



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

TESIS

Validación y verificación en el laboratorio clínico:
Evidencia documental de su importancia como
parte del Sistema de Gestión de Calidad

Qué para obtener el título de:

Licenciada en Bioquímica Diagnóstica

Presenta:

Victoria Domínguez Paz

Asesora de tesis:

Dra. E. Beatriz Lucía González Maldonado

Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 2023.



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**



ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**UNAM
CUAUTITLÁN
DEPARTAMENTO
DE TITULACIÓN**

**DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

ATN: DRA. MARIA DEL CARMEN VALDERAMA BRAVO
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Tesis y Examen Profesional**

Validación y verificación en el laboratorio clínico: Evidencia documental de su importancia como parte del Sistema de Gestión de Calidad.

Que presenta la pasante: **Victoria Domínguez Paz**

Con número de cuenta: **311078910** para obtener el título de: **Licenciada en Bioquímica Diagnóstica.**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 24 de Abril de 2023.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en C. Ana Laura Vázquez Martínez	
VOCAL	Q.B.P. Martha Elena García Corrales	
SECRETARIO	Dra. en E. Beatriz Lucía González Maldonado	
1er. SUPLENTE	Q. Lidia Elena Ballesteros Hernández	
2do. SUPLENTE	Q.F.B. Patricia Jeane Domínguez Quiñones	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

Agradecimientos

A mis padres, Patricia y Eduardo, por su amor incondicional y apoyo constante, no solo en este ámbito, si no en todos los aspectos de mi vida. No existen palabras que definan todo el agradecimiento que merecen. Los amo.

A mi hermano, Didier, por enseñarme cuán diferente puede ser la vida. No sé qué haría sin ti.

A Fab, el mejor compañero de vida, gracias por estar desde el día uno y nunca soltarme.

A todos mis profesores y amigos de la universidad que hicieron más llevadera esta etapa, gracias por enseñarme tanto en el camino.

A mi asesora Beatriz gracias por la confianza, por ser una excelente profesora y una gran persona.

A mis sinodales por su tiempo, ayuda y conocimientos durante este proceso.

A mis amigos de alma, ustedes saben cuánto los quiero y les agradezco por seguir estando aquí.

A la vida, al universo, a Dios y a todo en lo que creo, porque este trabajo es más que una tesis, es el culmen de un ciclo que alguna vez vi tan lejano y hoy es una realidad.

A todos ustedes, mi más profundo agradecimiento. Su apoyo y amor han sido el motor que me ha impulsado a alcanzar mis metas. Gracias por ser parte de mi vida y siempre creer en mí.

Índice general

Índice general.....	I
Lista de símbolos y abreviaturas.....	III
Índice de figuras.....	VI
Índice de tablas.....	VII
Índice de fórmulas.....	X
Índice de diagramas.....	XII
Índice de gráficas.....	XII
Resumen.....	1
1. Introducción.....	2
2. Objetivos.....	5
2.1. Objetivo general.....	5
2.2. Objetivos específicos.....	5
3. Marco teórico.....	6
3.1. Laboratorio clínico.....	6
3.2. Calidad dentro del laboratorio clínico.....	11
3.3. Marco legal correspondiente al laboratorio clínico.....	15
3.4. Certificación.....	17
3.5. Acreditación.....	18
3.6. Acreditación en México y América Latina.....	20
3.7. Validación y verificación de métodos analíticos como parte del Sistema de Gestión de Calidad.....	26
3.7.1. ¿Cuál es la diferencia entre validación y verificación?.....	34
3.7.2. Guías aprobadas por la Entidad Mexicana de Acreditación.....	38
3.7.3. ¿Cuándo validar o verificar un método?.....	41

3.7.4. ¿Cómo debe verificarse un método?.....	42
3.7.4.1. Errores evaluados en el laboratorio clínico.....	48
3.7.4.2. Periodo de familiarización.....	50
3.7.4.3. Calibración.....	51
3.7.4.4. Verificación de métodos analíticos.....	52
3.7.4.4.1. Precisión.....	53
3.7.4.4.2. Linealidad	66
3.7.4.4.3. Veracidad.....	83
3.7.4.4.4. Incertidumbre.....	92
3.7.5. Registros y documentación.....	108
3.7.6. ¿Por qué es importante verificar un método?.....	111
4. Discusión.....	113
5. Conclusiones.....	118
6. Ejemplos de verificación de método.....	119
6.1. Ejemplo de verificación de la precisión.....	119
6.2. Ejemplo de verificación de la linealidad.....	124
6.3. Ejemplo de verificación de la veracidad.....	133
6.4. Ejemplo de verificación de la incertidumbre.....	136
7. Anexos.....	139
8. Referencias.....	144

Lista de símbolos y abreviaturas

\bar{x} : Media o promedio

σ^2 : Varianza de error

ANOVA: Análisis de Varianza (Analysis of Variance)

AC: Aseguramiento de Calidad

CC: Control de Calidad

CCE: Control de Calidad Externo

CCI: Control de Calidad Interno

CDC: Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (Centers for Disease Control and Prevention)

CENAM: Centro Nacional de Metrología

CLIA: Enmiendas para el Mejoramiento de Laboratorios Clínicos (Clinical Laboratory Improvement Amendments)

CLSI: Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute)

COFEPRIS: Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios

CRM: Materiales Certificados de referencia (Certified Reference Materials)

CV: Coeficiente de Variación

CV_B: Coeficiente de Variación entre corrida (Coefficient of Variation between-run)

CV_W o CV_R: Coeficiente de Variación en condiciones de repetibilidad (Coefficient of Variation within-run or repeatability)

CV_{WL}: Coeficiente de Variación intralaboratorio (Coefficient of Variation within-laboratory)

DER: Desviación Estándar Relativa

Df: Grados de libertad (Degrees of freedom)

df_c: Grados de libertad combinados con Control de Fabricante

df_R: Grados de libertad para repetibilidad

df_{WL}: Grados de libertad para precisión intermedia

DL_i: Grado de no linealidad

DOF: Diario Oficial de la Federación

DS_{gp}: Desviación Estándar del grupo de comparación

EA: Error Aleatorio

ema: Entidad mexicana de acreditación

EQA: Evaluación de Calidad Externa (External Quality Assessment)

ES: Error Sistemático

ESac: Error Sistemático aceptable

GC: Gestión de Calidad

GTLC: Grupo de Trabajo de Laboratorios Clínicos

GUM: Guía para la Expresión de la Incertidumbre de la Medición (Guides to the expression of Uncertainty in Measurement)

ICH: Consejo Internacional para la Armonización de los Requisitos Técnicos de los Medicamentos para Uso Humano (The International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use)

IFCC: Federación Internacional de Química Clínica y Medicina de Laboratorio (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine)

IFT: Instituto Federal de Comunicaciones

ILAC: Cooperación Internacional de Acreditación de Laboratorios (The International laboratory Accreditation Cooperation)

ISO: Organización Internacional de Normalización (International Organization for Standardization)

IUPAC: Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (International Union of Pure and Applied Chemistry)

NOM: Norma Oficial Mexicana

OEC: Organismo de Evaluación de la Conformidad

OMS: Organización Mundial de la Salud

PEEC: Programas de Evaluación Externa de la Calidad

PT: Pruebas de Aptitud (Proficiency Testing)

PTA: Proceso Total de Análisis

RCPA: Real Colegio de Patólogos de Australianos (Royal College of Pathologists of Australasia)

RILIBAK: Directrices de la Asociación Médica Alemana (Richtlinien der Bundesärztekammer)

S_B: Desviación Estándar entre corridas

SD/DE: Desviación Estándar

SEMARNAT: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales

se_{RM}: Error estándar del material de referencia

Sesgoc: Sesgo combinado

SGC: Sistema de Gestión de Calidad

S_B: Desviación estándar entre corridas (Standard deviation between-run)

S_R: Desviación estándar en condiciones de repetibilidad (Standard deviation repeatability)

S_{WL}: Desviación estándar en condiciones de precisión intralaboratorio (Standard deviation within-laboratory)

SS: Secretaria de Salud

t-Test: Prueba t

TEa: Error Total aceptable (Allowable Total Error)

u: Incertidumbre típica o estándar (Standard Uncertainty)

U: Incertidumbre expandida

u_B: Incertidumbre del sesgo del método

u_C: Incertidumbre combinada

u_R: Incertidumbre de reproducibilidad dentro del laboratorio

u_{rel}: Incertidumbre relativa

UVL: Valores Superiores de Verificación (Upper Verification Limit)

V_B: Varianza entre corrida (Variance between-run)

V_W: Varianza intracorrida (Variance within-run)

V_{WL}: Varianza total (Variance within-laboratory)

VI: Intervalo de verificación

VIM: Vocabulario Internacional de Metrología

VT: Valor objetivo o Target (Target Value)

Se_x: Error estándar total de la media

Sec: Error estándar combinado

Índice de figuras

Figura 1.	Organigrama jerárquico y funcional del laboratorio clínico.....	7
Figura 2.	Requisitos mínimos de infraestructura para un laboratorio clínico....	9
Figura 3.	Proceso Total de Análisis (PTA).....	10
Figura 4.	Porcentaje de laboratorios acreditados por país vs. número total de laboratorios del país.....	23
Figura 5.	Sistema de Gestión de Calidad: etapa analítica.....	43
Figura 6.	Fases de la gestión del proceso de verificación.....	44
Figura 7.	Herramientas recomendadas para el análisis de datos.....	45
Figura 8.	Tipo de errores a evaluar en la verificación de métodos.....	49
Figura 9.	Error aleatorio (EA) o imprecisión.....	55
Figura 10.	Ecuación lineal.....	67
Figura 11.	Análisis de regresión polinomial.....	69
Figura 12.	Protocolo de concentraciones equidistantes.....	75
Figura 13.	Error sistemático (ES) o inexactitud.....	84
Figura 14.	Incertidumbre de medida.....	93
Figura 15.	Registro y documentación de la verificación de métodos analíticos	110
Figura 16.	Esquema que define el objetivo de la evaluación de un método de medida.....	111

Índice de tablas

Tabla 1.	Conceptos generales de calidad.....	12
Tabla 2.	Definiciones de calidad.....	13
Tabla 3.	Marco legal para el funcionamiento del laboratorio clínico en México	16
Tabla 4.	Objetivos que el laboratorio clínico demuestra con la acreditación por la ISO 15189.....	19
Tabla 5.	Contenido de la norma ISO 15189: 2003 por capítulos.....	20
Tabla 6.	Porcentaje de laboratorios acreditados por país vs. número total de laboratorios del país.....	22
Tabla 7.	Puntos esenciales del SGC dentro del laboratorio clínico.....	28
Tabla 8.	Gestión del proceso dentro del SGC en el laboratorio de análisis clínicos.....	30
Tabla 9.	Tipos de métodos analíticos en el laboratorio.....	32
Tabla 10.	Definiciones del concepto de validación de documentos nacionales e internacionales.....	34
Tabla 11.	Características de desempeño evaluadas durante la validación y verificación de método.....	36
Tabla 12.	Características de desempeño evaluadas habitualmente durante la validación y/o verificación del método.....	37
Tabla 13.	Guías empleadas para la verificación de método dentro del laboratorio clínico de acuerdo con la <i>ema</i>	39
Tabla 14.	Cambios operacionales bajo los cuales se debe validar un método analítico cuantitativo.....	41
Tabla 15.	Cambios operacionales bajo los cuales se debe verificar un método analítico cuantitativo.....	41
Tabla 16.	Aspectos previos por considerar en la verificación de métodos.....	46
Tabla 17.	Aspectos necesarios por considerar durante la verificación de métodos.....	47

Tabla 18.	Aspectos que producen fallos y variaciones en la verificación de métodos.....	47
Tabla 19.	Tipos de errores evaluados en el laboratorio clínico.....	48
Tabla 20.	Resumen del parámetro precisión: definición y expresión.....	54
Tabla 21.	Factores para considerar antes de la verificación de la precisión.....	56
Tabla 22.	Materiales para la evaluación de la verificación de la precisión y veracidad.....	57
Tabla 23.	Ventajas y limitaciones de las muestras utilizadas para la evaluación de la precisión.....	58
Tabla 24.	Procedimiento para la verificación de la precisión bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia.....	60
Tabla 25.	Resumen del análisis de varianza (ANOVA) unidireccional.....	61
Tabla 26.	Criterios de aceptabilidad para precisión acorde al fabricante.....	63
Tabla 27.	Criterios de aceptabilidad para precisión acorde el límite superior de verificación (UVL).....	65
Tabla 28.	Criterios de aceptabilidad para precisión bajo condiciones clínicas...	65
Tabla 29.	Resumen del parámetro linealidad: definición y expresión.....	66
Tabla 30.	Características del procedimiento de linealidad bajo diferentes condiciones de aplicación.....	68
Tabla 31.	Consideraciones previas para la verificación de la linealidad.....	71
Tabla 32.	Muestras recomendadas y sus características para las disoluciones patrón.....	74
Tabla 33.	Preparación de concentraciones equidistantes.....	75
Tabla 34.	Criterios DLi para la verificación de la linealidad de un método.....	82
Tabla 35.	Resumen del parámetro veracidad: definición y expresión.....	83
Tabla 36.	Factores para considerar antes de la verificación de la veracidad.....	85
Tabla 37.	Herramientas y materiales de referencia para la verificación de la veracidad.....	86
Tabla 38.	Materiales de selección y estimación del error estándar del valor target asignado VT o error estándar del material de referencia $se_{RM..}$	87

