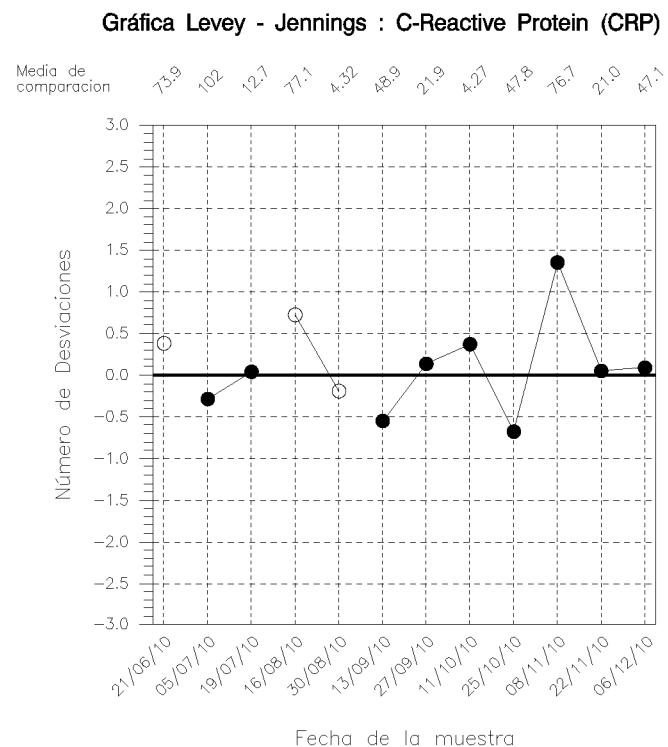
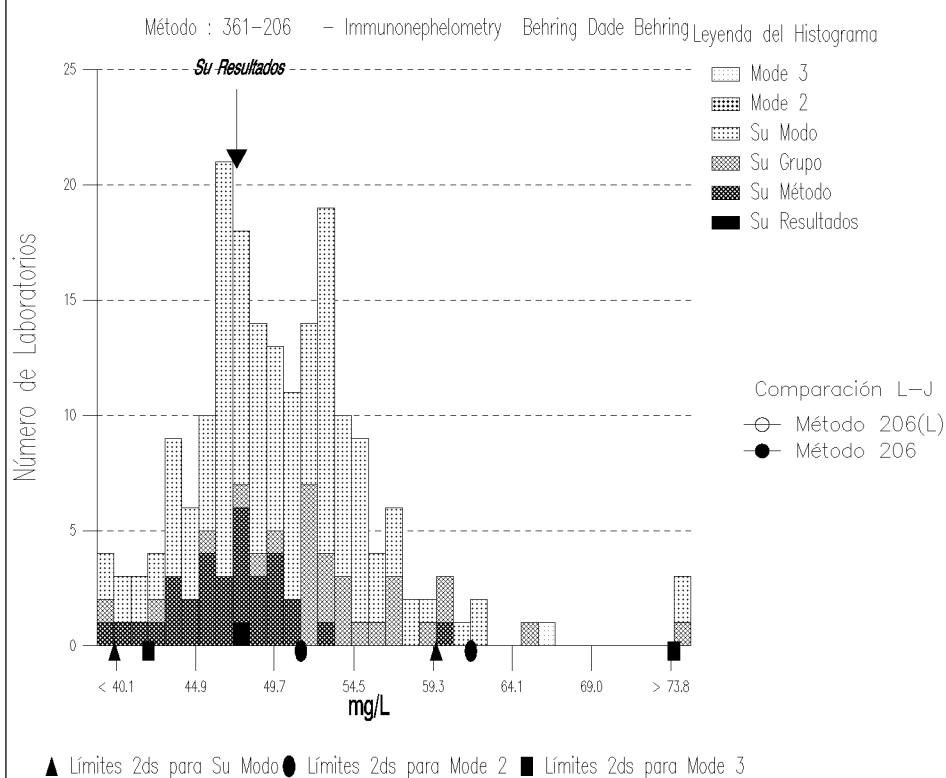
	Resultados			Resultados Excluidos	Su desviación de la media		Valoración Clínica		
	Aceptados	Media	SD		SDI	%	Bajo	Normal	Elevado
Su Modo	181	22.6	1.98	3	-0.73	-6.4	0	1	42
Su Grupo	62	21.5	1.5	0	-0.23	-1.6	0	0	13
Su Método	31	21.0	1.35	0	+0.05	+0.3	0	0	7
Mode 2	8	26.8	0.97	0			0	0	0
Mode 3	3	38.3	7.09	0			0	0	0



