



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

**VERIFICACIÓN DEL DESEMPEÑO DEL PERFIL REUMÁTICO EN EL
INSTRUMENTO BN PROSPEC MEDIANTE LA GUÍA PARA LA VALIDACIÓN Y LA
VERIFICACIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS DE EXAMEN CUANTITATIVOS
EMPLEADOS POR EL LABORATORIO CLÍNICO DE LA ema**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

JOAQUÍN APOLO RIVERA ÁVILA

DIRECTOR: QFB GABRIELA OLAY FUENTES
ASESOR: DRA. MARTHA ASUNCIÓN SÁNCHEZ RODRÍGUEZ

SEPTIEMBRE DE 2013



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.

ÍNDICE

RESUMEN	4
I INTRODUCCIÓN	5
II MARCO TEÓRICO	
2.1 LABORATORIO CLÍNICO	8
2.2 CALIDAD	8
2.3 VALIDACIÓN Y VERIFICACIÓN DE MÉTODOS	10
2.3.1 Validación	10
2.3.2 Verificación	11
2.4 PROCEDIMIENTO DE VERIFICACIÓN PARA PROCEDIMIENTOS CUANTITATIVOS	11
2.4.1 Linealidad	12
2.4.2 Precisión	12
2.4.3 Veracidad	13
2.4.4 Incertidumbre	14
3.0 PRINCIPIOS DE FUNCIONAMIENTO DEL INSTRUMENTO BNP	14
3.1 INMUNOENSAYOS	14
3.2 NEFELOMETRÍA	15
4.0 PERFIL REUMÁTICO	17
4.1 Proteínas de fase aguda	17
4.1.1 Proteína C Reactiva	17
4.1.2 Antiestreptolisinas	18
4.1.3 Factor Reumatoide	19
III PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
IV OBJETIVOS	21
V METODOLOGÍA	22
5.1 PROCEDIMIENTO PARA EVALUAR LA LINEALIDAD	22
5.2 PROCEDIMIENTO PARA EVALUAR LA PRECISIÓN	23
5.2.1 Evaluación de la precisión intradía	23
5.2.2 Evaluación de la precisión interserial o interdiaria	23
5.3 PROCEDIMIENTO PARA EVALUAR LA VERACIDAD	24

5.4 PROCEDIMIENTO PARA EVALUAR LA INCERTIDUMBRE	24
VI RESULTADOS	26
6.1 Linealidad	26
6.2 Precisión intradiaria	28
6.3 precisión interdiaria	29
6.4 Veracidad	30
6.5 Incertidumbre	31
VII DISCUSION DE RESULTADOS	33
VIII CONCLUSIONES	37
IX BIBLIOGRAFÍA	38

RESUMEN

Antecedentes: Para garantizar la certidumbre y valor clínico a los resultados de laboratorio es necesaria la certificación y acreditación de su sistema de calidad y una de las guías para acreditar a un laboratorio han sido emitidas por la Entidad Mexicana de Acreditación. Por otra parte, el perfil reumático está conformado por la medición de tres proteínas: antiestreptolisinas, factor reumatoide y proteína C reactiva, necesarias para el esclarecimiento de las enfermedades reumáticas, de ahí que sea necesario garantizar los resultados con parámetros de calidad establecidos.

Objetivo: Verificar con base en la guía para la validación y verificación de los procedimientos cuantitativos empleados en el laboratorio clínico establecida por la ema, si el equipo de nefelometría de Siemens BN ProSpec cumple con los requisitos técnicos para su uso en la determinación de proteínas del perfil reumático (factor reumatoide, proteína C reactiva y antiestreptolisina).

Métodos: Se llevó a cabo la determinación de la linealidad, precisión intradiaria e interdiaria, veracidad e incertidumbre siguiendo la guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico, de la Entidad Mexicana de Acreditación, emitida en el año 2008, para las tres determinaciones.

Resultados: La linealidad para los tres parámetros fue aceptable, obteniéndose un valor de $r^2 = 0.998$ para antiestreptolisinas; $r^2 = 0.999$ para factor reumatoide y $r^2 = 0.9997$ para proteína C reactiva. La precisión intradiaria fue menor a lo estipulado en todos los parámetros, excepto en el nivel 1 para factor reumatoide; y la precisión interdiaria mostró un coeficiente de variación menor al 10% en todas las determinaciones. La veracidad y la incertidumbre fueron aceptables para todos los analitos.

Conclusiones: El equipo BN Prospec mostró solidez y confiabilidad en los resultados durante la evaluación de los parámetros indicados por la guía de la Entidad Mexicana de Acreditación.

I INTRODUCCIÓN

Dentro de las pruebas de laboratorio existe el llamado perfil reumatoide o reumático, que incluye tres determinaciones: factor reumatoide, proteína C reactiva y antiestreptolisinas.

La artritis reumatoide y la fiebre reumática son enfermedades que en conjunto afectan a más del 1% de la población mundial, y que comparten ciertos signos característicos como son la pericarditis y la poliartritis.

El término reumático se refiere a aquella afección que compromete en forma aguda o crónica las funciones del sistema musculo esquelético. Las enfermedades reumáticas son un ejemplo de desórdenes crónicos definidos resultantes de una interacción de múltiples factores relacionados con el huésped (raza, edad, sexo, genéticos) y de agentes ambientales, principalmente agentes infecciosos. Las enfermedades reumáticas se caracterizan por:

- ▣ Ser enfermedades crónicas en su mayoría.
- ▣ Producir una alta morbilidad y discapacidad.
- ▣ Modificar la vida de relación del paciente y su calidad de vida.
- ▣ Producir un alto costo social, institucional e individual

Por lo anterior es necesario identificar a los portadores de estas enfermedades así como llevar un tratamiento y monitorear que esté funcionando.

Existen criterios definidos por el Colegio Americano de Reumatología (*American College of Rheumatology*) y por la liga Europea contra el Reumatismo (*European League Against Rheumatism*), que involucran a los exámenes de laboratorio como parte de la clasificación para diagnosticar la artritis reumatoide.

Dentro de estos exámenes se encuentra el factor reumatoide cuya presencia en altas cantidades equivale a tres puntos de seis para diagnosticar a un paciente con la enfermedad. Otra prueba que involucra un punto son las proteínas de fase aguda, en especial la proteína C reactiva. Esta última prueba también es utilizada, como un criterio base para la detección de la fiebre reumática, de acuerdo a los criterios de Jones: que

Indican como criterios menores de la cantidad de protepina C reactiva circulante en sangre y el título de anticuerpos anti-estreptococo circulante.

Otra implicación de la proteína C reactiva es como un marcador de inflamación y como un fuerte predictor de enfermedad cardiovascular, ya que se ha demostrado que la proteína C reactiva tiene un papel como patrón de reconocimiento para el sistema inmune innato. La Asociación Americana /American Hearth Association, [AHA]) y el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (Center of Disease Control, [CDC]) la consideran como un fuerte factor de riesgo en pacientes que no tienen antecedentes de enfermedad cardiovascular y un marcador independiente de eventos recurrentes, incluyendo infarto al miocardio y muerte.

La AHA también establece dentro de sus criterios para el diagnóstico de la fiebre reumática conocidos como criterios de Jones modificados, la presencia o elevación de los títulos de antiestreptolisina O y la presencia y elevación de proteínas de fase aguda como es la proteína C reactiva.

Es importante considerar el papel del laboratorio en el diagnóstico de estas enfermedades, ya que gracias al avance de la tecnología, se ha incrementado la sensibilidad y la especificidad de los métodos, así como su fácil adquisición para la población en general.

Debido a esta importancia es deber del laboratorio clínico, del personal de salud que en él labora y de los proveedores de los equipos e insumos para el diagnóstico, el dar certidumbre a los resultados que se obtienen a partir del análisis en el laboratorio.

Una de las estrategias que se emplean para dar certidumbre y valor clínico a los resultados de laboratorio es la certificación y acreditación a través de un sistema de calidad. Existen diversos sistemas de calidad de los cuales algunos son de carácter obligatorio y otros son de carácter optativo.