Tabla 39.	Resumen del parámetro incertidumbre: definición y expresión.....	93
Tabla 40.	Conceptos asociados a la incertidumbre de medida.....	95
Tabla 41.	Condiciones generales para estimar la incertidumbre de la medición	96
Tabla 42.	Identificación de las fuentes de incertidumbre.....	97
Tabla 43.	Estimación de la incertidumbre bajo diferentes condiciones.....	101
Tabla 44.	Aspectos generales para los registros de la verificación de método...	109

Índice de fórmulas

Fórmula 1.	Para el cálculo de valores atípicos.....	61
Fórmula 2.	Para el cálculo de varianza intracorrida (V_W).....	62
Fórmula 3.	Para el cálculo de varianza entre corrida (V_B).....	62
Fórmula 4.	Para el cálculo de la desviación estándar en condiciones de repetibilidad (S_R).....	62
Fórmula 5.	Para el cálculo de la desviación estándar entre corridas (S_B).....	62
Fórmula 6.	Para el cálculo de la desviación estándar en condiciones de precisión intralaboratorio (S_{WL}).....	62
Fórmula 7.	Para el cálculo del coeficiente de variación intracorrida o en condiciones de repetibilidad (CV_R).....	63
Fórmula 8.	Para el cálculo del coeficiente de variación entre corridas (CV_B)	63
Fórmula 9.	Para el cálculo del coeficiente de variación total (CV_{WL}) o intralaboratorio.....	63
Fórmula 10.	Para el cálculo de los grados de libertad para repetibilidad (df_r)....	64
Fórmula 11.	Para el cálculo de los valores superiores de verificación (UVL).....	64
Fórmula 12.	Para el cálculo del índice de reclamaciones (p), para la determinación de los grados de libertad para precisión intermedia (df_w).....	64
Fórmula 13.	Para el cálculo de los valores superiores de verificación (UVL).....	64
Fórmula 14.	Para la concentración de cada dilución (C_i).....	76
Fórmula 15.	Para la varianza de error.....	79
Fórmula 16.	Para el cálculo de <i>T-test</i>	80
Fórmula 17.	Para el cálculo de los grados de libertad.....	80
Fórmula 18.	Para el cálculo del grado de no linealidad.....	82
Fórmula 19.	Desarrollada para el cálculo del error estándar de la media.....	89
Fórmula 20.	Simplificada para la estimación del error estándar de la media.....	89
Fórmula 21.	Para la estimación del error estándar combinado.....	89
Fórmula 22.	De Satterthwaite para el cálculo de los grados de libertad combinados con control interlaboratorio.....	90

Fórmula 23.	Para el cálculo de los grados de libertad combinados con control de fabricante.....	90
Fórmula 24.	Para la estimación del valor tau para el cálculo de los grados de libertad combinados con control externo o control Interlaboratorio para cálculo de grados de libertad (df).....	90
Fórmula 25.	Para el cálculo de probabilidad.....	91
Fórmula 26.	Para el intervalo de verificación (VI).....	91
Fórmula 27.	Para la estimación des sesgo.....	92
Fórmula 28.	Para la estimación del componente de incertidumbre dentro del laboratorio reproducibilidad.....	103
Fórmula 29.	Para estimación del componente de incertidumbre del sesgo del método utilizando: muestras de control de calidad.....	103
Fórmula 30.	Para estimación del componente de incertidumbre del sesgo del método utilizando: comparación interlaboratorio.....	104
Fórmula 31.	Para la estimación de la estimación de sesgo para el cálculo de la incertidumbre.....	105
Fórmula 32.	Para la estimación de la incertidumbre de medida combinada.....	106
Fórmula 33.	Para la estimación de la incertidumbre de la medida expandida....	106
Fórmula 34.	Para la estimación de la incertidumbre típica combinada.....	108

Índice de diagramas

Diagrama 1. Verificación de la precisión guía EP15-A3.....	59
Diagrama 2. Verificación de la linealidad guía EP06-A.....	72
Diagrama 3. Verificación de la veracidad guía EP15-A3.....	88
Diagrama 4. Verificación de la incertidumbre.....	107

Índice de gráficas

Gráfica 1. Laboratorios clínicos acreditados en México bajo la ISO 15189:2012/ NMX-EC15189-IMNC-2015.....	24
--	----

Resumen

El laboratorio clínico tiene como objetivo principal emitir resultados con calidad y confiabilidad para que los profesionales de la salud tomen decisiones en beneficio del paciente, en el contexto clínico o bien en el de salud pública. En los últimos años América Latina se ha enfrentado a la evolución y mejora del Sistema de Gestión de Calidad, en México los cambios se evidencian en cada uno de los laboratorios clínicos que comprenden diferentes dimensiones y el manejo de distintos volúmenes de muestra.

Algunos proyectos emergentes como el PROY-NOM-007-SSA3-2017, “*Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos*”, establecen un precedente para la verificación de métodos cuantitativos que hasta el día de hoy es únicamente necesario para los laboratorios en proceso de acreditación.

Actualmente distintas organizaciones ofrecen guías con sus propios criterios para la acreditación de la norma. Estos criterios tienen origen en guías nacionales como la entidad mexicana de acreditación que son gratuitas, o guías internacionales como las del *Clinical & Laboratory Standards Institute*, que suponen un costo por guía.

Con la entrada en vigor del proyecto mencionado, se vuelve una necesidad de parte de todos los laboratorios públicos, sociales y privados del país conocer las consideraciones generales, procedimientos, tipos de muestra, duración del estudio, análisis gráfico y estadístico, criterios de aceptabilidad y aspectos críticos. También es importante conocer el costo de cada uno de los procesos incluidos en la verificación de métodos, con el fin de seleccionar entre las numerosas guías aceptadas la que mejor se adapte a las necesidades del laboratorio clínico.

El presente trabajo de tesis brinda información documentada de la verificación de métodos, principalmente de las guías propuestas por el *Clinical & Laboratory Standards Institute*. Esto permite al lector obtener una visión general de las características de desempeño evaluadas, las cuales incluyen precisión, incertidumbre, linealidad y veracidad. Además, se presenta una serie de ejemplos de cada procedimiento.

1. Introducción

Para que un laboratorio clínico pueda ofrecer a sus clientes un servicio de calidad, es necesario que implemente un Sistema de Gestión de Calidad (SGC) que establezca una estructura organizativa y defina las actividades fundamentales necesarias para alcanzar un nivel que se vea reflejado en los servicios rutinarios (Westgard, 2013).

La exigencia legal para la operación de un laboratorio clínico en México se encuentra establecida en la Norma Oficial Mexicana (NOM), NOM-007-SSA3-2011, *“Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos”*. Esta norma asegura que el laboratorio cumpla obligatoriamente con ciertos requisitos que le permiten brindar un servicio de calidad (SS, 2012).

Existen otros requerimientos que son de carácter opcional quedando vacíos que pueden generar cierta variabilidad en las prácticas de calidad entre los diferentes laboratorios. Una de estas evidencias radica en la validación y la verificación de métodos, ambos procesos representan una herramienta estadística indispensable dentro del SGC, y tienen como objetivo establecer expectativas realistas con el analista y confianza con el usuario de que cada uno de los métodos utilizados son adecuados para los fines previstos (Theodorsson, 2012).

Actualmente la responsabilidad de implementar estos procesos establecidos en el punto 5.5.2 de la Norma Mexicana (NMX), NMX-EC-15189-IMNC-2015/ISO 15189:2012 recae exclusivamente en los laboratorios clínicos en proceso de acreditación o acreditados, debido a que el documento está especificado como opcional (ema, 2008).

El 31 de enero del año 2018, el Diario Oficial de la Federación (DOF) publicó el PROY-NOM-007-SSA3-2017, *“Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos”*. Esta normativa presenta diversas modificaciones, siendo una de las más significativas el numeral 5.5.4. En este apartado se establece que cada laboratorio debe verificar cada método previo a su uso.

Asimismo, la norma específica que dichos métodos deben contar con una validación previa realizada por el fabricante. En casos excepcionales, si la validación no ha sido realizada por el fabricante, el propio laboratorio debe realizarla de manera adecuada y documentada (SS, 2018).

La entidad mexicana de acreditación (*ema*) permite el uso de manuales, guías, protocolos o directrices, como las publicadas por el *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI) con el objetivo de generar evidencia para la verificación. Entre estas guías, destacan la EP15-A3, EP6-A, EP17-A2 y EP29-A.

Además, la *ema* ha publicado la "*Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de exámenes cuantitativos empleados por el laboratorio clínico*" en colaboración con el Centro Nacional de Metrología (CENAM) (Zamora, 2011), la cual también se puede utilizar como referencia en este proceso.

En el momento que el PROY-NOM-007-SSA3-2017 entre en vigencia, la validación y verificación de métodos analíticos cuantitativos pasarán de ser una opción únicamente de los laboratorios clínicos acreditados bajo la NMX-EC-15189-IMNC-2015/ISO 15189:2012, a pertenecer a la exigencia legal para cualquier laboratorio clínico en México.

Aunque las características de desempeño requeridas durante la verificación no son totalmente idénticas en las dos normas, ambas buscan hacer cumplir con las competencias técnicas indispensables para que cualquier laboratorio clínico mantenga la calidad y cumpla con los objetivos de su servicio. Es trabajo de cada laboratorio determinar la complejidad, costo y tiempo que implica realizar cada uno de los ensayos descritos en las distintas metodologías de los diferentes manuales y directrices, asegurando el uso de protocolos generalmente aceptados y rentables.

El PROY-NOM-007-SSA3-2017 abre camino entorno a la calidad y competencia de cada laboratorio clínico del sector público, social y privado del Sistema Nacional de Salud (SNS), incorporando dentro de sus normas a la validación y verificación de métodos analíticos.

Pese a que el proyecto no ha entrado en vigor, el proceso para asegurar el cumplimiento efectivo de la próxima normatividad en cada laboratorio clínico, por parte de los profesionales y técnicos del área de la salud involucrados en la organización y funcionamiento de estos establecimientos, es complejo. Por lo tanto, es necesario llevar a cabo este proceso con anticipación y responsabilidad

El presente trabajo integra información documentada de la validación y verificación de métodos analíticos cuantitativos dentro de laboratorio clínico, busca generar un recurso de información que sirva para esclarecer las diferencias entre validación y verificación de métodos, así como explicar el por qué y cuándo es necesario realizarse, además de establecer qué es necesario hacer para cumplir con la normatividad. El trabajo se centra en documentos que incluyen procedimientos basados en las guías autorizadas por la *ema*, principalmente las guías del CLSI (*ema*, 2008).

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

Generar un recurso informativo, a través de la recopilación de información documentada del proceso de validación y verificación de métodos analíticos cuantitativos dentro del laboratorio clínico para que este dirija al lector hacia protocolos aceptados por la *ema* de forma sencilla y clara.

2.2. Objetivos específicos

- Explicar los conceptos de validación y verificación de métodos analíticos por medio de una revisión documental para establecer las diferencias entre ambos procesos.
- Describir detalladamente el proceso de verificación del método analítico cuantitativo mediante el uso de documentos establecidos que permitan demostrar su importancia como parte del SGC en todos los laboratorios clínicos.
- Recopilar evidencia documental de la validación y verificación de métodos analíticos cuantitativos basados en las guías aceptadas por la *ema* que ayuden a establecer ejemplos de verificación en el laboratorio clínico.
- Analizar el impacto de la validación y verificación de métodos dentro del laboratorio clínico en México a través de artículos, documentos normativos y otras referencias bibliográficas disponibles con el fin de establecer la repercusión de su obligatoriedad con el ahora PROY-NOM-007-SSA3-2017.

3. Marco teórico

3.1. Laboratorio clínico

Un laboratorio clínico es definido por la Secretaría de Salud (2011), como el:

Establecimiento público, social o privado, legalmente establecido, independiente o ligado a otro establecimiento para la atención médica de pacientes hospitalarios o ambulatorios, que tenga como finalidad realizar análisis físicos, químicos o biológicos de diversos componentes y productos del cuerpo humano, cuyos resultados coadyuvan en el estudio, prevención, diagnóstico, resolución y tratamiento de los problemas de salud (p.3).

La principal misión de este establecimiento es brindar un servicio de alta calidad al cliente, que incluye tanto al paciente como el médico que representa, ofreciendo estudios conocidos como análisis clínicos o de laboratorio. Cuando se presenta una enfermedad o afección, el objetivo de estos análisis clínicos, es proporcionar al médico u otros profesionales de la salud información necesaria para (OMS, 2016):

1. Realizar el diagnóstico de enfermedades.
2. Monitorear el progreso y evolución de enfermedades.
3. Evaluar la eficacia del tratamiento médico.
4. Prevenir enfermedades a través de la detección temprana y seguimiento.
5. Contribuir al ámbito de la investigación, epidemiología y educación en salud.