49  
 Número de Muestra: 8  
 Fecha de la muestra: 22/11/10  
 C-Reactive Protein (CRP)  
 49

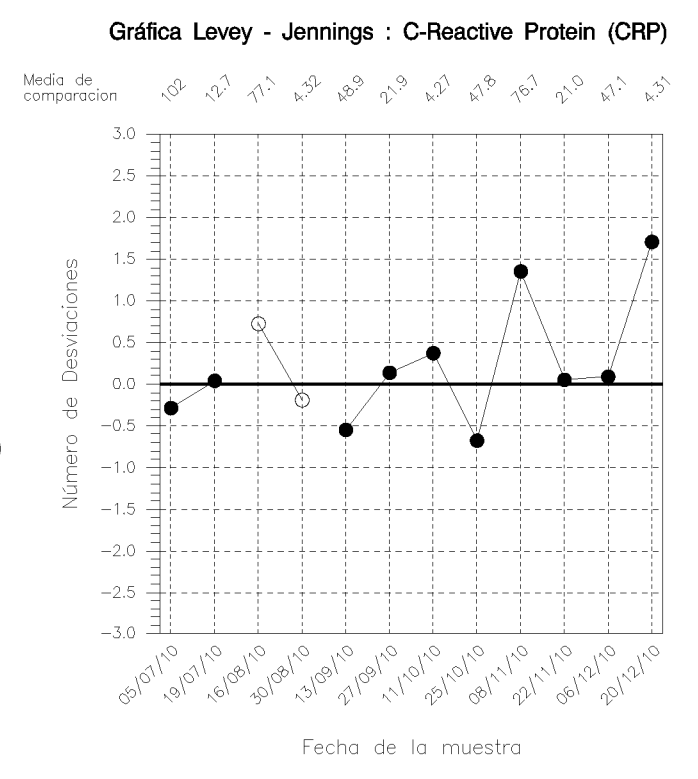
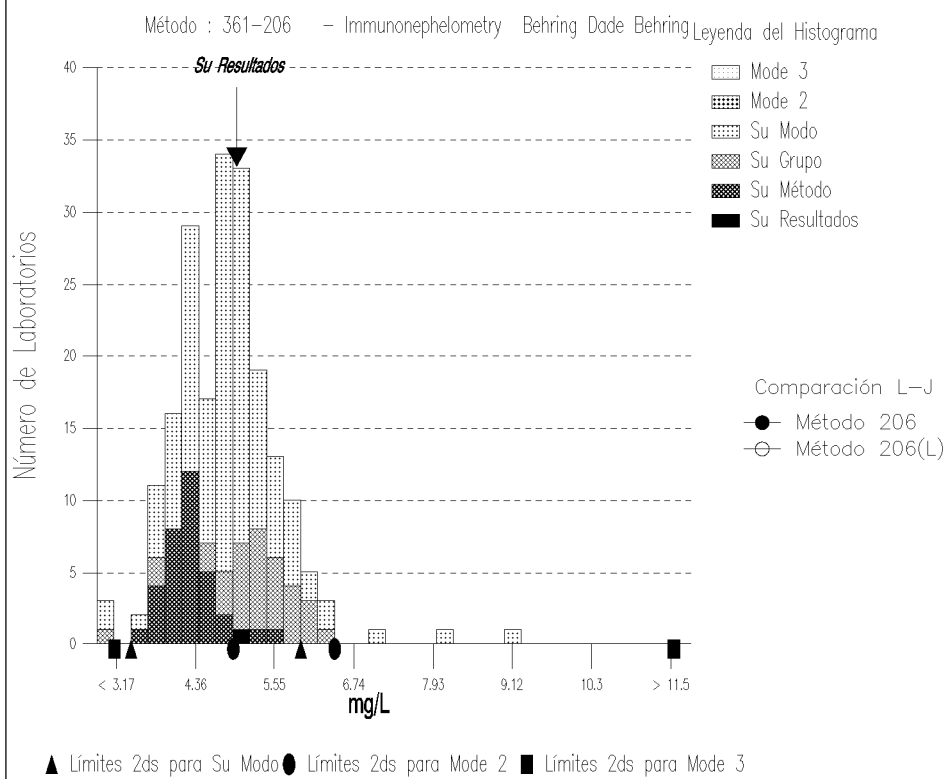
Su Res.: **47.4** mg/L

	Resultados			Resultados Excluidos	Su desviación de la media		Valoración Clínica		
	Aceptados	Media	SD		SDI	%	Bajo	Normal	Elevado
Su Modo	189	49.8	4.88	3	-0.49	-4.8	0	0	46
Su Grupo	61	49.7	5.52	1	-0.42	-4.6	0	0	11
Su Método	33	47.1	3.87	0	+0.08	+0.7	0	0	6
Mode 2	8	56.6	2.55	0			0	0	0
Mode 3	4	58.3	7.76	0			0	0	0