Dentro de los sistemas de calidad de carácter optativo el sistema ISO, basado en la norma ISO 9000, es el más aceptado a nivel mundial; este sistema incluye un apartado en el que se indica que como parte de la planificación e implementación todo método utilizado debe ser verificado y/o validado, para asegurarse que el método utilizado es capaz de satisfacer los requisitos para su aplicación específica.

La entidad mexicana de acreditación (ema) es una instancia creada en el año de 1999 con el fin de satisfacer la evaluación de la conformidad de acuerdo a la ley federal sobre metrología y normalización 1997, la ema es hoy por hoy el principal organismo acreditador en México en cuanto a laboratorios clínicos se refiere; con base en esto, la ema emite constantemente guías que son de utilidad para aquellos laboratorios que deseen alcanzar la acreditación de sus procesos de medición.

Una de la guías en la cual la ema se basa para acreditar que un laboratorio tenga pruebas implementadas que garanticen la calidad de un resultado es la “guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico” emitida en el año 2008.

II MARCO TEÓRICO

2.1 LABORATORIO CLÍNICO

El laboratorio clínico juega un papel muy importante en la salud. Pero ¿qué tan importante es el laboratorio clínico?, se estima que 70% de las decisiones médicas están basadas en resultados del laboratorio.

El propósito del laboratorio es proveer a los médicos y otros profesionales de la salud con información para: (1) detectar una enfermedad o la predisposición a la enfermedad, (2) confirmar o rechazar una enfermedad, (3) establecer un pronóstico, (4) guiar el manejo del paciente; y (5) monitorear la eficacia de un tratamiento.¹

2.2 CALIDAD

La calidad según la definición de la ISO (*International Standard Organization*) es “el grado en el que un conjunto de características inherentes a un producto cumple con los requisitos”.²

Sin embargo, para la Organización Mundial de la Salud (OMS), la definición va mas allá del simple hecho de cumplir con los requisitos; la OMS define calidad de la siguiente manera: “el conjunto de servicios diagnósticos y terapéuticos más adecuado para conseguir una atención sanitaria óptima, teniendo en cuenta todos los factores y conocimientos del paciente y del servicio médico, y lograr el mejor resultado con el mínimo riesgo de efectos iatrogénicos, y la máxima satisfacción del paciente con el proceso”.³

Para asegurarse de que las determinaciones llevadas a cabo en el laboratorio clínico son ciertas y fiables el laboratorio debe mostrar evidencia de que todos y cada uno de los procesos que en él se llevan a cabo se encuentran bajo estándares de calidad establecidos, para este propósito se utilizan sistemas de gestión de calidad, que le permiten al laboratorio evaluarse a través de una instancia certificadora, y así obtener una certificación o mejor aun obtener una acreditación.

Una certificación de acuerdo a lo expuesto en la norma ISO 9001: 2000 es el registro de conformidad de los requisitos contenidos en una norma, mientras que la acreditación

es el procedimiento mediante el cual un organismo autorizado da el reconocimiento formal de que una organización o persona es competente para llevar a cabo tareas específicas.²

Para poder asegurar el proceso de calidad en el laboratorio es preciso contar con guías, o normas que faciliten establecer los criterios y las especificaciones del sistema de calidad, para este cometido existen diversas opciones dentro de las que se encuentran las de tipo gubernamental u obligatorias que en México es la Norma Oficial Mexicana NOM 166 Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos; así como opciones no obligatorias y de carácter internacional como son las normas ISO, que en este caso es la norma ISO 15189 Requisitos particulares para la calidad y competencia de los laboratorios médicos, (*Medical laboratories - Particular requirements for quality and competence*).^{4, 5}

En México existe una versión adaptada de esta última norma denominada NMX 15189, que no es de carácter obligatorio, sin embargo es de suma utilidad si un laboratorio clínico desea poseer la acreditación.

La Entidad Mexicana de Acreditación (ema), como su nombre lo indica, es la organización que tiene la autoridad de realizar una acreditación en la República Mexicana, esta organización emite guías que permiten a los laboratorios del país obtener su acreditación.

Una de ellas es la guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos, empleados por el laboratorio clínico; que tiene por objetivo establecer las directrices para llevar a cabo la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos que se realizan en el laboratorio clínico.⁶

Existen otros organismos internacionales que también crean y establecen guías para este cometido como es el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI antes NCCLS) que creó un conjunto de normas para llevar a cabo la validación y/o verificación de métodos analíticos, como son las guías EP5, EP6 y EP12.⁷⁻¹¹

2.3 VALIDACIÓN Y VERIFICACIÓN DE MÉTODOS

La norma ISO 15189 en su apartado 5.5.1 especifica que “El laboratorio debe seleccionar procedimientos de examen los cuales cumplan las necesidades y requerimientos de los usuarios y del uso apropiado para llevar a cabo la determinación. Así como del personal que lleva a cabo la determinación, estos procesos deben ser registrados.

Los requisitos específicos para la determinación deben estar relacionados de acuerdo a:

- ▣ Procedimientos que han sido publicados en libros establecidos y autorizados.
- ▣ Textos de revisión o revistas científicas
- ▣ Consensos internacionales
- ▣ Guías o estándares, regulaciones nacionales o regionales.

2.3.1 Validación

En el punto 5.5.1.1 de la norma ISO 15189 se indica que:

El laboratorio debe usar únicamente procedimientos que hayan sido validados y sean adecuados para su uso previsto.

El laboratorio debe validar procedimientos que deriven de las siguientes fuentes:

- ▣ Métodos no estandarizados.
- ▣ Métodos diseñados o desarrollados por el laboratorio.
- ▣ Métodos estandarizados que se utilicen fuera de su uso previsto
- ▣ Métodos validados modificados.

La validación debe ser tan extensa como sea necesario y confirmar a través de evidencia objetiva (a través de las “características del funcionamiento”), que los requerimientos específicos (a través de “especificaciones de funcionamiento”) para el uso previsto del procedimiento de medición han sido satisfechos.

Entre las “características de funcionamiento” se incluyen: veracidad, precisión, reproducibilidad, incertidumbre, especificidad analítica, interferencias, sensibilidad analítica, límite de detección y límite de cuantificación (linealidad), especificidad diagnóstica y sensibilidad.⁶

2.3.2 Verificación

Los procedimientos de medida que se utilizan sin modificaciones deben estar sujetos a una verificación antes de ser introducidos en el uso rutinario.

Cuando los procedimientos han sido validados por el fabricante, el laboratorio debe obtener la información del proveedor que confirme las características de funcionamiento del procedimiento.

La verificación debe entonces confirmar, a través de evidencia objetiva que las demandas de funcionamiento han sido alcanzadas. Las demandas de funcionamiento durante la verificación del procedimiento de medida deben por lo tanto ser aquellas relevantes para el uso previsto. El laboratorio debe documentar el procedimiento usado para la verificación y registrar los resultados obtenidos⁴.

2.4 PROCEDIMIENTO DE VERIFICACIÓN PARA PROCEDIMIENTOS CUANTITATIVOS

De acuerdo a lo establecido en la guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico una verificación se debe aplicar a todos los procedimientos de examen cuantitativos, aún cuando dichos procedimientos ya estén implementados previamente en el laboratorio, así como, cada vez que se cambie, modifique o se implemente un método de examen.⁵

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.

Una verificación de acuerdo a la guía de la EMA debe incluir los parámetros siguientes:⁶

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

2.4.1 Linealidad

El termino linealidad indica la correspondencia lineal entre el valor obtenido y el valor convencionalmente verdadero.

La evaluación de la linealidad nos permite determinar dentro del intervalo analítico de los procedimientos de medición implementados por un laboratorio, los resultados máximo y mínimo que pueden ser reportados.¹²

El experimento de linealidad involucra una serie de muestras de concentración conocida o una serie de diluciones conocidas de muestras altamente concentradas. Las mediciones o los valores de las pruebas reportadas son comparados con los valores asignados o los valores de dilución. La linealidad es obtenida al trazar la mejor línea recta que toque la mayor cantidad de puntos

Debe considerarse que dicha verificación debe tocar los puntos de decisión clínica, entendiéndose éstos como las concentraciones o actividades de los analitos donde el médico decide entre administrar o no algún tratamiento terapéutico.⁶

2.4.2 Precisión

Para conocer el valor de una magnitud se emplea un procedimiento de medición, y los resultados que se obtienen son una estimación del valor del mensurando. Tal

estimación contiene un error de medida, que es la diferencia entre el valor obtenido y el valor verdadero del mensurando.