Para efectuar cada estudio clínico se requiere obtener muestras biológicas específicas (orina, sangre, líquido cefalorraquídeo, tejidos, etc.) para su posterior análisis. Durante el proceso se obtiene una magnitud o serie de magnitudes en función de la salud del paciente, es de suma importancia, que los resultados que se emitan sean confiables, precisos y de calidad (SAS, 2009).

El manejo de muestras biológicas infecciosas y sustancias químicas peligrosas conlleva un riesgo significativo, se vuelve indispensable que el laboratorio clínico cuente con personal profesional y técnico capacitado que sea responsable de cada operación, como puede observarse en el organigrama de la Figura 1.

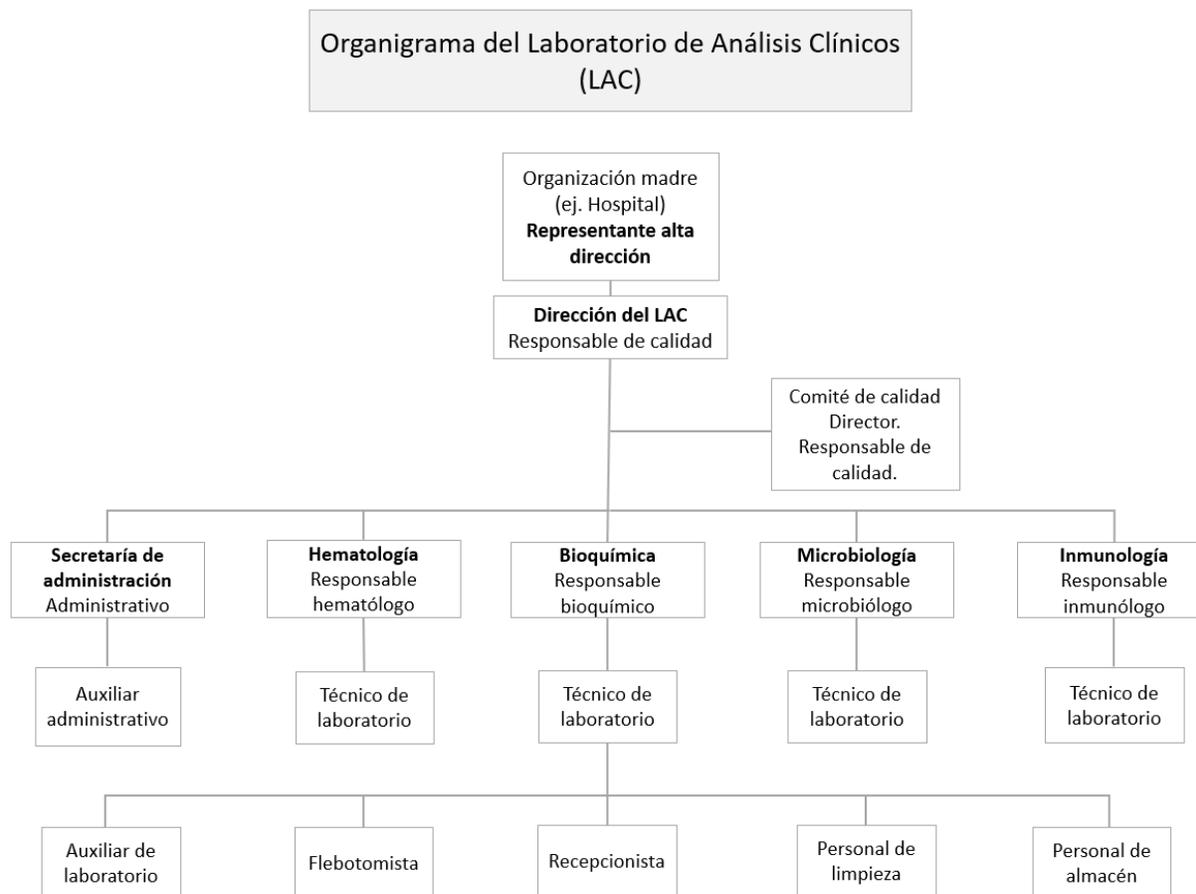


Figura 1. Organigrama jerárquico y funcional del laboratorio clínico (Imagen modificada de Fernández, 2005). El ejemplo se centra en el laboratorio clínico dentro de un hospital en el que figuran las áreas de actividades más comunes: área administrativa, área hematología, bioquímica, microbiología e inmunología; los puestos de trabajo y el personal a desarrollar cada actividad así como sus responsabilidades principales.

Para asegurar un funcionamiento adecuado, es necesario establecer una estructura laboral sólida que abarque numerosos procesos y procedimientos. El término “proceso”, se refiere a una o más fuentes interrelacionadas y/o actividades que transforman entradas en salidas. Por otro lado, un procedimiento representa una forma específica de realizar una actividad.

Es importante que el tamaño de cada laboratorio se ajuste al espacio y la inversión disponibles. Además, debe contar con una distribución que incluya todas las áreas necesarias para llevar a cabo eficientemente todos los procesos requeridos (Fernández, 2005).

Tapia, Vega & Rojas (2015), establecen que los requisitos estándar que un laboratorio clínico debe cumplir son los siguientes:

- a) Mantener flujos de trabajos adecuados y libres de desechos.
- b) Estandarizar el funcionamiento a través de un mapa de procesos conocido por todo el personal y que se actualice ante cambios en el sistema.
- c) Documentar las funciones del personal en un sistema que abarque todos los procesos.
- d) Monitorizar las etapas de preanalíticas, analíticas y postanalíticas, mediante el uso de indicadores.
- e) Contar con un sistema de comunicación interno y externo eficiente y apropiado.
- f) Colaborar con la protección del medio ambiente (p. 796).

Dependiendo de su estructura, los laboratorios se pueden clasificar en dos tipos, como se menciona en el estudio de Tapia et al. (2015):

1. **Modular:** Este tipo de laboratorio está diseñado con áreas separadas que pueden ser portátiles o permanentes. Cada área tiene funciones específicas que pueden adaptarse según las necesidades requeridas.
2. **Abierto:** En contraste, el diseño de este laboratorio consiste en áreas unidas sin muros de separación, lo que permite mayor interacción y colaboración entre ellas.

En ambos casos se debe contar con una estructura general y mínima necesaria para iniciar las operaciones del establecimiento.

Las áreas de trabajo dentro de cada establecimiento se organizan de acuerdo con sus requisitos específicos. Por lo general se encuentran las áreas de: hematología, química clínica, microbiología e inmunología. Además es posible encontrar áreas más especializadas como genética molecular, endocrinología, virología o epidemiología molecular, entre otras (Fraiz, 2003). Puede consultarse la Figura 2, para obtener una visualización de dicha estructura.

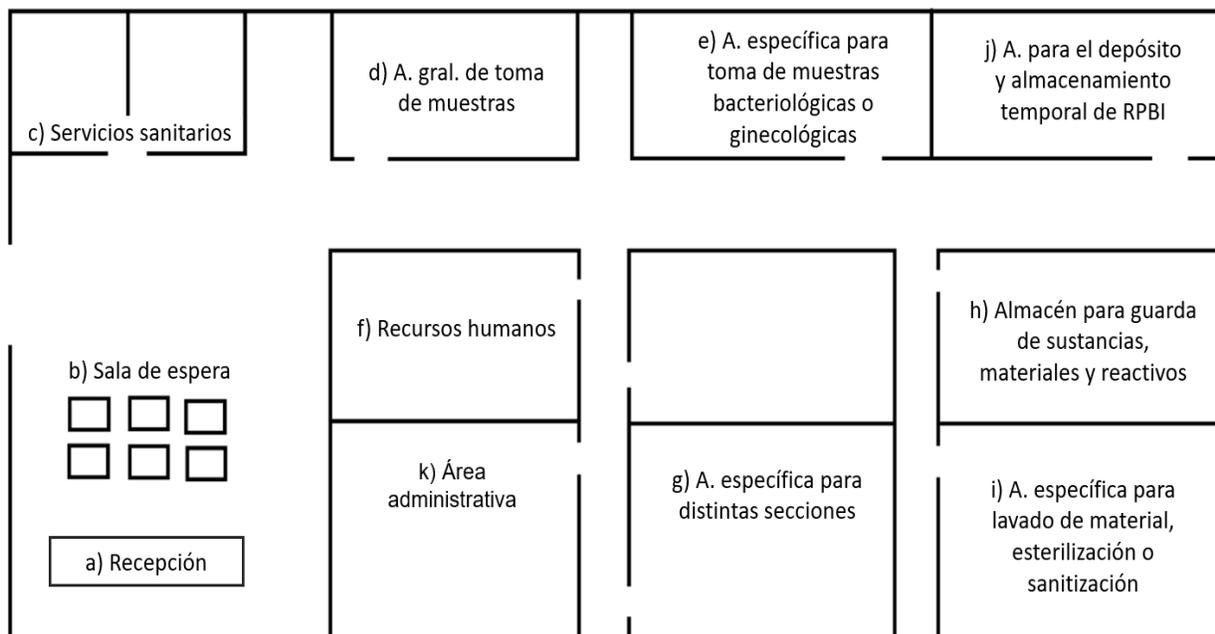


Figura 2. Requisitos mínimos de Infraestructura para un laboratorio clínico. El establecimiento debe contar con: recepción y sala de espera para para la recepción de solicitudes de estudios de laboratorio y entrega de resultados. Servicios sanitarios, área general de toma de muestras y área de toma de muestras bacteriológicas o ginecológicas que proporcionen privacidad, comodidad y seguridad al paciente. Recursos humanos. Área para distintas secciones de procesamiento de muestras donde se realizan los estudios de laboratorio, (en el caso de realizar actividades incompatibles, es necesaria la separación con una barrera física). Almacén para guarda de sustancias, materiales y reactivos conforme a lo establecido. Área específica para lavado de material, esterilización o sanitización, y en su caso un área para el depósito y almacenamiento temporal de RPBI de conformidad con lo establecido en la NOM-087, como mínimo para su funcionamiento (SS, 2011).

El itinerario completo de actividades que se lleva a cabo en un laboratorio clínico se denomina flujo de trabajo. Este abarca todas las operaciones, desde la solicitud del estudio hasta la notificación e interpretación de los resultados.

Al flujo de trabajo también se le conoce como Proceso Total de Análisis (PTA), y por lo general se compone de tres etapas principales (OMS, 2016):

1. **Preanalítica o preprocesamiento** (en la terminología ISO): consiste en la preparación del paciente (equipamiento e instrucciones para la toma de muestra), obtención o recolección de muestra, transporte, recepción en el laboratorio, registro, y acondicionamiento de muestras.

2. **Analítica o procesamiento:** consiste en la manipulación y procesamiento de muestras, preparación de reactivos, calibración, medición y lectura del instrumento.
3. **Postanalítica o postprocesamiento:** consiste en el registro de resultados, interpretación de resultados y entrega, así como el archivo o desecho de la muestra.



Figura 3. Proceso Total de Análisis (PTA) (OMS, 2016). Según las normas ISO, los procesos del laboratorio se dividen en tres etapas: preanalítica, analítica y posanalítica. También se utilizan otros términos similares, como procesos anteriores al análisis, durante el análisis y posteriores al análisis, o procesos previos a la prueba, durante la prueba y posteriores a la prueba. Es fundamental contar con un método de detección de errores en cada fase para asegurar la calidad (OMS, 2016).

Cuando se gestionan de manera adecuada todos los procesos y procedimientos dentro del PTA y se establece una estructura clara y práctica, se incrementan las posibilidades de alcanzar los objetivos de cada laboratorio clínico. Además se asegura un mecanismo para la implementación, supervisión y la mejora continua. Esto también depende del compromiso de la dirección y todas las áreas del establecimiento de salud (OMS, 2016). Cada resultado del laboratorio clínico debe ser obtenido con técnicas analíticas confiables, precisas y adecuadas para su propósito, bajo este enfoque se ha trabajado a lo largo del tiempo en la búsqueda de condiciones estandarizadas de operación.

Dada la complejidad de cada fase de laboratorio, se han identificado distintos tipos de errores, es crucial que todo el proceso sea controlado, desde la solicitud de las determinaciones hasta la interpretación de los resultados (Ledesma, et al., 2017), siendo así como el modelo de SGC que examina todo el PTA logra cumplir los objetivos respecto a la calidad. Este modelo permite detectar, reducir y corregir las posibles deficiencias que puedan surgir en los productos o servicios ofertados.

3.2. Calidad dentro del laboratorio clínico

Dentro del laboratorio clínico, el sistema integral involucra numerosos pasos de actividad y la participación de distintos profesionales del área para desarrollar los diferentes procesos y procedimientos con calidad.

A través de los años este concepto ha ido evolucionando en los laboratorios, impulsado por el desarrollo científico, la automatización y las nuevas plataformas tecnológicas. Esto ha puesto un desafío en implementación de nuevas directrices y mejores herramientas estadísticas que permitan mejorar la calidad (Salazar, 2019). El enfoque principal radica en lograr, mantener y mejorar la calidad, exactitud, puntualidad y la fiabilidad de los resultados analíticos (OMS, 2016).