Su Res.: **5.0** mg/L

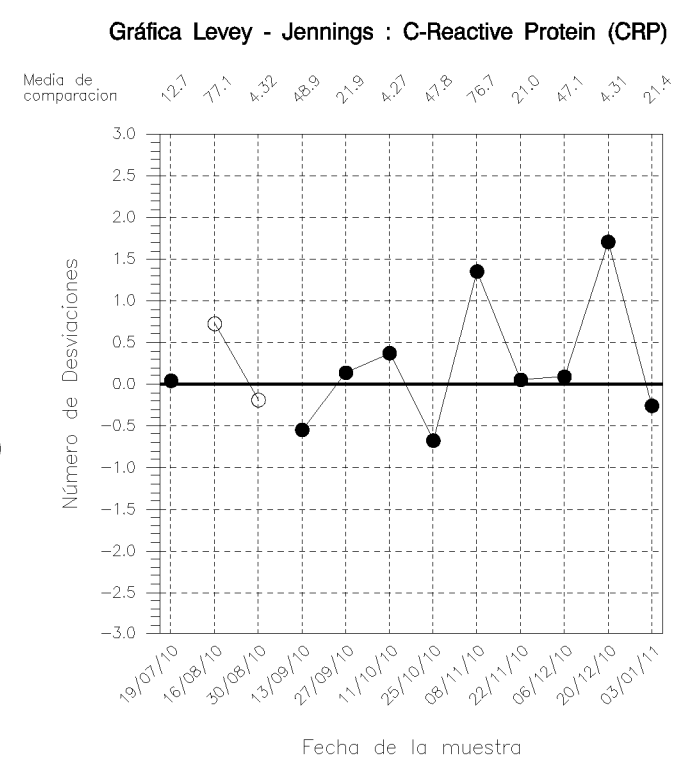
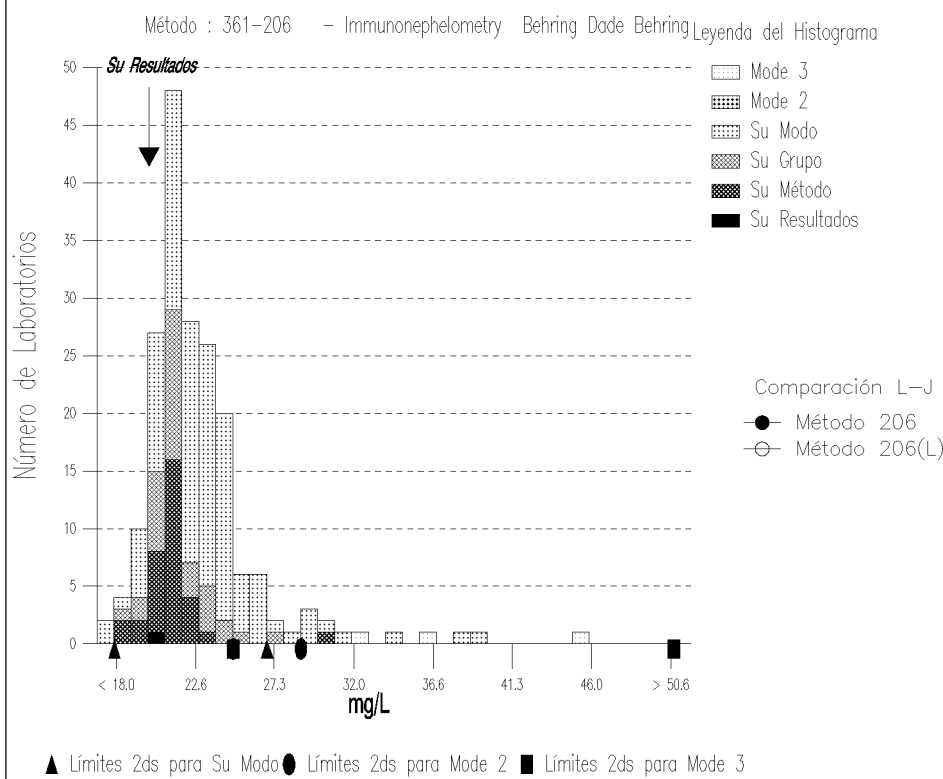
	Resultados			Resultados Excluidos	Su desviación de la media		Valoración Clínica		
	Aceptados	Media	SD		SDI	%	Bajo	Normal	Elevado
Su Modo	196	4.80	0.654	2	+0.31	+4.2	3	38	5
Su Grupo	69	4.75	0.698	0	+0.35	+5.2	2	11	1
Su Método	35	4.31	0.404	0	<b>+1.70</b>	<b>+16.0</b>	1	5	0
Mode 2	8	5.81	0.397	0			0	0	0
Mode 3	3	7.33	2.082	0			0	0	0