Para identificar la precisión en los procedimientos analíticos se deben realizar mediciones repetidas y aplicar algunos conceptos estadísticos fundamentales como el cálculo de la media (\bar{X}), la desviación estándar (DE), la desviación estándar relativa (DER), el coeficiente de variación (%CV) y la varianza (s^2).

La precisión involucra la repetibilidad (análisis intracorrida) y la reproducibilidad (intercorrida). Las condiciones de repetibilidad (precisión intradiaria) son bajo las cuáles se obtienen resultados independientes, con el mismo método, en muestras idénticas, en el mismo laboratorio, por el mismo operador, y utilizando los mismos componentes del sistema de medida, durante un corto intervalo de tiempo y sin calibraciones entre las mediciones. Las de precisión interdiaria son las que señalan la precisión observada en un laboratorio a partir de resultados obtenidos en días diferentes.^{13, 14}

2.4.3 Veracidad

Veracidad es el grado de concordancia entre el valor medio de una serie de muchos resultados de medida y un valor verdadero¹⁵

La veracidad se relaciona con la presencia de errores de tipo sistemático, también llamado “sesgo” o “desviación”; que puede expresarse como un valor absoluto o relativo al valor verdadero.

Para verificar la veracidad de los métodos cuantitativos que se emplean en el laboratorio clínico, se pueden utilizar las siguientes herramientas:

- ▣ Valoración de un material de referencia certificado
 - a) Valoración por el cálculo del error relativo
 - b) Valoración por el cálculo de porcentaje de recuperación
- ▣ Estudios de comparación de métodos
- ▣ Estudios de comparación interlaboratorios con base en los resultados de programas de ensayos de aptitud.

2.4.4 Incertidumbre

La Incertidumbre de una medición está definido como un parámetro que caracteriza una dispersión de valores dentro del cual estaría el resultado de un medición, que razonablemente podría ser atribuido al mensurando.¹⁶

Al realizar la validación o verificación de un método debe incluirse la estimación de la incertidumbre. La estimación de la incertidumbre del resultado final de medición deberá considerar las contribuciones de incertidumbre significativas y que no se encuentren incluidas en el diseño de la validación. Por ejemplo, preparación del paciente, muestreo, tipo de matriz, preparación de la muestra, entre otras.

Se deberán considerar por lo menos la incertidumbre proveniente del material de referencia (calibrador, ajustador, material de referencia certificado) y la incertidumbre de la medición (datos de repetibilidad, del control diario, precisión intermedia).

Si se cuenta con los datos de las mediciones de control de calidad interno se debe proceder como en el caso anterior y si no se tiene la información de la concentración y la incertidumbre del material de calibración, se debe considerar únicamente la contribución de la incertidumbre de la medición. Por ejemplo cuando se utilizan calibradores electrónicos o ajustadores fotométricos.

En los programas formales de comparación interlaboratorio, es común que el organizador, informe un valor de índice de desviación (ID) o una puntuación del índice de varianza (PIV), este dato será empleado para calcular el error cuadrático medio (ECM) que corresponde al valor de la incertidumbre de la medición.⁶

3.0 PRINCIPIOS DE FUNCIONAMIENTO DEL INSTRUMENTO BN PROSPEC

3.1 INMUNOENSAYOS

Un inmunoensayo es la mezcla de un antígeno con un anticuerpo con la formación de un complejo, seguido de la discriminación entre la cantidad de reactivos ligados contra los reactivos libres.¹⁷

Existe diversidad de inmunoensayos disponibles cada uno con ventajas y desventajas frente a otros.

3.2 NEFELOMETRÍA

La nefelometría consiste en medir el efecto de la dispersión de la radiación por partículas en disolución o suspensión, midiéndose la potencia radiante de la radiación dispersada en un ángulo diferente de la dirección de la radiación incidente. El detector se sitúa en un ángulo igual o menor a 90° , respecto al eje horizontal (Figura 1).

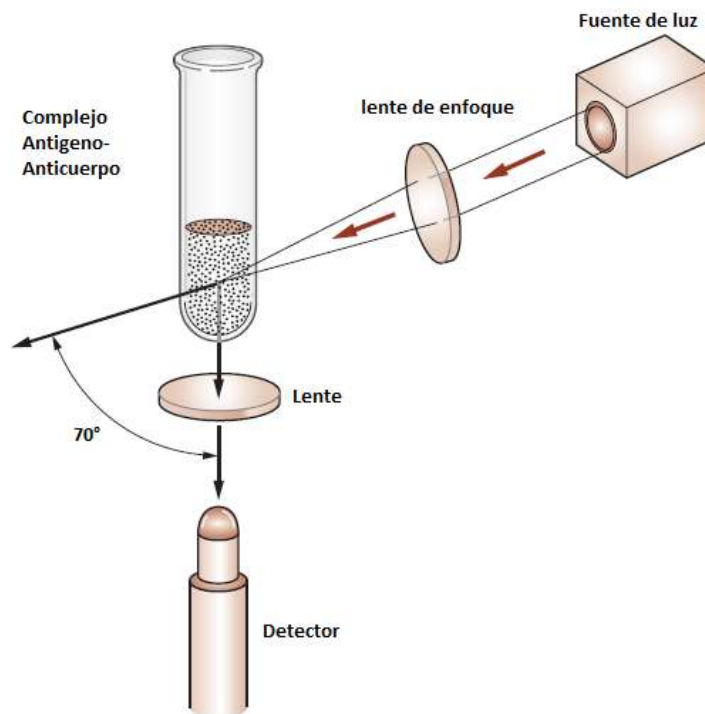


Figura 1. Fundamento del inmunoensayo nefelométrico¹⁸.

El instrumento BN ProSpec utiliza el método de inmunonefelometría en el que partículas de poliestireno recubiertas de anticuerpos específicos contra el analito se agregan al mezclarse con muestras que contienen el analito a determinar. Estos complejos dispersan un haz de luz proyectado a través de la muestra. La intensidad de la luz dispersada es proporcional a la concentración de la proteína correspondiente en la muestra. Evaluando el resultado mediante una comparación con un estándar conocido.

El equipo BN ProSpec de Siemens realiza determinaciones cuantitativas en especímenes de suero, sangre o líquido cefalorraquídeo, utiliza un sistema óptico nefelométrico que mide la dispersión de luz a través de una cubeta, la dispersión de la luz es directamente proporcional a la concentración de proteínas.

La muestra del paciente se combina con un reactivo con especificidad para la proteína buscada en la muestra, el reactivo es un antisuero que actúa como anticuerpo específico contra la proteína buscada.

El equipo diluye la muestra debido a que la cantidad de antígeno en la muestra sin diluir es desconocida, mientras la cantidad de anticuerpo en el reactivo es conocida, por lo tanto cuando las mismas cantidades de líquido se mezclan juntas en la cubeta, solamente se conoce la cantidad de anticuerpo.

Cuando una cantidad conocida de anticuerpo se mezcla con una cantidad desconocida del antígeno se excede el umbral de la medición lo que indica que existe una cantidad excesiva de antígeno en comparación con el anticuerpo. Cuando la reacción causa que la medición sobrepase el umbral el analizador realizará la misma determinación con una porción de la muestra diluida y con la misma cantidad de reactivo. Este procedimiento se repite con diluciones mayores hasta que la medición es menor al umbral.

Para poder evaluar cuantitativamente una medición inmunonefelométrica es necesaria una curva de referencia para cada determinación de proteína. Esto se realiza mediante el uso de un estándar de concentración conocida, el equipo lo diluye y combina con el correspondiente reactivo, cuando el equipo realiza la medición puede saber cuál es la cantidad medida con respecto a la cantidad de proteína en la cubeta.