En la Tabla 1 se presentan diversas definiciones generales respecto a la calidad, pese a que el concepto se originó principalmente en la industria, todas las definiciones se encuentran enfocadas a las necesidades y requerimientos del cliente (Westgard, 2014).

Tabla 1. Conceptos generales de calidad (Westgard, 2014).

Definición	Referencia
Totalidad de rasgos y características de un producto o servicio que caracterizan su habilidad para satisfacer necesidades dadas	ANSI/ASQC (American National Standards Institute / American Society for Quality) A3-1978. Calidad
Calidad significa apto para su uso	Joseph Moses Juran
Calidad significa conformidad con los requisitos	Philip Bayard Crosby
La Calidad debería estar dirigida a las necesidades del cliente	William Edwards Deming

En 1986 la agencia para la protección de la salud, *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), enfocó el concepto en las instituciones relacionadas con el cuidado de la salud y laboratorios de análisis clínicos señalando que: “La calidad de un servicio de pruebas de un laboratorio depende de proveer la totalidad de rasgos y características conforme a la necesidades implícitas o requeridas por usuarios o clientes” (p.4). Aunque esta definición no es reciente, aborda de manera precisa el concepto a resaltar, la multidimensionalidad de la calidad, que incluye aspectos como el paciente, la muestra, el tiempo de respuesta, el resultado de examen, el formato de reporte, el registro del paciente, etc., ya que es imposible definir la calidad de un producto o servicio en términos de una sola característica (Westgard, 2014).

En un mundo globalizado, ha surgido la necesidad de armonizar todas las funciones, componentes, programas, lineamientos, requisitos, estándares y herramientas en el laboratorio clínico, a través de la implementación del SGC.

Según Westgard (2014), este sistema “brinda toda la estructura organizativa, los procesos, los procedimientos y las herramientas para implementar las actividades necesarias para alcanzar los objetivos y los requerimientos de calidad (p.4), mientras la Gestión de Calidad (GC) describe las actividades o acciones necesarias para alcanzar tales objetivos y requerimientos” (p.3). En otras palabras, la GC define el conjunto de actividades y el SGC brinda un plan organizado para implementar esas actividades. Esta medida se toma con la finalidad de garantizar estándares consistentes en todo el mundo. Es importante establecer y diferenciar los conceptos relacionados, que se describen en la Tabla 2.

Tabla 2. Definiciones de calidad (Westgard, 2014).

	Definición
Calidad	Grado en el cual un conjunto de características inherentes satisface los requisitos establecidos.
Aseguramiento de la Calidad	Parte de la gestión de la calidad que tiene como función generar confianza en el cumplimiento de los requisitos de calidad establecidos.
Control de la Calidad	Parte de la gestión de la calidad que se concentra en garantizar el cumplimiento de los requisitos establecidos para la calidad.
Indicadores de la calidad	Observaciones estadísticas o datos establecidos por una organización o servicio, que caracterizan el rendimiento de un proceso de trabajo específico y tienen evidencia de que la organización o servicio cumple con sus objetivos de calidad.
Gestión de la Calidad	Conjunto de actividades coordinadas que tienen como objetivo principal dirigir y controlar una organización en relación con la calidad.
Sistema de Gestión de Calidad	Sistema utilizado para dirigir y controlar una organización en lo que respecta a la calidad.
Política de la calidad	Se refiere a las intenciones y orientación global de una organización en relación con la calidad, y está expresada formalmente por la alta dirección.
Elementos Esenciales del Sistema de Calidad	Serie de bloques de construcción organizados que conforman la estructura para la gestión de la calidad, también conocidos como "elementos esenciales del sistema de calidad".

La GC abarca políticas, procesos y procedimientos necesarios para organizar, realizar, y respaldar las pruebas de laboratorio, mientras que el Aseguramiento de la Calidad (AC) es el producto de este proceso e incorpora elementos del Control de Calidad (CC) durante todo el PTA. El CC es solo un componente primordial para el AC, el cual a su vez depende de diferentes aptitudes según se identifica en los elementos esenciales del sistema de la calidad del modelo de SGC establecido por el CLSI, que se describirá más adelante (Westgard, 2014).

El significado del CC también ha evolucionado y ha sido reemplazado por el término de AC, que es un concepto más amplio dentro del ámbito de la calidad.

El AC que abarca el PTA, surge como respuesta a las necesidades actuales. Ya no es suficiente el control, predicción y detección de errores, sino que se busca garantizar fiabilidad de inicio a fin asegurando cada componente involucrado (Camisón, Cruz & González, 2006).

Durante la etapa analítica se maneja un término más difícil, “la calidad analítica”, que es utilizado por profesionales de laboratorio que poseen conocimientos técnicos. Para el médico y paciente no es sencillo definir, medir o evaluar la calidad en términos técnicos de interés laboratorio, por consiguiente, es responsabilidad del profesional comprender las necesidades clínicas e interpretarlas para satisfacer las expectativas de los usuarios. Los análisis generan resultados numéricos no tangibles, a diferencia de los productos físicos, definiendo a la calidad de forma diferente. Con el propósito de hacerla una característica cuantitativa se han establecido metas, objetivos y requisitos que buscan garantizar la conformidad en los resultados analíticos (Westgard, 2014).

En el laboratorio moderno, la calidad analítica se vuelve más compleja debido a las diferencias en capacidades, recursos, conocimientos, técnicas y tecnologías variadas. Aunque cada establecimiento puede adaptar su SGC, a sus propias necesidades, todos deben garantizar el cumplimiento de los objetivos y requisitos de calidad. La relación entre la calidad y seguridad busca detectar y prevenir errores analíticos para obtener resultados correctos y precisos. El control estadístico de la calidad es una herramienta rentable para lograr este objetivo, siempre y cuando se diseñe e implemente de forma correcta (Westgard, 2003; Díaz & Santoyo, 2019).

Diversas organizaciones y autoridades en la materia como la Organización Mundial de la Salud (OMS), el Consejo Internacional para la Armonización de los Requisitos Técnicos de los Medicamentos para Uso Humano (ICH), la Cooperación Internacional de Acreditación de Laboratorios (ILAC), la Organización Internacional de Normalización (ISO), la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI) y la Federación Internacional de Química Clínica y Medicina de Laboratorio (IFCC), han asumido la responsabilidad de armonizar el desarrollo de normas, guías, protocolos y directrices internacionales (ema, 2008; Taverniers, et al., 2004). El objetivo es lograr la uniformidad en el desarrollo y aplicación de los estándares establecidos en estos documentos facilitando la cooperación internacional en beneficio de los usuarios. A nivel nacional los gobiernos, organismos y entidades también han desempeñado un papel importante al fortalecer este objetivo por medio de la implementación de normas, guías y manuales aplicados de forma puntual en cada país.

3.3. Marco legal correspondiente al laboratorio clínico

El laboratorio clínico como componente importante dentro de los servicios de salud, está sujeto a la observancia y cumplimiento de la legislación sanitaria respectiva (León, 2002). Actualmente existen diversos mecanismos que ayudan a satisfacer las especificaciones para su organización y funcionamiento.

El primer nivel en este proceso implica el cumplimiento de los requisitos legales para la operación, siendo esta diversa en todo el mundo y específica para cada país. En México los laboratorios clínicos pueden funcionar de manera independiente, ligado a un hospital, o como parte formal de clínicas y hospitales públicos o privados; el cumplimiento de los requisitos estipulados en la NOM-007-SSA3-2011, determina la legalidad de la operación. Esta norma a su vez es regulada, controlada y promovida por la Secretaría de Salud (SS), a través de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) y la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) (López, 2000).

Las normas aplicables a los laboratorios son diversas y cubren aspectos como funcionamiento, estructura, organización, condiciones ambientales, etc. Todas ellas se encuentran descritas en la página oficial del gobierno de México, específicamente en el apartado de la SS: <https://www.gob.mx/salud/documentos/normas-oficiales-aplicables-a-los-laboratorios?state=published>. Además de estas normas el laboratorio clínico también se rige por otros reglamentos, siendo algunos de carácter obligatorio y otros más opcionales.

Conocer el marco legal dentro de los sectores público, social y privado es imprescindible para operar de manera segura en un área tan compleja como lo es la salud, además es crucial comprender que el proceso de legislación sanitaria ha experimentado cambios en línea con los avances técnicos, médicos, de desregulación y modernización administrativa por lo tanto es necesario mantenerse actualizado en estos aspectos (León, 2002).

Dentro de los documentos más relevantes del marco jurídico dentro del laboratorio Clínico en México, encontramos los descritos en la Tabla 3.

Tabla 3. Marco legal para el funcionamiento del laboratorio clínico en México (León, 2002; INER, 2013).

DESCRIPCIÓN GENERAL	
Documentos de carácter obligatorio	
Ley General de Salud	Regula y garantiza el derecho a la protección de la salud de todas las personas en México. Establece las bases para el acceso a los servicios de salud y promueve la colaboración entre el gobierno federal y los estados, en temas de salud pública. Se aplica en todo el país y busca el bienestar social a través de disposiciones obligatorias.
Ley de Infraestructura de la Calidad	Regula y promueve estándares de calidad en áreas como metrología, normalización, certificación, acreditación y verificación. Garantiza la exactitud de las mediciones, la conformidad de productos y servicios. Además promueve la acreditación de organismos de evaluación. Busca fomentar la confianza del consumidor y la competitividad empresarial.
Normas Oficiales Mexicanas	
NOM-007-SSA3-2011. Para la Organización y Funcionamiento de los Laboratorios Clínicos.	Establece los requisitos y criterios que deben ser cumplidos para la organización y operación de los laboratorios clínicos. Es obligatoria tanto para los establecimientos de salud como para los profesionales y técnicos del sector público, social y privado que participen en los procesos relacionados.
NOM-087-ECOL-SSA1-2002. Protección ambiental. Salud ambiental. Residuos peligrosos biológico-infecciosos. Clasificación y especificaciones de manejo.	Establece la clasificación de los residuos peligrosos biológico-infecciosos y las directrices para su manejo adecuado. Es de carácter obligatorio para los establecimientos que generen este tipo de residuos y para los proveedores de servicios que estén directamente relacionados con ellos.
NOM-052-SEMARNAT-2005. Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos.	Establece el procedimiento para determinar si un residuo es considerado peligroso. Esta norma contiene listados de los residuos que se consideran peligrosos, así como las características que los clasifican como tales.
Documentos de carácter opcional	
Normas Mexicanas	
NMX-EC-15189-IMNC-2015	Especifica los requisitos de calidad y competencia para los laboratorios clínicos. Se enfoca en el desarrollo de sistemas de gestión de calidad y la evaluación de la competencia de los laboratorios clínicos. Además, puede ser utilizada para confirmar o reconocer la competencia de los laboratorios clínicos por parte de los clientes, las autoridades reguladoras y los organismos de acreditación.
Normas ISO	
ISO 9001-2008. Medical laboratories a Requirements for quality and competence.	Establece los requisitos de calidad y competencia para los laboratorios médicos. Esta norma es totalmente coincidente con la Norma Mexicana (NMX) NMX-EC-15189-IMNC-2015.

El 31 de enero del año 2018 se publicó en el DOF, el PROY-NOM-007-SSA3-2017, que introdujo importantes modificaciones, una de las principales es la obligación para cada laboratorio clínico de verificar el desempeño de los métodos analíticos cuantitativos, los cuales solo pueden ser utilizados si están previamente validados de manera documentada por el fabricante o por el propio laboratorio interno (SS, 2018). Sin embargo, debido a la falta de rigurosidad, esta obligación recae únicamente en los laboratorios clínicos acreditados o en proceso de acreditación, quienes tienen la responsabilidad de ofrecer servicios con validez técnica llevando a cabo la validación o verificación de los procedimientos de examen cuantitativos, según sea el caso (ema, 2008).

Como se puede observar, aunque contar con las bases legales es una garantía de calidad en los servicios, la práctica a nivel mundial demuestra que este nivel no es suficiente, y se requieren otros niveles organizacionales para lograr una calidad integral en los servicios ofrecidos. Si bien las normas dan una pauta de qué hacer para alcanzar un CC necesario para la función correcta del laboratorio clínico, no describen cómo aplicar procesos específicos como la evaluación de desempeño de los métodos, por esta razón los laboratorios buscan orientación a través de guías que ayudan a armonizar estos procesos y garantizar la calidad de sus servicios.

3.4. Certificación

El segundo nivel que permite ofrecer un servicio de calidad garantizando la competencia de un laboratorio es el de la certificación. Según la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD) (2020), la certificación es el “procedimiento por el cual se asegura que un producto, proceso, sistema o servicio se ajusta a las normas, lineamientos o recomendaciones de organismos dedicados a la normalización nacionales e internacionales” (p.5). Para el usuario es un indicador de calidad y confiabilidad.

Un laboratorio clínico certificado ha pasado por un proceso de evaluación y verificación, el objetivo es asegurar que se cumplen con los requisitos establecidos en una norma específica, en México la más común en este ámbito es la norma ISO

9001:2015, que aplica a todas las organizaciones sin importar su tipo, tamaño y producto (ema, 2020). Además de la ISO 9001, existen otras certificaciones específicas para áreas como la microbiología, patología, química clínica, entre otras.