Su Res.: **20.9** mg/L

	Resultados			Resultados Excluidos	Su desviación de la media		Valoración Clínica		
	Acceptados	Media	SD		SDI	%	Bajo	Normal	Elevado
Su Modo	184	22.4	2.23	5	-0.69	-6.9	0	1	50
Su Grupo	68	21.6	1.84	0	-0.40	-3.4	0	0	15
Su Método	34	21.4	1.92	0	-0.27	-2.4	0	0	8
Mode 2	5	27.2	0.86	0			0	0	0
Mode 3	3	37.9	6.37	0			0	0	0



49  
 C-Reactive Protein (CRP)  
 Número de Muestra: 11  
 Fecha de la muestra: 03/01/11  
 49

## Certificate of Traceability Assigned Values

This is to certify the traceability of the assigned values of the product listed below to a reference material.

The uncertainty of the assigned value for this product was calculated according to the ISO norm 17511 by using a coverage factor of two. Expressing the uncertainty by a coefficient of variation can be done by dividing the given uncertainty by two.

Product	<b>N Rheumatology Standard SL</b>
Product Code	<b>OQKZ</b>
Parameter	<b>C Reactive Protein</b>
Unit	<b>mg/L</b>
Device for usage of assigned value	<b>BN Systems</b>
Reference material	<b>ERM-DA470</b>
Measuring method used for value assignment	<b>nephelometry</b>
Uncertainty of assigned values [%]	<b>5,80</b>

Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH

*This document was produced by means of an electronic system, therefore without signature*

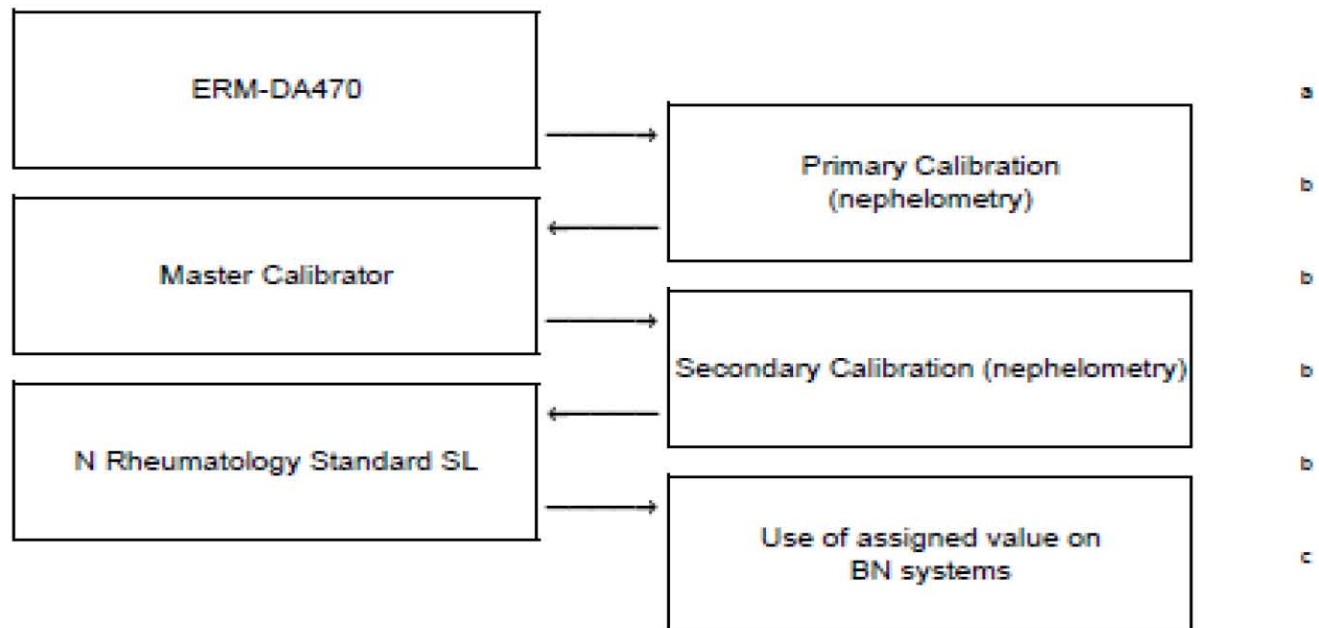
## Traceability Chart

This is to certify the traceability chain of the assigned values of the product listed below to a reference material.

Product	<b>N Rheumatology Standard SL</b>
Product Code	<b>OQKZ</b>
Parameter	<b>C Reactive Protein</b>
Unit	<b>mg/L</b>

### Materials & Procedures

### Section<sup>1)</sup>



<sup>1)</sup> a - External material / procedure  
b - Siemens Healthcare Diagnostics Internal  
c - Use of assigned value by customer

Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH

*This document was produced by means of an electronic system, therefore without signature*