Debido a que la concentración del estándar y el factor de dilución son conocidos el sistema puede calcular la concentración de cada dilución del estándar, con estos valores realiza una curva que grafica los valores medidos en el eje de las Y contra la concentración en el eje de las X utilizando una escala logarítmica.

Si la curva fuera perfecta entonces no habría diferencia entre la concentración conocida y la concentración basada en la curva, debido a que la curva es afectada por las variaciones en la dilución y el pipeteo la concentración teórica y la concentración

medida pueden diferir, esta diferencia se expresa como una desviación en cada punto, el promedio de estas desviaciones genera la “desviación media”.¹⁹

4.0 PERFIL REUMÁTICO

4.1 PROTEÍNAS DE FASE AGUDA

La respuesta de fase aguda es la actividad fisiopatológica que acompaña a la inflamación. Las proteínas cuya concentración se modifica un 25% en la inflamación se consideran reactantes de fase aguda. Éstas pueden aumentar, como es el caso de la ceruloplasmina, complemento, proteína C reactiva (PCR), amiloide A, fibrinógeno, alfa-1 antitripsina, haptoglobina y ferritina, o descender, como la albúmina, transferrina y trastirretina. Muchas de estas proteínas se sintetizan en el hígado por el estímulo de citocinas.

4.1.1 Proteína C reactiva

La proteína C reactiva (PCR) es una glicoproteína producida por el hígado, que normalmente se encuentra ausente en la sangre. La presencia de inflamación aguda con destrucción de tejidos estimula su producción, por lo tanto una PCR indica la presencia de un proceso inflamatorio. Cuando la inflamación aguda ya no está presente, la PCR se disipa del cuerpo. La PCR típicamente se eleva dentro de las seis horas del comienzo de la inflamación.²⁰

Existen dos tipos de PCR que pueden ser medidos. La PCR estándar que se usa para evaluar que tan activa es la inflamación en procesos crónicos como es la colitis, artritis, y enfermedades autoinmunes; para evaluar una nueva infección como en el caso de apendicitis y trauma postoperatorio y para monitorear la respuesta a estas condiciones. El otro tipo de PCR es la proteína C reactiva de alta sensibilidad, la cual se considera un marcador de bajo grado de inflamación vascular, siendo un factor clave en el desarrollo de la ruptura de la placa ateromatosa. Una PCR elevada predice eventos coronarios futuros, enfermedad vascular periférica, y diabetes tipo 2, por lo que este estudio es usado para evaluar el riesgo de problemas cardiovasculares en conjunto con otros estudios como la medición de niveles de colesterol.²¹

4.1.2 Antiestreptolisinas

La fiebre reumática (FR) y la posterior enfermedad cardíaca reumática son enfermedades del tejido conjuntivo relativamente comunes causadas por el *Streptococcus pyogenes*. Se ha descrito el mimetismo molecular, principalmente entre la proteína M y las propias estructuras, como el principal mecanismo para el desarrollo de FR aguda después de una faringitis estreptocócica. La proteína M y otros antígenos aún no muy bien definidos de la célula bacteriana han sido relacionados con una reacción cruzada con proteínas humanas que tienen estructuras enrolladas, como la miosina, la tropomiosina y las proteínas valvulares. Además de la aparente reacción cruzada entre los anticuerpos anti-estreptococos, la inmunología de la FR es complicada por los anticuerpos cardíacos bajo la forma de inmunoglobulinas que se unen al miocardio y endocardio, como también por otros anticuerpos circulantes en el suero que se une contra estructuras cardíacas. En la FR se ha descrito una amplia variedad de respuestas por anticuerpos. Dicha respuesta puede estar relacionada con la hiperactivación de los linfocitos B o con las reacciones cruzadas dependientes de antígenos.

La estreptolisina O es una enzima producida por el Estreptococo β hemolítico del grupo A. Cuando el cuerpo se confronta a esta enzima se producen anticuerpos contra ella. Estos anticuerpos aparecen 7 a 10 días después de la infección estreptocócica aguda y continúan elevándose en las siguientes 2 a 4 semanas. Los niveles de antiestreptolisinas generalmente decaen hasta el mismo nivel preinfección en 6 a 12 meses. El ensayo de Antiestreptolisinas O está diseñado para detectar estos anticuerpos, si los anticuerpos están presentes, entonces esa persona tiene una infección estreptocócica.^{20, 22}

Más del 80% de los pacientes con fiebre reumática aguda, y de ellos el 95% con glomerulonefritis estreptocócica aguda, tienen también elevados los anticuerpos antiestreptolisinas; los niveles, sin embargo, no se elevan en infecciones cutáneas.

4.1.3 Factor reumatoide

La artritis reumatoide es una enfermedad inflamatoria crónica progresiva del tejido conectivo, la cual afecta ampliamente las pequeñas articulaciones periféricas como las de los dedos; aunque la destrucción articular es a menudo mencionada. La artritis reumatoide es una enfermedad sistémica que puede afectar otros sistemas del cuerpo, ocurre una reacción autoinmune en el tejido sinovial que provoca hinchazón, dolor, calor, eritema y pérdida de la función de la articulación. Durante el proceso inflamatorio los anticuerpos se combinan para formar complejos inmunes, los cuáles se depositan en el tejido sinovial, desencadenando una reacción inflamatoria que lleva al daño observado en las articulaciones de los pacientes con artritis reumatoide. Una de las pruebas diagnósticas para la artritis reumatoide es el factor reumatoide, una inmunoglobulina presente en más del 80% de los pacientes con esta enfermedad; sin embargo, una prueba positiva de factor reumatoide puede ocurrir en otras enfermedades, ya que el anticuerpo es producido por el tejido sinovial y aparece en enfermedades autoinmunes, del tejido conectivo y en infecciones crónicas. Los títulos bajos no sugieren diagnóstico de artritis reumatoide y son observados en 4% de los individuos normales y hasta 20% de los ancianos sanos.^{20, 23}

Dada la importancia en el diagnóstico de las proteínas componentes del perfil reumático, es necesario que el laboratorio clínico cuente con procedimientos válidos, confiables y acreditados para asegurar el resultado al paciente, de ahí el interés por desarrollar el presente trabajo.

III PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad los métodos diagnósticos han evolucionado de manera formidable aumentando su sensibilidad y especificidad, aunado a esto gran cantidad de decisiones clínicas y terapéuticas se sustentan en los resultados emitidos por el laboratorio clínico; sin embargo, conforme avanza la tecnología también avanza la necesidad de conocer si estos resultados son realmente confiables y útiles, es por esto que el laboratorio debe demostrar que todos y cada uno de los puntos que implican el proceso analítico (etapa pre-analítica, analítica y post analítica) se encuentran dentro de una serie de criterios altamente controlados y estandarizados que aseguran su utilidad y conveniencia.

El laboratorio demuestra esto mediante la acreditación de sus procesos analíticos, son de especial interés los procesos cuantitativos ya que ellos confieren una mayor información al médico y al paciente acerca de su estado de salud, de la respuesta ante un tratamiento y de la necesidad de un ajuste en el abordaje terapéutico.

Es importante demostrar competencia en la etapa analítica, ya que en ella se generan los resultados que serán de utilidad clínica, y es en la que juegan un papel importante una serie de factores que pudieran interferir en la correcta obtención de los resultados. Por lo que demostrar que el instrumento que realiza la medición es confiable es una de las etapas más importantes para obtener una acreditación.

Mediante el uso de la guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico de la ema, el laboratorio puede asegurar que el instrumento utilizado para realizar la medición cumple con los requisitos para el uso específico para el que fue diseñado.

Por lo tanto, en este proyecto se necesita saber si: ¿Cumple el equipo de nefelometría BN ProSpec de Siemens con los requisitos técnicos para la determinación de las proteínas séricas del perfil reumático de acuerdo a la guía de la ema?

IV OBJETIVOS

General:

Verificar con base en la guía para la validación y verificación de los procedimientos cuantitativos empleados en el laboratorio clínico establecida por la ema, si el equipo de nefelometría de Siemens BN ProSpec cumple con los requisitos técnicos para su uso en la determinación de proteínas del perfil reumático (factor reumatoide, proteína C reactiva y antiestreptolisina).