La certificación se basa en estándares internacionales y son otorgadas por organismos de certificación que llevan a cabo auditorías y evaluaciones exhaustivas de sus procesos, equipos, personal que aseguran que el laboratorio cumple con los estándares establecidos y que sus prácticas y procedimientos son consistentes y confiables (López, 2000). La certificación además implica que el SGC ha sido evaluado y se ha determinado que cumple con los criterios de calidad, competencia técnica, control de procesos y satisfacción del cliente.

3.5. Acreditación

El tercer nivel es la acreditación, este alto grado de reconocimiento es definido por la Ley de infraestructura de la Calidad (2020), como el “acto por el cual una entidad de acreditación reconoce la competencia técnica y confiabilidad de los organismos de certificación, de los laboratorios de prueba, de los laboratorios de calibración y de las unidades de verificación para la evaluación de la conformidad” (p.4). En México, la entidad encargada de evaluar y acreditar los laboratorios clínicos es la *ema*, utilizando como referencia la norma NMX-EC-15189-IMNC-2008/ISO 15189:2015, que establece los criterios generales para la operación de los organismos de evaluación de la conformidad (Sierra, et al., 2008).

El proceso de acreditación implica una evaluación rigurosa, que incluye auditorías, inspecciones, revisiones de documentos y pruebas de desempeño. Su objetivo principal es brindar confianza tanto a los pacientes como profesionales de salud, ya que garantiza que el laboratorio cumple con altos estándares de calidad y competencia técnica. La acreditación en el país es un reconocimiento oficial y voluntario que demuestra el compromiso del laboratorio con la excelencia en la prestación de servicios de salud (SAE, 2022). La norma ISO15189, se ha establecido como una referencia para los laboratorios clínicos que desean demostrar el cumplimiento de los requerimientos descritos en la Tabla 4.

Tabla 4. Objetivos que el laboratorio clínico demuestra con la acreditación por la ISO 15189 (Gordillo, 2016; Terrés, 2007).

Objetivos	Definición
Operar un sistema de gestión eficaz y en mejora continua	Se implementa un SGC que proporciona una estructura organizativa, procesos, procedimientos y herramientas para implementar las actividades necesarias para alcanzar los objetivos y los requerimientos de calidad. Además de la revisión sistemática de todos los procedimientos operativos con el fin de identificar las posibles fuentes de no conformidad o áreas de mejora tanto en el SGC como en los procedimientos.
Ser técnicamente competente	Se verifica la competencia técnica del personal, así como la adecuación de las instalaciones y las condiciones ambientales. Se utilizan métodos o procedimientos validados, equipo y patrones confiables con trazabilidad. La competencia técnica se considera como la capacidad de generar resultados confiables, oportunos y médicamente relevantes.
Ser capaces de producir resultados de examen confiables	Además del SGC y la competencia técnica, se implementan programas de AC que se concentren en detectar, evaluar y corregir posibles errores, en las fases preanalítica, analítica y postanalítica. El objetivo es generar resultados técnicamente válidos, incluyendo la descripción de un Programa de Control Interno y un Esquema de Evaluación Externa que cumplan los estándares y requisitos establecidos por normas nacionales o internacionales.

La *ema* evalúa la competencia técnica de un laboratorio en función de los siguientes criterios de evaluación (ema, 2020):

- 1) Los requisitos establecidos en el punto 5.6 del “*Manual de procedimientos Evaluación y acreditación de laboratorios*”, basado en la norma NMX-EC-15189-IMNC-2015/ ISO 15189:2012.
- 2) La Norma NMX-EC-15189-IMNC-2015/ISO 15189:2012.
- 3) La Ley de Infraestructura de la calidad.
- 4) El sistema de gestión propio desarrollado para el cliente.
- 5) Las disciplinas o métodos incluidos en el alcance de la acreditación solicitada por el cliente.

La acreditación es un proceso en el cual una entidad externa verifica y confirma la competencia y capacidad de un organismo para llevar a cabo evaluaciones de conformidad de manera adecuada y confiable. La evaluación de la conformidad se refiere a la evaluación del nivel de cumplimiento con las normas oficiales mexicanas,

normas mexicanas, disposiciones técnicas emitidas por el IFT, normas internacionales u otras especificaciones, requisitos o características. Esto abarca procedimientos como certificación, verificación, ensayo, muestreo y calibración (ema, 2020), como se detalla en la Tabla 5.

Tabla 5. Contenido de la norma ISO 15189: 2003 por capítulos (Terrés, 2007).

Capítulos de la Norma ISO 15189: 2003	
1. Introducción	4.11. Acciones preventivas
2. Alcance	4.12. Mejora continua
3. Definiciones y terminología	4.13. Control de registros
4. Requisitos del sistema de gestión	4.14. Auditoría interna
4.1. Organización	4.15. Revisión de la dirección
4.2. Sistema de gestión	5. Requisitos técnicos
4.3. Control de documento	5.1. General
4.4. Revisión de contratos	5.2. Instalaciones y condiciones ambientales
4.5. Subcontratación	5.3. Equipo de laboratorio
4.6. Abastecimientos	5.4. Procedimientos preexamen
4.7. Servicio al cliente	5.5. Procedimientos de examen
4.8. Quejas	5.6. Control de la calidad
4.9. Control de no conformidades	5.7. Procedimientos post examen
4.10. Acciones correctivas	5.8. Informe de resultados

Es importante recalcar que la acreditación es un proceso periódico, generalmente tienen una validez de años, pero los plazos pueden variar según los reglamentos y políticas de la *ema*. Los laboratorios deben mantener un sistema de mejora continua y someterse a auditorías regulares para mantener su estatus acreditado. Esto asegura que se mantenga la calidad y competencia del laboratorio a lo largo del tiempo.

3.6. Acreditación en México y América Latina

La norma ISO 15189, “*Medical laboratories. Requirements for quality and competence*” comenzó a circular a finales del año 2003, lo que brindó a los laboratorios clínicos la oportunidad de evaluar la calidad de sus servicios de acuerdo con estándares reconocidos a nivel nacional e internacional. Esto abarcó tanto la gestión de calidad como la competencia técnica del laboratorio. En América Latina, existen diferentes organismos y entidades de acreditación en cada país (Sierra, 2008; Westgard, 2013).

En México, la *ema* ha estado acreditado a los laboratorios clínicos desde 1999, año en el que nace esta organización, con la autorización de nueve dependencias del ejecutivo federal que emiten las NOM de cumplimiento obligatorio. Inicialmente se aplicaron normas a laboratorios de ensayo como son: la NMX-CC-13-1992, NMX-EC-025-IMNC-2000 y NMX-EC-17025-IMNC-2000, sin embargo, a partir del trabajo del Grupo de Trabajo de Laboratorios Clínicos (GTLC) en septiembre de 2005 se realiza la primera evaluación bajo la Norma ISO 15189:2003 (Sierra, 2008; *ema*, 2008).

En el año 2004 algunos organismos de certificación en América Latina iniciaron la traducción de la norma al español, marcando el comienzo de una nueva era para la calidad en la región. La disponibilidad de la norma en el idioma local facilitó su implementación y adopción por parte de los laboratorios. Es el 22 de septiembre del año 2006 cuando entra en vigor la NMX-EC15189-IMNC-2006/ISO 15189:2003 que homologa a la norma internacional ISO1589.

Hasta el año 2009, se habían acreditado 18 laboratorios clínicos bajo la norma mexicana, que paulatinamente para el año 2012 sumaban 28 laboratorios clínicos y 2 bancos de sangre (Sierra, 2008; Quintana, 2015).

En la actualidad, México se coloca dentro de los primeros lugares en las Américas en términos de acreditación, contando hasta el año 2020 con 151 laboratorios clínicos acreditados. Sin embargo, a diferencia de otros países como Canadá, en México la acreditación es hasta ahora voluntaria (*ema*, 2020),

Aunque actualmente se cuenta con una suma importante de laboratorios acreditados, el número de estos ha incrementado moderadamente considerando que hasta el año 2017 se contaba con 10000 laboratorios clínicos públicos y privados en funcionamiento, dejando en muchos de ellos vacíos en el camino hacia la calidad. Los números indican que aún hay un camino largo por recorrer en términos de calidad.

La Tabla 6, concentra información de varios países de América Latina, incluyendo la población total, el número total de laboratorios clínicos públicos y privados, así como su respectiva institución acreditadora, el número de laboratorios acreditados y el porcentaje de este hasta el año 2017.

Tabla 6. Porcentaje de laboratorios acreditados por país vs. número total de laboratorios del país (Pasquel, 2018).

País	Población (millones de habs.)	No. de Laboratorios			No. de lab. acreditados	% de lab. acreditados	Institución Pública Acreditadora
		Públicos	Privados	Total por país			
Argentina	43,85	s/d	6300	9000	959	10.66%	Organismo Argentino de Acreditación (OAA)
Bolivia	10,89	700	1300	2000	0	0%	Organismo Boliviano De Acreditación (OBA) Dirección Técnica de Acreditación del Instituto Boliviano de Metrología
Brasil	207,70	5700	15000	20700	435	2.10%	Instituto Nacional de Metrología (INMETRO)
Chile	17,91	328	472	800	3	0.38%	Instituto Nacional de Normalización (INN)/ Sistema Nacional de Acreditación (SNA)
Colombia	48,65	s/d	s/d	3283	6	0.18%	Organismo Nacional de Acreditación Colombiana (ONAC)
Costa Rica	4,86	s/d	s/d	443	4	0.90%	Ente Costarricense de Acreditación (ECA)
Cuba	11,48	468	s/d	468	0	0%	Órgano Nacional de Acreditación de la República de Cuba (ONARC)
Ecuador	16,39	s/d	4000	4000	5	0.13%	Servicio de Acreditación Ecuatoriano (SAE)
Guatemala	16,58	150	1200	1350	4	0.30%	Organismo Guatemalteco de Acreditación (OGA)
Honduras	9,11	s/d	s/d	400	0	0%	Organismo Hondureño de Acreditación (OHA)
México	127,50	3000	7000	10000	92	0.92%	Entidad Mexicana de Acreditación (<i>ema</i>)
Paraguay	6,73	182	600	782	0	0%	Organismo Nacional de Acreditación de Paraguay
Perú	31,77	s/d		4500	0	0%	Instituto Nacional de Calidad (INACAL)
República Dominicana	10, 00	288	331	619	3	0.48%	Organismo Uruguayo de Acreditación
Uruguay	3,44	76	154	230	1	0.43%	Organismo de Acreditación de la República Dominicana (ODAC)
Venezuela	31,57	1200	3000	4200	1	0.02%	Servicio Autónomo Nacional de Normalización de Calidad Metrología y Reglamentos Técnicos (SENCAMER)