Particulares:

Conocer para cada una de las tres proteínas antes mencionadas los siguientes parámetros:

1. Linealidad
2. Precisión
3. Veracidad
4. Incertidumbre

V METODOLOGÍA

Se realizó la verificación del instrumento BN Prospec mediante los siguientes procesos:

5.1 PROCEDIMIENTO PARA EVALUAR LA LINEALIDAD

Para cada una de las proteínas del perfil reumático se llevó a cabo la evaluación de la linealidad, mediante el uso de calibradores designados para uso en el instrumento, se realizó una serie de diluciones con el calibrador más alto, obteniendo la determinación por triplicado para cada una de las diluciones. Para llevar a cabo las diluciones se empleó el multidiluyente estándar del equipo.

Las diluciones que se llevaron a cabo para el calibrador son: 100%, 75%, 50%, 25% y 0% V/V de calibrador en multidiluyente. Para llevar esto a cabo se utilizó el cuadro 1.

Cuadro 1. Preparación de las diluciones para el calibrador

Número de dilución	Proporción en volumen del calibrador	Proporción en volumen del multidiluyente
1 (100%)	Usar sin diluir	0
2 (75%)	3	1
3 (50%)	2	2
4 (25%)	1	3
5 (0%)	0	Usar sin diluir

Se construyó mediante el programa Microsoft Excel una gráfica en la que se evaluó la concentración obtenida en la cual el eje de las Y contiene los valores de la media aritmética de cada una de las determinaciones, y en el eje de las X los valores esperados de acuerdo a la concentración indicada del calibrador.

Se calculó la ecuación de la recta para los puntos dados, así como el coeficiente de correlación (pendiente), la gráfica resultante debe ser lineal, con un coeficiente de correlación de por lo menos 0.99 de acuerdo a la guía de la ema.

5.2 PROCEDIMIENTO PARA EVALUAR LA PRECISIÓN

Para evaluar la precisión se realizó la evaluación de dos niveles de control como se muestra en los siguientes apartados.

5.2.1 Evaluación de la precisión intradiaria

Se realizó una verificación de la precisión intradiaria evaluando dos niveles de control en 20 repeticiones a lo largo del mismo día.

5.2.2 Evaluación de la precisión interserial o interdiaria.

Se realizó la determinación de dos niveles de control a lo largo de 20 días.

Para ambos casos se realizó el cálculo de la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación. En este caso el coeficiente de variación debe ser menor al mostrado en el cuadro 2, según lo reportado en el inserto del reactivo²⁴⁻²⁶.

Cuadro 2. Interdiaria esperada.

Analito	Nivel 1	Nivel 2
	(%)	(%)
Antiestreptolisinas	2.3	2.7
Factor reumatoide	5.7	3.8
Proteína C reactiva	3.1	2.9

5.3 PROCEDIMIENTO PARA EVALUAR LA VERACIDAD

La veracidad de un método analítico se estima por medio del cálculo del error relativo, para lo cual se utiliza un material de referencia certificado (calibrador), cuyo valor asignado sea conocido y pueda determinarse como verdadero..

El cálculo del porcentaje de error relativo, se puede estimar mediante el cálculo inicial de la media aritmética desviación estándar y el coeficiente de variación de una muestra de suero usada, aplicando la siguiente fórmula:¹⁶

$$\% \text{ de error relativo} = \left[\frac{(\text{Valor real} - \text{Valor de la medición})}{\text{Valor real}} \right] * 100$$

Entre menor sea el porcentaje de error relativo mayor será la veracidad del método.

El criterio de aceptabilidad es que el valor del error relativo sea menor o igual al reportado por el fabricante del equipo.

5.4 PROCEDIMIENTO PARA EVALUAR LA INCERTIDUMBRE

En primer lugar se identificaran las fuentes de incertidumbre, teniendo en cuenta la variabilidad de la calibración de la prueba, la variabilidad del instrumento y variabilidad de la medición.

Para determinar la incertidumbre se realizó la búsqueda de la trazabilidad de los calibradores utilizados para la determinación de las proteínas séricas en la página del *Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine (Cal)*.⁶

Se realizó una medición de dos niveles de control para cada analito, la incertidumbre de la medición fue obtenida a partir del porcentaje de coeficiente de variación para cada uno de los niveles de control (C).

Se determinó el efecto del sesgo sobre la incertidumbre total utilizando los reportes generados en el CAP (Colegio Americano de Patólogos) de cada una de las pruebas, el sesgo fue medido en forma de porcentaje del índice de desviación estándar SDI obtenido por el laboratorio (SDI).

Obtenidos los valores de incertidumbre del calibrador, del equipo y del control se utilizó la siguiente fórmula para calcular la incertidumbre estándar combinada.

$$u_c = \sqrt{U(C)^2 + U(sdi)}$$

en donde:

U(C) es la incertidumbre del control

U(sdi) es el sesgo obtenido del control de calidad externa.

Para realizar el cálculo de la incertidumbre expandida se utilizó la siguiente fórmula:

$$U = u_c * k$$

Dónde:

U = Incertidumbre expandida

u_c = Incertidumbre estándar combinada

k = Factor de cobertura basado en el nivel de confianza (en este caso se utilizara una k de 2 para obtener un nivel de confianza de 0.95)¹⁷

VI RESULTADOS

6.1 Linealidad

Para llevar a cabo la determinación de la linealidad se utilizaron diluciones del calibrador N *Rheumatology Standard*. Para antiestreptolisinas se observó una línea recta con una $r^2 = 0.998$ y pendiente de 1.028 (Figura 2). La linealidad obtenida fue de 113 - 1635 IU/mL.

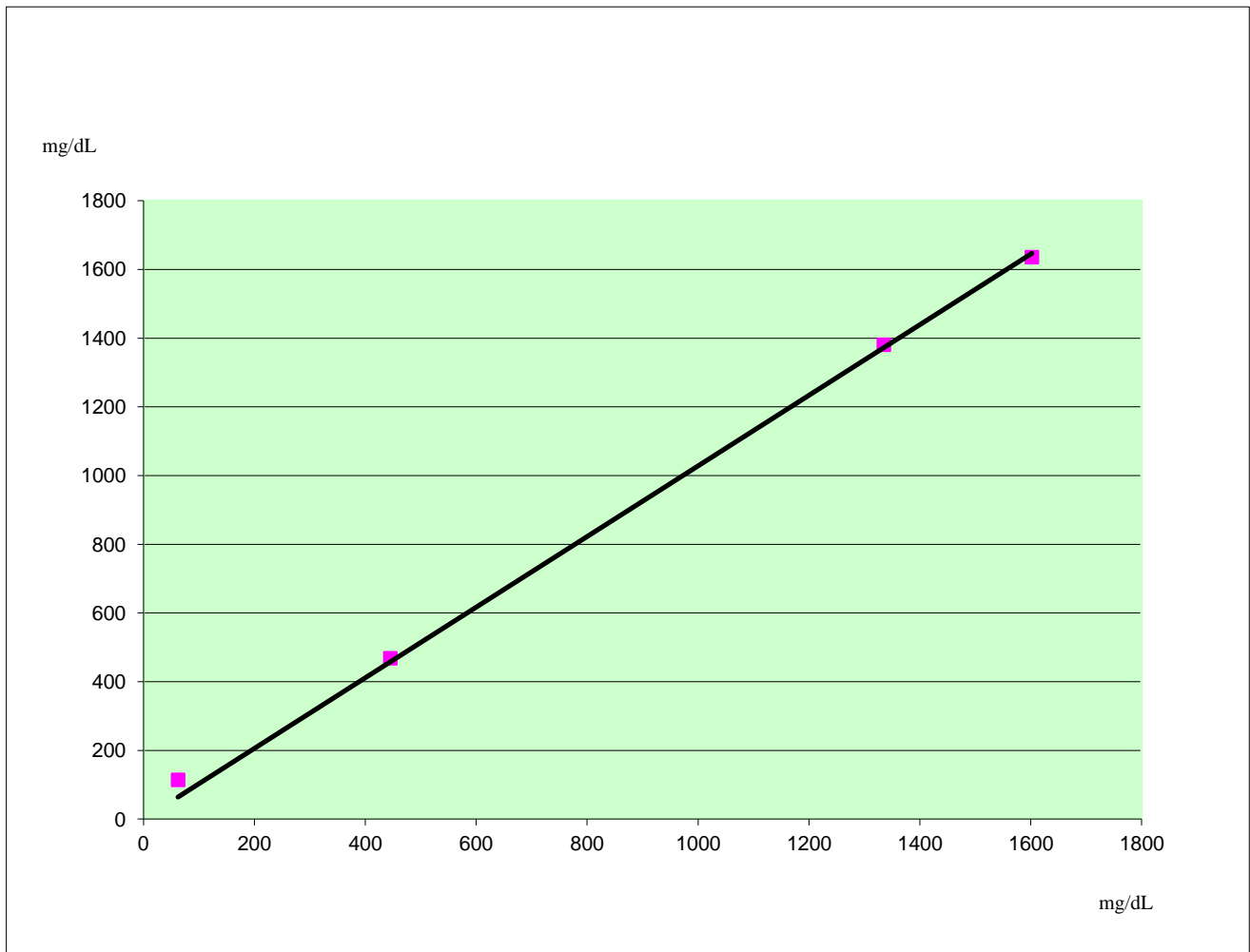


Figura 2. Linealidad para antiestreptolisinas, $r^2 = 0.998$, $p < 0.0001$.

Para el factor reumatoide se encontró una $r^2 = 0.999$ con pendiente de 0.884, en concentraciones de 18 - 556 IU/mL (Figura 3).

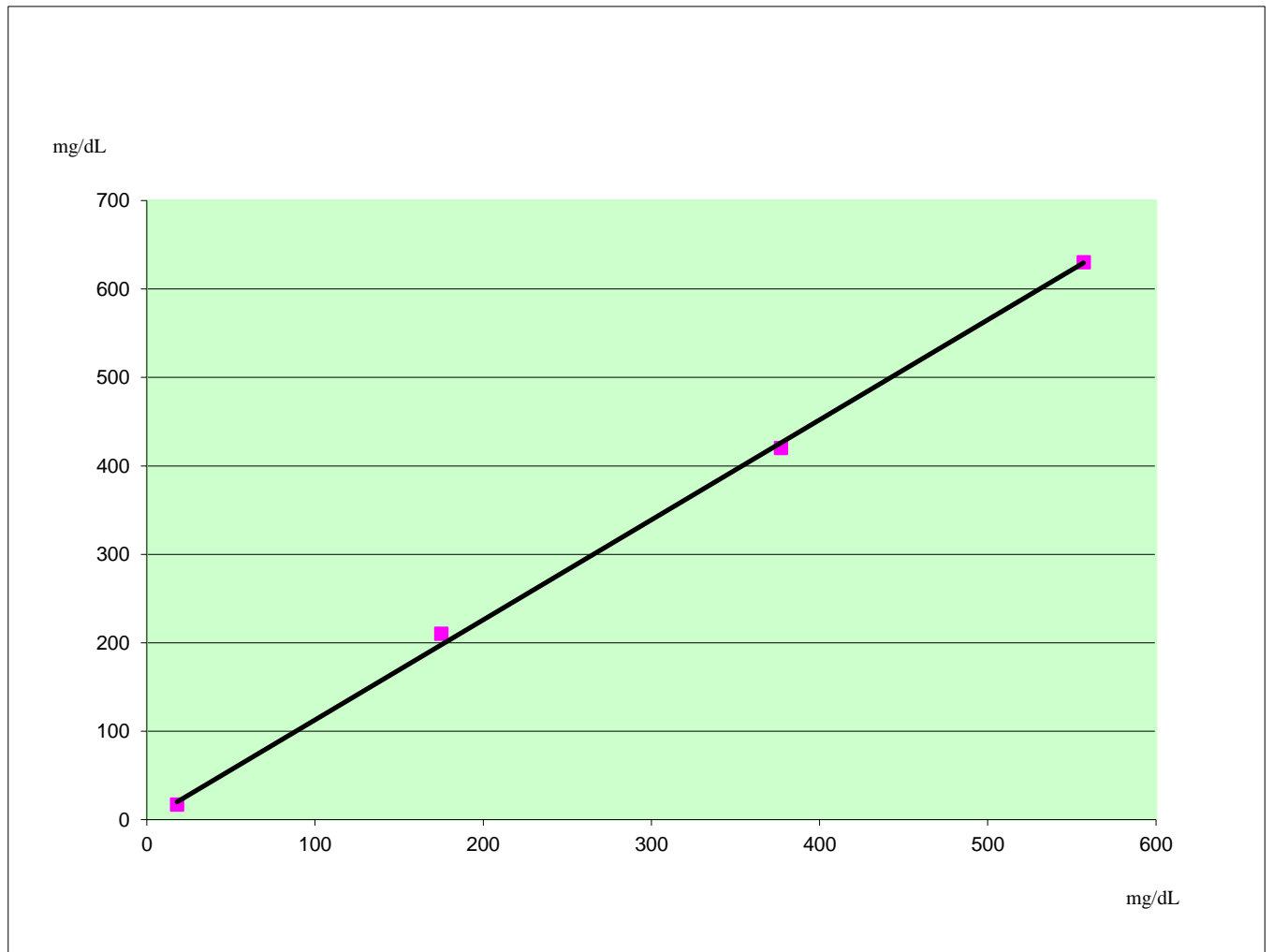


Figura 3. Linealidad para factor reumatoide, $r^2 = 0.999$, $p < 0.0001$.

En el caso de proteína C reactiva, se encontró la mejor asociación lineal con un valor de $r^2 = 0.9997$ y pendiente de 1.028, en concentraciones de 0.65 – 18.8 mg/dL (Figura 4).



Figura 4. Linealidad para proteína C reactiva, $r^2= 0.9997$, $p < 0.0001$.

6.2 Precisión intradiaria

Con relación a este punto, se observó que los coeficientes de variación obtenidos fueron menores a lo estipulado por la casa comercial, excepto en el nivel bajo para el factor reumatoide (cuadro 3).

Analito	Media	Desviación estándar	CV obtenido (%)	CV esperado (%)
Antiestreptolisinas				
Nivel bajo	138.25	2.15	1.55	1.9
Nivel alto	422.25	3.73	0.88	2.3
Factor reumatoide				
Nivel bajo	76.28	1.87	2.45	2.2
Nivel alto	207.40	2.06	0.99	2.2
Proteína C reactiva				
Nivel bajo	1.09	0.02	1.39	2.7
Nivel alto	11.74	0.16	1.39	2.1

Cuadro 3. Resultados obtenidos para la precisión intradiaria. CV: coeficiente de variación.

6.3 Precisión interdiaria

Para realizar la precisión interdiaria del factor reumatoide se utilizaron 2 niveles del control RH SL con número de lote 199482 durante 20 días los resultados se presentan en el cuadro 4.

Analito	Media	Desviación estándar	CV obtenido (%)	CV esperado (%)
Antiestreptolisinas				
Nivel bajo	134.85	6.67	4.94	< 10
Nivel alto	450.35	26.60	5.90	< 10
Factor reumatoide				
Nivel bajo	84.28	5.24	6.21	< 10
Nivel alto	223.95	13.88	6.20	< 10
Proteína C reactiva				
Nivel bajo	1.22	0.03	2.21	< 10
Nivel alto	4.96	0.24	4.85	< 10

Cuadro 4. Resultados obtenidos para la precisión interdiaria. CV: coeficiente de variación.

6.4 Veracidad

Se llevó a cabo la verificación de la veracidad procesando por duplicado los calibradores como si fuera una muestra de paciente para obtener el porcentaje de error relativo, en el cuadro 5 se muestran los resultados. En el caso de proteína C reactiva sólo se utilizó un calibrador, para antiestreptolisinas y factor reumatoide se utilizaron dos calibradores. En el caso del factor reumatoide con nivel alto se encontró un % de error relativo mayor al 10%.