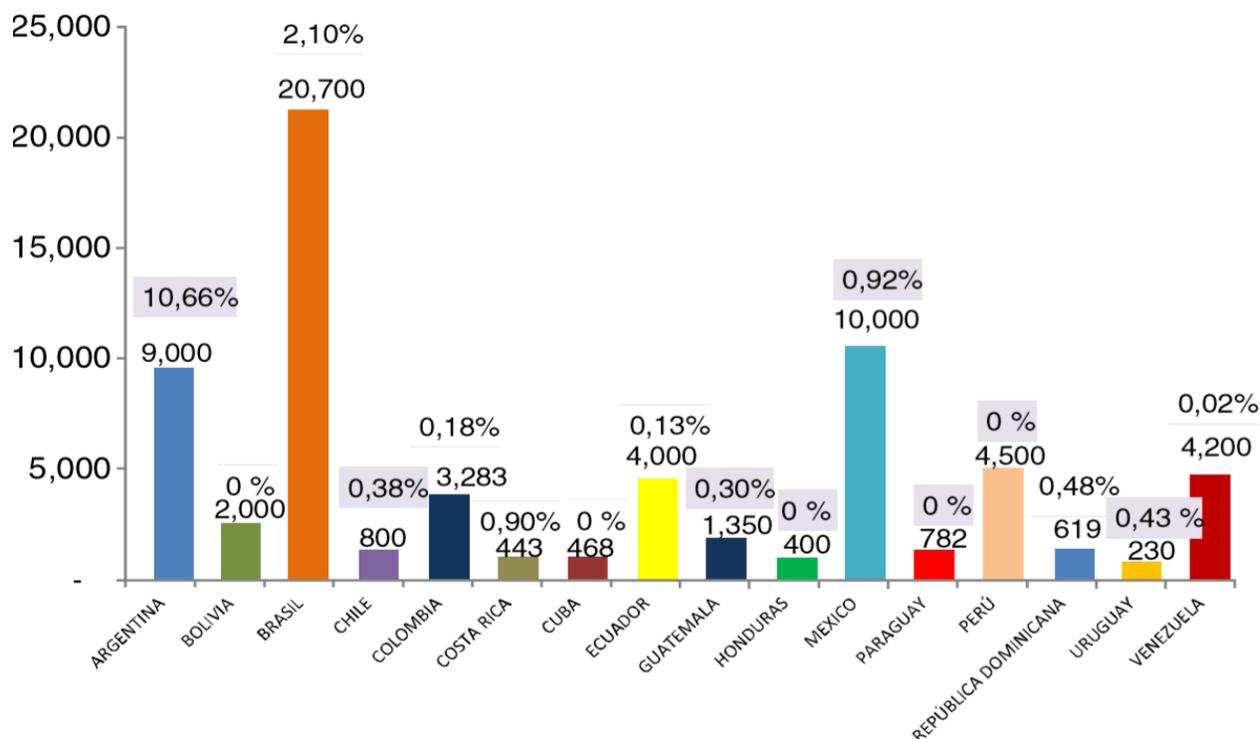


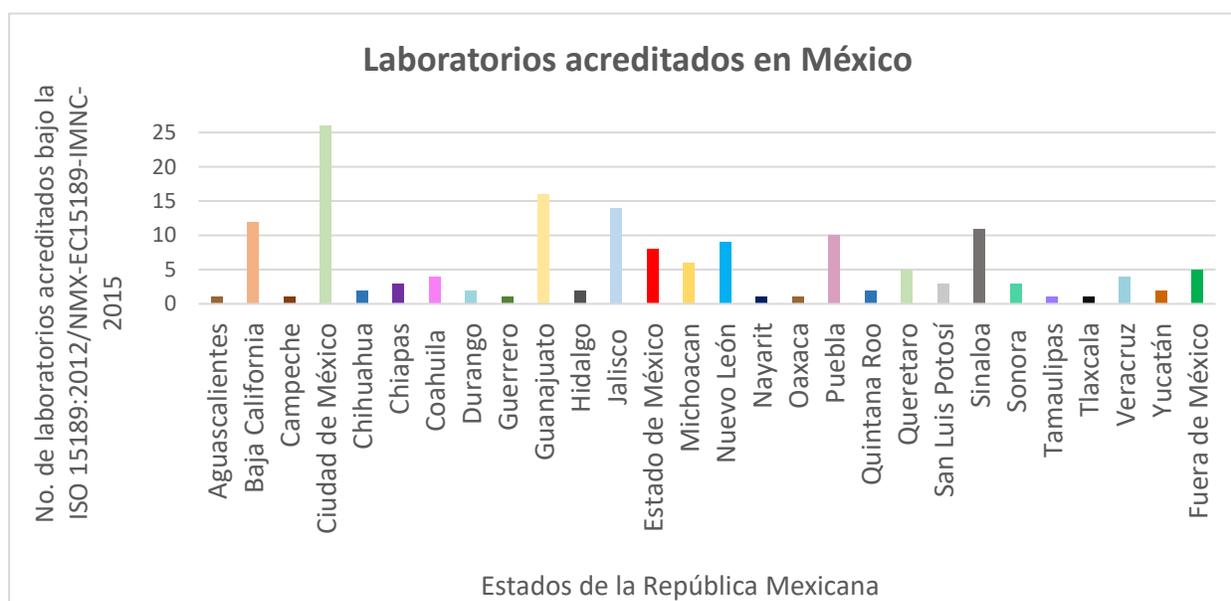
Figura 4. Porcentaje de laboratorios acreditados por país vs. número total de laboratorios del país (Pasquel 2018). Hasta agosto de 2017 países como Bolivia, Cuba, Honduras, Paraguay y Perú, no contaban con ningún laboratorio clínico acreditado. A diferencia de estos países, Argentina, Brasil y México tienen los porcentajes más altos de laboratorios acreditados con 10.66%, 2.10% y 0.92% respectivamente; Chile, Colombia, Costa Rica, Ecuador, Guatemala, R. Dominicana, Uruguay y Venezuela son países que no exceden el 0.5% de laboratorios clínicos acreditados; todos los países en la lista cuentan con una Institución Pública Acreditadora sin embargo por su situación política algunos se encuentran inactivos, lo que trunca el propósito de acreditarse.

De acuerdo con Pasquel (2018), hasta el año 2017 México contaba con el 0.92% de laboratorios acreditados bajo la norma NMX-EC15189-IMNC-2015 / ISO 15189:2012, con un total de 3000 laboratorios públicos y 7000 privados, colocándose entre los tres primeros países con mayor número de laboratorios acreditados bajo la ISO 1589 en América Latina por detrás de Argentina y Brasil. Sin embargo existe una notable desproporción notoria en los laboratorios acreditados en esta región del continente.

A lo largo de los años, las desigualdades sociopolíticas de los países han causado enormes diferencias, ocasionando un impacto significativo y crítico en el proceso de acreditación. Basta con observar la Tabla 6, donde se evidencia que países como Bolivia, Honduras, Perú y Paraguay no cuentan con ningún laboratorio acreditado en sus respectivas naciones.

Incluso teniendo un ente acreditador y guías para la acreditación, países como Cuba no ha logrado acreditar ninguno de sus 468 laboratorios públicos. El contraste lo representa Brasil, por ejemplo, que cuenta con tres entes acreditadores: El INMETRO, por parte del gobierno, tiene 5 laboratorios acreditados, el Sistema Nacional de Acreditación patrocinado por la Sociedad Brasileña de Análisis Clínicos, con 320 laboratorios acreditados. Por último el Programa de Acreditación de Laboratorios Clínicos, que tiene su propia norma, cuenta con cerca de 110 laboratorios clínicos acreditados. Otro claro ejemplo de esta marcada diferencia lo representa Argentina, que en total cuenta con un 10.66 % de laboratorios acreditados de sus 9000 laboratorios clínicos públicos y privados (Pasquel, 2018).

Para finales del año 2020, la *ema* como organismo acreditador en México, tenía registrado en su base de datos a 151 laboratorios clínicos acreditados. La Gráfica 1, muestra la distribución de los laboratorios clínicos acreditados bajo la norma ISO 15189:2012/NMX-EC15189-IMNC-2015, en toda la República Mexicana.



Gráfica 1. Laboratorios clínicos acreditados en México bajo la ISO 15189:2012/NMX-EC15189-IMNC-2015. De las 32 entidades federativas (31 estados y 1 capital federal) solo 27 estados cuentan con laboratorios clínicos acreditados en su región. La Capital del país es la región con mayor número de laboratorios acreditados (26), siendo Aguascalientes, Campeche, Guerrero, Nayarit, Oaxaca, Tamaulipas y Tlaxcala los estados con menos laboratorios acreditados (1). La *ema* también ha acreditado a laboratorios clínicos fuera del país, acreditando un total de 5 laboratorios clínicos entre República Dominicana y Perú (*ema*, 2020).

Además de los laboratorios clínicos, la *ema* cuenta con una base de datos que permite examinar a los laboratorios acreditados en diferentes áreas, como investigación, calibración, ensayo, ciencias forenses, bancos de sangre y vacunas. El catálogo de acreditados y reconocidos se puede encontrar en la siguiente enlace: https://www.ema.org.mx/portal_v3/.

México tiene un compromiso firme con la acreditación y desempeña un papel importante en el fenómeno de la calidad que ha permitido generar diversos organismos y entidades encargados de promover y facilitar la acreditación de laboratorios, instituciones y servicios en distintas áreas. Es un país que se encuentra en una etapa temprana en cuanto a la cultura de la calidad, el camino hacia el logro de los objetivos en este ámbito es largo.

La norma vigente, NMX-EC15189-IMNC-2015/ISO15189:2012, otorga la acreditación a laboratorios clínicos de diversas dimensiones, con volúmenes variables de muestras procesadas y sistemas analíticos más o menos automatizados, junto a estas diferencias también radica la inversión de tiempo y dinero de cada laboratorio en el manejo de la calidad.

El desafío para América Latina sigue latente, generar guías y directrices para lograr la implementación efectiva de un SGC. Es fundamental que estos sistemas se basen en aplicaciones prácticas y reales para que se alcance un acceso equitativo a ellos.

Cada laboratorio se enfrenta al papel de fortalecer capacidades que permitan cumplir con los estándares de acreditación, esto implica, mejorar: infraestructura, capacitación del personal y establecer procesos de mejora continua.

La falta de recursos financieros seguirá presente, especialmente para laboratorios de bajos recursos, ya que la acreditación requiere de inversiones significativas. Promover la cultura de calidad en todos los niveles del sistema de salud genera un desafío, pero es fundamental formar conciencia sobre su importancia, no solo para los establecimientos, sino para el paciente. Hasta hoy, ningún país de la región ha adoptado la norma ISO 15189 como una regulación obligatoria, no obstante varios países se han comprometido en incluir conceptos de esta norma internacional en sus propias regulaciones.

3.7. Validación y verificación de métodos analíticos como parte del Sistema de Gestión de Calidad

Antes conocida como validación primaria, la validación de métodos analíticos dentro del laboratorio clínico es un proceso de evaluación inicial. El fabricante de reactivos, procedimientos e instrumentos de medición es el encargado en proporcionar las especificaciones técnicas del desempeño del método, por lo general, esta información se encuentra en el instructivo de uso de los reactivos o en el inserto. Es posible que en determinados casos se necesite realizar la validación dentro del laboratorio clínico, como se precisará más adelante.

La validación se evalúa mediante guías internacionales. En esencia, esta herramienta es un proceso estándar en el que se obtiene información para su posterior análisis con el fin de evaluar de manera estándar su aceptabilidad, es un proceso más exhaustivo y extenso que la verificación (Theodorsson, 2012; Bignardi, 2016).

El manual de la *ema* también recomienda que el laboratorio clínico presente una comparación acerca de la información dada por el fabricante respecto a bibliografía científica sobre el mismo método de medición, con el fin de respaldar la información proporcionada y asegurar la confiabilidad de la validación (*ema*, 2008).

Aunque la validación corresponde a los fabricantes, sigue siendo responsabilidad del laboratorio confirmar que se hayan recolectado los datos adecuados y que estos muestren que los nuevos métodos cumplen con un desempeño aceptable para su uso.

La verificación, conocida como validación secundaria, se realiza después de la validación. En este proceso, se limita a confirmar los datos de validación bajo condiciones del laboratorio clínico de rutina para garantizar que el método se utilice según el propósito previsto.

Es responsabilidad específica del analista químico encargado, el planificar y aplicar la verificación de métodos. Asimismo entender todo el proceso es de utilidad para los jefes de laboratorio encargados de la supervisión de esta herramienta analítica (Eurachem, 2016).

La información obtenida a través de la validación y verificación nos permite evaluar el nivel de error presente en el método, asegurando así que la magnitud del error no afecte la interpretación del resultado del examen ni comprometa el cuidado del paciente. En caso de que los errores fueran significativos y comprometieran la interpretación de resultados para el paciente, el método no sería aceptado (Rodríguez, 2021).

La verificación y validación son fundamentales en un SGC para garantizar la calidad de los análisis ofertados, prevenir errores y cumplir con los requisitos y expectativas establecidos. El camino hacia la calidad es un proceso complejo que no se logra por casualidad, requiere de actividades cuidadosamente planificadas y gestionadas para lograr la calidad total. Uno de los elementos clave en un SGC corresponde a diferentes aptitudes conocidas como **Elementos Esenciales del Sistema de la Calidad**, estos pueden variar ligeramente en su terminología y estructura, dependiendo del marco de referencia utilizado.

Uno de los manuales más comunes en el campo es el “*Manual del Sistema de Gestión de la Calidad de Laboratorio*”, desarrollado por la OMS, el CLSI y los CDC. Dentro del manual se presentan los doce “puntos esenciales del sistema de gestión de calidad”, que representan diferentes elementos esenciales necesarios para dirigir y controlar la calidad de las pruebas y servicios en un laboratorio clínico (OMS, 2016; Westgard, 2014).

Estos doce puntos son considerados pilares fundamentales ya que proporcionan pautas para dirigir y controlar la calidad de las pruebas y servicios que ofrece el laboratorio clínico. Abarcan todas las fases o etapas analíticas, aunque no hay un orden específico para su desarrollo e implementación. Su objetivo es de garantizar que se cumplan con los estándares y requisitos establecidos por las normas y regulaciones correspondientes.

En la Tabla 7 se recopilan los puntos o elementos esenciales descritos en el manual antes mencionado junto con sus características generales.

Tabla 7. Puntos esenciales del SGC dentro del laboratorio clínico (Westgard, 2013).

Puntos esenciales	Características
Organización	La alta dirección debe comprometerse con la calidad y liderar la planificación del SGC. Se recomienda contar con un equipo de dirección de la calidad y un gerente, así como establecer una política de la calidad. Se debe definir metas y objetivos que guíen el procesos y midan el desempeño del laboratorio.
Foco en el cliente	Es importante entender las necesidades de los clientes, consumidores y usuarios, como lo son, pacientes, médicos, enfermeras y equipo médico, incluyendo el personal de laboratorio. La dirección debe planificar y desarrollar procedimientos que se enfoquen en las necesidades de los clientes, para después monitorear el desempeño, la calidad, la satisfacción al cliente y las quejas.
Instalaciones y seguridad	Se necesita un espacio diseñado apropiadamente para proporcionar los servicios técnicos. Los programas de seguridad son esenciales para proteger a los pacientes, al hospital y al personal de laboratorio de cualquier daño proveniente de las operaciones en el mismo.
Personal	Es necesario contar con personal profesional y técnico calificado para garantizar la calidad. Se requiere de capacitación en servicio y educación continua para mantener y actualizar las habilidades técnicas y el conocimiento científico. Es preciso realizar evaluaciones periódicas de competencia para mantener un personal capacitado.
Compras e inventario	El laboratorio debe especificar requisitos de provisiones, materiales y servicios para asegurar el cumplimiento de las metas y objetivos de la calidad. Asegurarse de considerar las especificaciones técnicas y costos, incluso si hay otros responsables. Responsabilizarse de exámenes y calificaciones necesarias para garantizar la calidad de los materiales entrantes. Son importantes los procesos de inventario, seguimiento y monitoreo del almacenamiento, así como los nuevos pedidos.
Equipamiento	La adquisición de equipamiento analítico y sistemas es una actividad crítica ya que la calidad de las pruebas es determinada por la calidad de los sistemas analíticos adquiridos en la industria. Es esencial desarrollar especificaciones y revisar el desempeño de los sistemas disponibles, así como la selección en base al costo-calidad, la calificación y la validación del desempeño en el laboratorio y el mantenimiento continuo.
Gestión del proceso	Este punto cubre todo el PTA, incluyendo el diseño de procesos, la verificación o validación del desempeño, el control continuo, el monitoreo a través de esquemas de evaluación externa, la gestión de eventos y el inicio de acciones correctivas y preventivas.
Documentos y registros	Es importante contar con documentos y registros que cumplan con requisitos de contenido y formato. Se necesita un SG de documentos para asegurar la identificación y actualización de políticas, procesos, procedimientos y formularios. Además se necesita un SG de registros para monitorear la creación, identificación, cambio, retención y almacenamiento adecuado de los registros

Tabla 7. Puntos esenciales del SGC dentro del laboratorio clínico (Westgard, 2013).

Puntos esenciales	Características
Gestión de la información	La gestión de información es importante para mantener un servicio eficaz. La distribución de informes y resultados se logra a través de sistemas de información electrónica. Debe asegurarse la seguridad del acceso y la confidencialidad de la información, así como la exactitud de los informes, el almacenamiento y la retención de registros.
Gestión de eventos de no Conformidad	La gestión de incidencias se refiere a la identificación y manejo de eventos de no conformidad, que incluyen errores, problemas, fallas de aparatos, informes de incidentes críticos y quejas. El conocimiento las incidencias debe llevar a la implementación de acciones correctivas y preventivas así como mejoras continuas. Las incidencias desconocidas, como posibles fallas en los procesos, deben abordarse utilizando técnicas de gestión de riesgos.
Evaluaciones	Las evaluaciones continuas son fundamentales para evaluar la calidad y el desempeño del laboratorio. Se utilizan diferentes técnicas, como controles de proceso e indicadores de la calidad y el desempeño para monitorearlas. Las auditorías periódicas y la revisión son importantes. Además, las evaluaciones externas incluyen programas de pruebas de aptitud, programas de comparación de resultados, inspecciones y acreditaciones.
Mejora continua	La información de no conformidades, evaluaciones internas y externas, auditorías y la revisión de la dirección deben identificar las necesidades de mejora y resultar en planes de acción específicos que mejoren el servicio. En contraste con las acciones correctivas y preventivas, la mejora continua debería apuntar a eliminar los problemas y alcanzar nuevos niveles de calidad y desempeño.

Dentro del marco de los doce puntos esenciales del SGC, la **gestión del proceso** representa un elemento con distintas actividades y funciones necesarias para garantizar los elementos de salida dentro de un laboratorio clínico. Su enfoque principal radica en detectar, evaluar y corregir los errores posibles, abarcando cada una de las fases del PTA.

Esta área se encarga del control de actividades necesarias en el análisis de las diferentes muestras con las que trabaja cada establecimiento; incluye además aspectos y actividades relacionadas con el AC, si bien los puntos esenciales no forman parte del aseguramiento, si son esenciales para que se cumplan los objetivos de calidad (Westgard, 2014). La Tabla 8 detalla los procedimientos y características que componen a la gestión del proceso.

Tabla 8. Gestión del proceso dentro del SGC en el laboratorio de análisis clínicos.

GESTIÓN DEL PROCESO	Características	
	Diseño	Es un enfoque sistemático que permite crear y mejorar los procesos con el objetivo de lograr una mayor eficiencia, calidad y satisfacción al cliente.
	Verificación o validación del desempeño	Los procesos críticos para la calidad del producto del laboratorio necesitan una validación y/o una verificación, para confirmar su uso previsto antes de su implementación.
	Monitoreo a través de Esquemas de Evaluación Externa de la Calidad (EQA) e indicadores de la calidad	La EQA, es un sistema que permite evaluar de manera objetiva el rendimiento de un laboratorio clínico utilizando una agencia o instalación externa. Es un indicador de la calidad, que es la medida del grado para el cual un conjunto de características inherentes satisface los requisitos, se recomienda que esta medición sea expresada en términos del número de defectos por millón de oportunidades u ocasiones (DPMO) o en la escala seis sigma.
	Control continuo	Estrategia sistemática y periódica para mejorar la calidad de un laboratorio, abarcando tanto los elementos de entrada como de salida que conectan estos procesos. Se trata de una estrategia que busca resolver problemas, incluso aquellos que son difíciles de describir, a través de la mejora de uno o varios procesos.
	Gestión de eventos o cambios	Asegura que el proceso sea monitoreado constantemente, lo que permite la mejora continua. Se debe priorizar los procesos que tengan una relación directa con un riesgo de alto impacto.
	Inicio de acciones correctivas y preventivas	La acción preventiva se implementa para eliminar la causa de una no conformidad potencial u otra situación indeseable y pretende eliminarla antes de su existencia, evitando problemas, identificando los riesgos y previenen la ocurrencia de las no conformidades.

El documento del CLSI, H01-A2, “*A Quality Management System Model For Health Care*”, es una guía complementaria que proporciona una estructura y un enfoque integral sistemático para dirigir organizaciones enfocadas al cuidado de la salud con calidad. Este documento describe de forma más detallada los puntos esenciales del SGC, dentro de ellos a la gestión del proceso.

En su descripción se evidencia que este punto esencial va más allá del CC, ya que abarca el diseño, validación y control del proceso de producción, con el objetivo de cumplir con las necesidades del cliente, es decir, lograr la calidad prevista de los

resultados de las pruebas. Esto indica la necesidad de un enfoque más amplio en el SC, con el fin de cumplir con este punto esencial.

Las características que se describen en la gestión del proceso incluye lo siguiente (Westgard, 2014):

- Identificar las necesidades y expectativas del cliente para cumplir con el diseño del producto o servicio.
- Diseñar y documentar operaciones de trabajo, ya sean habituales, nuevas o modificadas de acuerdo con las necesidades y expectativas del cliente.
- Determinar y validar o verificar las especificaciones de desempeño de los equipos y suministros.
- Establecer los plazos de entrega para la producción de un producto o la prestación de un servicio.
- Validar y/o verificar que los procesos nuevos o modificados cumplan con el propósito y las expectativas del cliente.
- Asegurarse que los procedimientos documentados estén disponibles en todas las áreas de trabajo.
- Desarrollar e implementar un programa de control de calidad.
- Seleccionar y utilizar herramientas estadísticas apropiadas para documentar el desempeño del proceso.

Dentro de la gestión del proceso, una de las herramientas estadísticas más importantes dentro de la fase analítica, corresponde a la **validación y verificación de métodos analíticos**.

Estas herramientas varían en función de diferentes criterios, por ejemplo, si se trata de un método normalizado o no y el tipo de método, ya sea un método cualitativo o cuantitativo.

En el contexto del laboratorio clínico, un método analítico es el conjunto de operaciones descritas de manera específica, utilizada en la realización de un análisis de acuerdo con un método determinado. Abarca el material y equipamiento necesario para llevar a cabo un análisis químico y obtener un resultado o medición (OMS, 2016).

Por sus características y de acuerdo con los resultados que producen, estos se han clasificado en la Tabla 9.

Tabla 9. Tipos de métodos analíticos en el laboratorio (OMS, 2016).

Tipo de método	Características generales
Cuantitativo	Mide la cantidad exacta y precisa de analito presente en la muestra. La medición se expresa como una unidad de medida concreta. La urea por ejemplo se reporta en mg/dL.
Cualitativo	Evalúan la presencia o ausencia de sustancias o elementos específicos, así como de características determinadas, como la morfología celular. Los resultados no se expresan en una unidad de medida, si no en resultados cualitativos: “positivo”, “negativo”, “reactivo”, “no reactivo”, “normal”, “anómalo” o describiendo características más específicas. Por ejemplo, los inmunológicos que reportan la presencia o ausencia de antígenos y anticuerpos, o algunas pruebas bioquímicas.
Semicuantitativo	No proporciona resultados numéricos, los resultados de estos análisis reflejan la estimación de la cantidad de la sustancia presente en la muestra. Se expresa frecuentemente en términos como “cantidad mínima”, “cantidad moderada” o también son usados los signos como +, ++, +++. Las tiras reactivas para orina, o algunas aglutinaciones que ofrecen un título son un ejemplo, ya que no ofrecen un valor exacto.

En la actualidad el concepto de sistema analítico se integra de manera más precisa en lo que respecta a la validación y verificación analítica. La definición del término se refiere a la sinergia y la interacción entre equipos, reactivos, materiales, documentos, materiales de referencia, analistas y variables operativas que se utilizan en un método de análisis para generar un resultado (Rodríguez, 2021). Es una perspectiva que reconoce la importancia de considerar todos los elementos que influyen en la calidad de los resultados.

Cuando se decide adoptar un método en particular para introducirlo a los análisis de rutina, el objetivo es seleccionar aquel que tenga la mayor oportunidad de alcanzar los requisitos de servicio establecidos.

Para lograr este objetivo, primero se identifican los requisitos buscando en la literatura técnica, y luego se elige el método cuyas características se ajustan de manera óptima a los requisitos propios del servicio del laboratorio clínico.

Las características más importantes que se evalúan en un método se pueden clasificar en varias categorías según lo propuesto por Westgard, (2013):

- **Características aplicación:** Son factores que determinan si un método puede ser implementado en una situación, por ejemplo: costo de examen, tipos de muestras que pueden analizarse, volumen de la muestra, tiempo de entrega de resultados, carga de trabajo, requisitos de equipo y personal, espacio disponible, transporte y consideraciones de seguridad.
- **Características metodológicas:** Son factores que contribuyen a un mejor desempeño, como lo son: la selección de la reacción química, la optimización de las condiciones de reacción, los principios de estandarización y calibración, así como el rigor del procedimiento analítico en términos de sensibilidad y especificidad analíticas del método.
- **Características de desempeño:** Son factores que en la práctica muestran qué tan bien se funciona un método, mediante características como, el rango reportable, precisión, recuperación, interferencia, exactitud y algunas veces el límite de detección.

A lo largo del tiempo los métodos analíticos cuantitativos se han adaptado a tecnologías, técnicas analíticas y nuevos equipos que se consideran sistemas analíticos de exámenes múltiples, complicando el proceso de selección. No se debe perder el objetivo y justificación de las características de desempeño importantes para cada laboratorio.

En primer lugar se vuelve necesario pasar por una revisión exhaustiva de la literatura que permita observar las características de desempeño. Una vez seleccionado el método, el laboratorio debe validar o verificar las características de desempeño de todos los exámenes en el sistema.

La validación y verificación de métodos son herramientas que establecen expectativas realistas para el analista y el usuario, asegurando que cada uno de los métodos mide correctamente las concentraciones en matrices biológicas, y los resultados son precisos y adecuados para el propósito propio de cada establecimiento (Westgard, 2013; Nichols, 2009).

3.7.1. ¿Cuál es la diferencia entre validación y verificación?

La validación es un proceso que permite definir un requisito analítico y confirmar que un método analítico cuenta con capacidades necesarias para su aplicación (Eurachem, 2016). El objetivo del proceso es demostrar que un método es adecuado y aplicable a un tipo específico de muestra de ensayo, así como a un rango de concentración definido del analito de interés (llamado en conjunto "sistema analítico"), y que por ende mide realmente lo que está destinado a medir, cumpliendo su uso previsto (Taverniers, et al., 2004).

La norma ISO 15189 emplea el término "uso previsto" para describir la aplicación específica de un examen de laboratorio. Sin embargo, en el contexto de validación y verificación este término abarca un concepto más amplio que incluye elementos tales como el tipo de muestra, volumen de muestra, entre otros aspectos relevantes. Es importante tener en cuenta que si existen diferentes usos previstos para el método entonces se deben realizar validaciones para cada uno de ellos (Westgard, 2013).

En la Tabla 10, se presentan diferentes definiciones de validación, lo cual es útil para comprender mejor el concepto y sus diferentes enfoques.

Tabla 10. Definiciones del concepto de validación de documentos nacionales e internacionales (Eurachem, 2016; ema, 2008).