Analito	Replicado 1	Replicado 2	Promedio	Esperado	% de error relativo
Antiestreptolisinas	468	467	467.5	445	-5.10
	1380	1380	1380	1335	-3.40
Factor reumatoide	17.7	18.1	17.9	16.8	-6.50
	558	555	556.5	630	11.70
Proteína C reactiva	20	19.2	19.6	21.4	-8.4

Cuadro 5. Determinación de la veracidad en las mediciones de los tres analitos haciendo una prueba de duplicado.

6.5 Incertidumbre

Para realizar el cálculo de la incertidumbre se utilizó el índice de desviación estándar (SDI) obtenido a partir del envío S-B de la distribución 2012 del CAP, también se obtuvieron los resultados de desviación estándar del mes de diciembre para los tres analitos, obteniendo los resultados presentados en el cuadro 6.

Analito	SDI (Usdi)	DS (Uc)
Antiestreptolisinas	0.52	7.87
Proteína C reactiva	0.3	0.245
Factor reumatoide	2	4.453

Cuadro 6. Resultados de incertidumbre. SDI: índice de desviación estándar, Usdi: incertidumbre de control de calidad externa, DS: desviación estándar, Uc: incertidumbre de control.

Se realizó el cálculo de la incertidumbre expandida elevando al cuadrado los valores obtenidos de incertidumbre de la incertidumbre del control y del sesgo del control de

calidad externa, de esto se realizó la suma de los cuadrados y finalmente se obtuvo la incertidumbre expandida calculando la raíz cuadrada (cuadro 7) a continuación se muestran los resultados obtenidos.

Analito	Usdi²	Uc²	Σ Usdi²+Uc²	Uc	U
Proteína C reactiva	0.09	0.1	0.2	0.39	0.77
Antiestreptolisinas	0.2704	61.9	62.2	7.89	15.77
Factor reumatoide	4	19.8	23.8	4.88	9.76

Cuadro 7. Cálculo de la incertidumbre expandida para las tres proteínas analizadas. U(C): incertidumbre del control, U(sdi): incertidumbre del control de calidad externa., U: Incertidumbre expandida, u_c: Incertidumbre estándar combinada, k: Factor de cobertura p = 0.95

VII DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Sin lugar a dudas el laboratorio debe tener la seguridad de que los resultados que reporta cuentan con la confiabilidad requerida, para ello se deben considerar varias cosas: que el personal analítico cuente con la formación, capacitación y destreza para llevar a cabo los diversos análisis de laboratorio, que los reactivos cuenten con la calidad requerida, para ello el proveedor debe entregar reactivos con caducidad vigente y certificado de calidad que garantice un buen desempeño. Los instrumentos deben ser precisos y exactos, el analista clínico debe verificar el desempeño analítico de las pruebas e instrumentos. Hoy en día existen guías nacionales que permiten estandarizar esta evaluación cuyo costo de inversión es mínimo comparado con los gastos que se pueden generar por contar con métodos e instrumentos que no cuenten con la verificación de desempeño.

El comprender para que sirve cada uno de los parámetros evaluados durante una verificación del funcionamiento de un instrumento es primordial para saber si fue realizada correctamente.

La verificación de la linealidad nos permite conocer el rango analítico en el cual se pueden obtener resultados confiables de acuerdo a las condiciones del laboratorio, así mismo, el límite de detección permite conocer el valor mínimo reportable⁶. En este proyecto se esperaba que la pendiente obtenida se encontrara entre 0.9 y 1.1 para todos los analitos, y se obtuviera una correlación mayor a 0.95.

El coeficiente de correlación para antiestreptolisinas fue de 0.998, la pendiente fue de 1.028, para esta prueba tanto el coeficiente como la pendiente son buenas, para una linealidad de 113.5 UI/mL hasta 1635 UI/mL, la linealidad esperada para esta prueba era de 62.3 a 1602 UI/mL. De acuerdo a lo indicado por Serrat y col.¹² la diferencia de los valores de la linealidad no debe oscilar más allá del valor del error total permitido hacia arriba o hacia abajo, sin embargo todavía no existen valores de error total permitido cuantitativos para antiestreptolisinas. De cualquier manera, la linealidad fue aceptada ya que el laboratorio tiene un valor de corte para antiestreptolisinas de 408, por lo que el valor bajo de la linealidad no afecta el significado clínico de la prueba.

El coeficiente de correlación obtenido para el factor reumatoide fue de 0.99 y la pendiente fue de 0.884, en este caso la pendiente se encuentra ligeramente fuera de lo esperado, sin embargo se puede aceptar la verificación ya que el coeficiente de correlación es muy bueno. Se comprobó que esta prueba es lineal desde 17.9 UI/mL, hasta 557 UI/mL, la linealidad esperada para esta prueba era de 16.8 a 630 UI/mL, teniendo una diferencia de 6.54% y 11.58% respectivamente, la pendiente se vió afectada ya que los últimos dos valores de la linealidad fueron bajos, esto pudo ser debido a la estabilidad del calibrador y/o del diluyente. Aun así, la diferencia entre lo esperado y lo obtenido no superan el 13% de error total permitido (TEa) descrito por variabilidad biológica^{25, 26}.

El coeficiente de correlación obtenido para la proteína C reactiva fue de 0.9997, mientras que la pendiente fue de 1.0284, esto es congruente con lo esperado para este analito, por lo que la linealidad es aceptada desde 0.63 mg/dL hasta 18.80 mg/dL, en comparación con lo indicado por el fabricante que es desde 0.41 mg/dL hasta 18.36 mg/dL.²⁶ El valor bajo de la linealidad tuvo una diferencia contra lo esperado de 53% y el valor alto de la linealidad tuvo una diferencia de 2.3%, esta linealidad se acepta ya que el error total permitido para proteína C reactiva es de 68.3%, y el límite de corte utilizado en el laboratorio es de 5 mg/dL.

La verificación de la precisión intradiaria nos permite evaluar la robustez del ensayo a través de los distintos cambios que pueden ocurrir en el día a día, como es la temperatura, la humedad, los cambios de voltaje, etc. Para las antiestreptolisinas se obtuvo un coeficiente de variación de 1.55% para el nivel 1 y 0.88% para el nivel dos, existiendo una buena precisión ya que se esperaba que el coeficiente de variación no fuera mayor de 1.9% para el nivel 1, ni de 2.3% para el nivel 2.²⁴

Para el factor reumatoide tanto para el nivel 1 como el nivel 2 se esperaba un 2.2%, y se obtuvo un 2.45% en el nivel 1, y 0.99% para el nivel 2; por lo que en el nivel 1 no se obtuvo una precisión como se esperaba, sin embargo este valor no alcanza el 3.5% indicado por el fabricante para el rechazo de este parámetro. En el nivel 1 la diferencia de precisión de 0.25%, no es significativa, por lo que la prueba se puede considerar dentro de lo esperado.

Para la proteína C reactiva se esperaba que la imprecisión intradiaria del nivel 1 y del nivel 2 fuera del 2.7 y 2.1% respectivamente; este requisito se cumplió ampliamente ya que para ambos niveles se obtuvo un coeficiente de variación de 1.39%.²⁷

La verificación de la precisión interdiaria es una herramienta útil para determinar si el equipo puede ofrecer determinaciones veraces en circunstancias distintas debido al manejo normal en el laboratorio, por ejemplo: con el cambio de cartuchos de reactivo, cambio de suministros, insumos, soluciones de lavado, soluciones genéricas, cambio del analista que prepara el equipo, mantenimientos, cambios de vial de control, cambios de temperatura y humedad, etc.¹⁴ En este caso se espera que el coeficiente de variación interdiario medido durante un mes sea menor al 10% debido a todos los factores antes mencionados.

La imprecisión interdiaria que se obtuvo para antiestrepolisinas fue de 4.94% para el nivel 1 y de 5.91% para el nivel 2. Estos resultados son altos comparados a lo esperado en el reporte del inserto (nivel 1; 1.4%, nivel 2; 1.7%), sin embargo si se toman en cuenta todos los factores que se mencionaron anteriormente se puede justificar el uso de un 10% como valor límite para el coeficiente de variación interdiario. Es también importante tomar en cuenta que cuando el proveedor realiza sus pruebas lo hace en condiciones óptimas, algo que difícilmente se puede realizar en el trabajo diario dentro del laboratorio.

Para proteína C reactiva la precisión interdiaria del nivel 1 fue de 2.21% y de 4.85%, estando estos valores de imprecisión muy por debajo del criterio máximo aceptado por la guía que es 1/3 del error total permitido ($TEa=68.3\%$)²⁶; es decir es menor a 22.76%, por lo que la imprecisión obtenida es aceptable.

Tener buena precisión indica que el sistema analítico es lo suficientemente estable como para obtener resultados acertados aún con las variaciones del trabajo diario, sin embargo no nos indica si los resultados que se están obteniendo son los correctos, para este fin se realiza la verificación de la veracidad. En este caso observamos que existe un desplazamiento para los resultados esperados para la veracidad del factor reumatoide, ya que el límite debe estar en el 10% de diferencia, sin embargo se pueden aceptar estos resultados si la diferencia no afecta el significado clínico de la prueba.

Por último, la incertidumbre nos permite delimitar el error que existe en una determinación normal, es importante dar a conocer a todo el personal de salud, en especial al médico tratante el término de incertidumbre y lo que significa.³⁰ De acuerdo con Gella y col.¹⁵ si el valor absoluto del error sistemático (ES) es inferior o igual a su incertidumbre expandida (U), entonces no hay una diferencia significativa entre el valor obtenido y el asignado, por lo que se considera que el sistema de medición tiene buena exactitud.

Al realizar la medición de un analito en el laboratorio no podemos estar seguros de que la cantidad o actividad del analito medido sea verdaderamente la real, para esto se utiliza el término de incertidumbre, para poder generar un rango en el cual podamos asegurar que se encuentra el analito medido contemplando todas las posibles fuentes de desviación, desde lo inherente al paciente (llámese variación individual, ciclos circadianos, ciclos circanuales, metabolismo, hora de recolección, situación de estrés etc), lo inherente al método, (incertidumbre del calibrador, incertidumbre del instrumento) o todas aquellas causas que puedan provocar una variación en el resultado informado al paciente.¹⁶

Parece muy lejana la época en que se puede presentar un resultado en el que se exprese que éste está siendo afectado por todas estas razones, si en la actualidad a un médico se le presenta un resultado de antiestreptolisinas de 200 UI/mL \pm 17.5 UI/mL de incertidumbre por ejemplo, el médico no confiará en el resultado y nos calificará de incongruentes, siendo que ésta es una forma más real de presentar los resultados.

Finalmente, el equipo BN Prospec ha sido evaluado en diversas ocasiones (Rothkrantz y col.²⁸ y Lammers y col.²⁹) con resultados aceptables, en este trabajo ha mostrado robustez en sus resultados durante la evaluación de los parámetros indicados por la guía de la ema, y una vez más volvió a mostrar tener solidez y confiabilidad en los resultados.

VIII CONCLUSIONES

En este proyecto se evaluó el desempeño del nefelómetro BN Prospec de la marca Siemens para las pruebas de: antiestreptolisinas, factor reumatoide y proteína C reactiva, encontrándose para la linealidad valores de correlación entre 0.998 y 0.999 para las tres determinaciones.

La precisión intradiaria fue menos a lo estipulado, excepto en factor reumatoide en el nivel 1 y la interdiaria cumplió al obtenerse un coeficiente de variación menor al 10%. La veracidad y la incertidumbre fueron aceptables.

El equipo BN Prospec mostró solidez y confiabilidad en los resultados durante la evaluación de los parámetros indicados por la guía de la Entidad Mexicana de Acreditación.

IX BIBLIOGRAFÍA

- 1) Mc Pherson R, Pincus M. Henry's Clinical diagnosis and management by laboratory methods. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2011. p. 3
- 2) Norma ISO 9000:2000 Sistemas de gestión de la calidad — Conceptos y vocabulario. Suiza (Ginebra); 2000. p. 7
- 3) Malangón-Londoño G, Galán-Morera R, Pontón-Laverde G. Garantía de calidad en salud. Bogotá: Médica Panamericana; 2006. p. 3-10
- 4) Norma ISO 15189 Medical laboratories — Particular requirements for quality and competence: Suiza (Ginebra); 2007. p. 34
- 5) Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA3-2011, Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos. 27 de marzo 2011.
- 6) Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico. Entidad Mexicana de Acreditación. México (DF); 2008
- 7) NCCLS Document EP15-A; User demonstration of performance for precision and accuracy; Approved guideline. 2001.
- 8) NCCLS. Document EP6-A: Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: A statistical approach; Approved guideline. 2003.
- 9) NCCLS document EP5-A2: Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; Approved guideline, 2nd ed. 2004
- 10) NCCLS document EP6-A: Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: A statistical approach; Approved guideline. 2003
- 11) NCCLS document EP10-A2: Preliminary evaluation of quantitative clinical laboratory methods; Approved guideline, 2nd ed. 2002
- 12) Orús S, Gella T, Alonso N, Boned B, Canalias F, Izquierdo S. Procedimiento recomendado para el estudio de la linealidad de los procedimientos de medida en el laboratorio clínico. Documentos de la SEQC; 2011. P. 1-5
- 13) Westgard OJ. Basic method validation. 2nd. Ed. 2003. p.29-30, 87-99, 111-122.
- 14) Canalias F. Recomendaciones para el estudio de la precisión de los procedimientos de medida en el laboratorio clínico. Quím Clín 2003; 22 (2) 63-65.

- 15) Gella F. Recomendaciones para la utilización de calibradores con trazabilidad metrológica en el laboratorio clínico. *Quím Clín* 2005; 24 (6) 474-476.
- 16) Bagnarelli A. Incertidumbre en los resultados del laboratorio clínico. *Rev Bioquím Patol Clín* 2008; 72(1): 11-16
- 17) Hay F, Westwood O. *Practical immunology* 4th ed; Great Britain: Blackwell Science; 2002. p. 163-179
- 18) Dorresteyn C. *Clinical immunology and serology a laboratory perspective* 3rd ed. Philadelphia: F.A. Davis Company; 2010. p. 126
- 19) Manual del usuario Equipo BNProSpec
- 20) Wilson D. *Mc Graw Hill's manual of laboratory and diagnostic test*; New York: Mc Graw Hill; 2005. p. 62, 191, 504
- 21) Aletaha D, Neogi T, Silman A, Funovits J, Felson D, Bingham C, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative.. *Arthritis Rheum*-2010; 62 (9): 2569-2581.
- 22) Symmons D, Mathers C, Pflieger B. The global burden of rheumatoid arthritis; global burden of disease. World Health Organization. 2000
- 23) Clearfield M. C-reactive protein: A new risk assessment tool for cardiovascular disease. *JAOA* 2005; 105 (9): 409-416.
- 24) Inserto de reactivo N latex ASL Siemens 2010 Alemania (Mardburg). p. 1-6
- 25) Inserto de reactivo N latex RF kit. Siemens 2008 Alemania (Mardburg). p. 1-6
- 26) Westgard QC. Desirable specifications for total error, imprecision, and bias, derived from intra- and inter-individual biologic variation. Disponible en: <http://www.westgard.com/biological-variation-database-reference-list.htm>
Acceso el 25 de mayo de 2013
- 27) Inserto de reactivo N latex RCP. Mardburg: Siemens; 2010. p. 1-6
- 28) Rothkrantz-Kos S, Bekers O, Gubbels A, Drent M, Schimtz M, Dieijen-Visser M. Evaluation of two new high sensitivity methods for C-reactive protein. *Maastricht. Ann Clin Biochem* 2003; 40: 398-405
- 29) Lammers M, Gentzer W, Boni P, Fitzner R, Guarmeur-Jardel C, Ledue T. Multicentric performance evaluation of the BN ProSpec plasma protein analyzer system. *2001 Clin Chem*; 47 (6): A35-A36.