Definición	Referencia
Confirmación, a través de la aportación de evidencia objetiva, de que se han cumplido los requisitos para un uso o aplicación específico previsto	ISO 9000
Confirmación, a través del examen y aportación de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto	ISO/IEC 17025
Verificación*, donde los requisitos especificados son adecuados para un uso previsto	International Vocabulary of Metrology (VIM)
Confirmación mediante el suministro de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos del método para una utilización o aplicación específica prevista	NMX-CH-152-IMNC-2005
*VIM define verificación como la "aportación de evidencia objetiva de que un elemento dado satisface los requisitos especificados.	

En el libro, “*Prácticas Básicas de Control de Calidad*”, Westgard (2013) plantea dos preguntas fundamentales que ayudan a comprender el significado de las herramientas de validación y verificación con relación a la calidad:

1. “¿Conocemos cuál es el desempeño de nuestros procedimientos de medida en condiciones estables?”
2. “¿Es ese desempeño aceptable según nuestros requisitos de la calidad?”

Estas preguntas junto con las definiciones presentadas en la Tabla 10, nos permiten establecer que la validación de métodos analíticos cuantitativos es un proceso estándar mediante el cual se aporta información acerca del sistema analítico. Esta información se basa en evidencia objetiva en forma de características de desempeño, que se analiza estadística y gráficamente para su posterior interpretación crítica. A partir de la evaluación se toma una decisión objetiva para su aceptabilidad.

La validación y verificación son procesos que establecen las características de desempeño del funcionamiento del método, o sus limitaciones. Estas características de desempeño, como la veracidad, precisión, recuperación, linealidad y robustez, se evalúan durante los procesos. Es importante destacar que todos los procedimientos se llevan a cabo bajo condiciones de operación definidas que deben reflejar el uso real de aplicación según las pautas seleccionadas por el laboratorio (Eurachem, 2016).

En el caso particular de la validación, la información correspondiente a cada característica de desempeño se encuentra en los insertos o manuales proporcionadas por el fabricante. Si sucediera que la información completa no esté disponible dentro del inserto, el laboratorio clínico debe presentar evidencia documentada y actualizada de que se ha solicitado dicha información al fabricante (*ema*, 2018).

La *ema* establece que la información o características de desempeño evaluadas durante los procesos de validación y verificación de métodos analíticos cuantitativos deben incluir los parámetros descritos en la Tabla 11.

Tabla 11. Características de desempeño evaluadas durante la validación y verificación del método (ema, 2008).

Características de desempeño	Definición
Linealidad	Capacidad de un método, dentro de un intervalo específico, para producir resultados que se relacionan directamente con la concentración del analito presente en las muestras de examen.
Precisión	Grado de concordancia entre los valores de una serie repetida de ensayos, utilizando una muestra homogénea, bajo condiciones establecidas, que refleja la capacidad del método de obtener resultados consistentes y reproducibles cuando se repiten bajo las mismas condiciones.
Veracidad	Proximidad entre los valores medidos de un conjunto infinito de mediciones y un valor de referencia establecido. Indica qué tan cercano son los resultados del método al valor de referencia establecido.
Límite de detección	Concentración mínima de un analito en la muestra en la que puede ser detectado por una señal, aunque no cuantificado, bajo condiciones analíticas específicas.
Selectividad	Capacidad de un método para determinar exacta y específicamente el analito de interés en la presencia de otros componentes en la matriz bajo condiciones establecidas de prueba.
Sensibilidad analítica	Relación entre la señal generada por un sistema de medición y la concentración correspondiente del analito. Representa la pendiente de la curva de calibración y no debe confundirse con el límite de detección. La sensibilidad analítica indica la capacidad del método para detectar y medir pequeñas variaciones en la cantidad del analito, y su eficiencia para generar una señal proporcional a dichas variaciones.
Intervalo de trabajo	Rango de concentraciones analíticas o valores de las propiedades en los que se utilizan el método. Dentro de este intervalo, puede existir un rango de respuesta lineal, donde la señal por el sistema de medición muestra una relación lineal con la concentración del analito o el valor de la propiedad.
Especificidad analítica	Capacidad de un método para identificar y determinar de manera inequívoca un analito específico en presencia de otros componentes que se espera que estén presentes, como impurezas, degradantes, matriz, entre otros. Garantiza que el método pueda distinguir y cuantificar correctamente el análisis de interés, sin verse afectado por interferencias o señales falsas.
Incertidumbre	Parámetro que está relacionado con el resultado de una medición y describe la dispersión de los valores que podrían atribuirse razonablemente al valor medido. Es una medida cuantitativa que representa el margen de error asociado a un resultado de medición.

La verificación de métodos como definición, se refiere a la confirmación mediante la aportación de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos especificados para un método. Esta debe realizarse bajo las condiciones de trabajo del laboratorio clínico (equipo, calibradores, analistas, etc.) y generar evidencia objetiva. Es decir, una vez que un método ha sido validado, es necesario que el laboratorio clínico confirme los datos obtenidos mediante la evaluación de las características del desempeño del método para demostrar así que cumple con los requisitos para el uso previsto (Becerra, 2010).

La validación y verificación de métodos presentan definiciones que pueden parecer similares a simple vista, sin embargo las diferencias en este punto son más claras. Mientras la validación es un proceso inicial y en muchos casos única, la verificación es un proceso continuo, que se lleva a cabo posterior a la validación. La validación es realizada por parte del primer usuario, fabricante o desarrollador del método, mientras la verificación es responsabilidad del usuario final, en este caso particular el laboratorio clínico. Además existen otras diferencias como las características de desempeño evaluadas en cada proceso, así como la rigurosidad estadística que se maneja.

La validación implica un análisis más exhaustivo y riguroso en comparación con la verificación de métodos. Cada proceso tiene características de desempeño específicas, la Tabla 12 incluye las características de cada herramienta estadística.

Tabla 12. Características de desempeño evaluadas durante la validación y/o verificación del método (ema, 2008).

Características de desempeño	Validación	Verificación
Linealidad	x	x
Precisión	x	x
Veracidad	x	x
Límite de detección	x	Cuando se requiera
Selectividad	x	
Sensibilidad analítica	x	
Intervalo de trabajo	x	Cuando se requiera
Especificidad analítica	x	
Incertidumbre	x	x

3.7.2. Guías aprobadas por la Entidad Mexicana de Acreditación

La necesidad de brindar métodos confiables al cliente ha llevado a implementar prácticas como la verificación en el laboratorio clínico interno. Estas prácticas suelen estar influenciadas por las autoridades de acreditación y certificación.

Diversas entidades a nivel nacional e internacional han desarrollado protocolos con el propósito de respaldar, apoyar y estandarizar del proceso de verificación de métodos. Estos sirven como referencias técnicas, para asegurar las mediciones clínicas realizadas por el personal en los servicios acreditados de medición, así como los que evalúan la competencia técnica de los laboratorios.

Dentro del marco de norma ISO 15189, es necesario que los requisitos específicos para llevar a cabo la determinación de la validación y verificación se realicen en conformidad con pautas de diferentes fuentes reconocidas, como (Rivera, 2013):

- Procedimientos publicados en libros que estén debidamente establecidos y autorizados.
- Textos de revisión.
- Revistas científicas.
- Consensos internacionales desarrollados por la comunidad científica y expertos en el área.
- Guías, estándares y regulaciones nacionales e internacionales.

El uso de fuentes confiables y reconocidas asegura que los laboratorios sigan procedimientos adecuados, y que las prácticas establecidas sean uniformes para todos los laboratorios clínicos, sin importar ninguna de sus características o ubicación.

Entre los documentos más comunes para la aplicación de la validación y verificación de métodos analíticos cuantitativos y cualitativos, se encuentran guías estandarizadas que simplifican el proceso de aplicación de estas herramientas.

Las guías han sido debidamente aprobadas por comités regulatorios y se ajustan a las normas y reglamentos establecidos por cada país.

Dentro de los organismos reconocidos a nivel internacional, encargados de pautar los procedimientos de la validación y verificación de métodos analíticos cuantitativos se encuentran los siguientes:

- College of American Pathologists (CAP).
- The Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI).
- A Focus for Analytical Chemistry in Europe (Eurachem).

A nivel nacional, organismos como la *ema* también se ha encargado de crear manuales de validación y verificación de métodos. En nuestro país, la entidad reconoce para la verificación de métodos cuantitativos, principalmente las siguientes guías:

- 1) Las guías del CLSI: EP15A-3, EP06-A, EP17-A2, EP28-A3c y EP29-A.
- 2) La “*Guía para la Validación y la Verificación de los Procedimientos de Exámenes Cuantitativos*” publicada por la *ema* en apoyo con el CENAM.

La Tabla 13 resume las guías tanto nacionales como internacionales utilizadas para evaluar las diferentes características de desempeño durante el proceso de verificación. Además indica si la aplicación de las características es obligatoria o no.

Tabla 13. Guías empleadas para la verificación de método dentro del laboratorio clínico de acuerdo con la *ema* (Guglielmone, et al., 2011; *ema*, 2008).

Guías	Características de desempeño	Aplicación
EP15A-3, Guía <i>ema</i> /CENAM	Precisión	Siempre
EP15A-3, Guía <i>ema</i> /CENAM	Veracidad	Siempre
EP06-A, Guía <i>ema</i> /CENAM	Linealidad	Siempre
EP29-A, Guía <i>ema</i> /CENAM	Incertidumbre	Siempre
EP17-A2, Guía <i>ema</i> /CENAM	Límite de cuantificación	Cuando se requiera
EP28-A3c, Guía <i>ema</i> /CENAM	Intervalo de referencia	Cuando se requiera*
*Dado que la incertidumbre no es valor dado por el fabricante en el proceso de validación, el laboratorio puede elegir el procedimiento más conveniente para su objetivo.		

El CLSI se ha comprometido en ofrecer una serie completa de documentos de referencia en forma de guías para la evaluación de todas y cada una de las características de desempeño del proceso de validación y verificación, las cuales buscan promover las buenas prácticas de laboratorio. Las guías EP, desarrolladas por un comité de área expertos en el campo, se han actualizado, generando nuevas ediciones de acuerdo con la evolución de la calidad, basándose en la teoría científica y estadística.

La guía EP15-A2, titulada "*Verificación de las características de desempeño de precisión y veracidad para el usuario*", es un documento internacional de referencia que promueve las buenas prácticas en laboratorios y establece un protocolo riguroso para garantizar la integridad de los resultados emitidos. Se enfoca en la verificación de las características de desempeño de precisión y veracidad. A diferencia de la guía EP5, que está dirigida a fabricantes, la guía EP15-A2 se centra específicamente en los procesos y requisitos aplicables a los usuarios de los resultados del laboratorio (Zamora, 2011).

Por su parte la guía publicada por la *ema* en apoyo con el CENAM es un recurso sencillo y práctico, basado en métodos establecidos y autorizados por organismos en la materia, como ICH, ILAC, ISO, IUPAC, CLSI, o IFCC. Además, se fundamenta en métodos establecidos o autorizados por organismos científicos, que son publicados en artículos o revistas especializadas, métodos revisados por pares o publicados en directrices internacionales, regionales o nacionales, así como los métodos de examen especificados por el fabricante del equipo (*ema*, 2008). La guía aporta criterios técnicos que apoyan la aplicación de la norma NMX-EC-15189-IMNC-2006 / ISO 15189:2003, específicamente para el cumplimiento y evaluación del punto 5.5.2.

Para la verificación o verificación de métodos, la *ema* acepta diferentes guías, dependerá del laboratorio actuar con antelación para conocer el que mejor se adecue a su propósito, tomando en cuenta los costos y complejidad, además de aplicarlas en tiempo y manos expertas (Zamora, 2011). La gran mayoría de los métodos analíticos empleados en el laboratorio clínico han sido validados por el fabricante y se implementan sin modificaciones, por lo que es más común verificar el método analítico.

3.7.3. ¿Cuándo validar o verificar un método?

Un método analítico requiere ser validado y/o verificado cuando se necesite establecer si las características del desempeño del método son adecuadas para su uso previsto. Los cambios en las operaciones son los que determinan si el laboratorio clínico debe validar o verificar, (o en casos muy específicos realizar ambos procedimientos).

Tabla 14. Cambios operacionales bajo los cuales se debe validar un método analítico cuantitativo (OAG, 2018) (Castro & Contreras, 2019) (Eurachem, 2016).

Se debe validar un método analítico cuantitativo cuando:
Se utilicen métodos no normalizados
El fabricante no especifique las características de validación
Se modifique el método analítico
Se utilicen métodos estandarizados que se adapten fuera de su uso previsto
Se utilicen métodos analíticos desarrollados por el propio laboratorio clínico

Un método analítico normalizado se refiere a un procedimiento de análisis que ha sido desarrollado por un organismo de normalización o cualquier otro organismo reconocido. Estos métodos son ampliamente aceptados dentro del sector técnico relacionado. Por lo tanto, cuando se menciona el término "método normalizado", se implica que este ha sido validado con anterioridad de manera obligatoria (OAG, 2018).

Tabla 15. Cambios operacionales bajo los cuales se debe verificar un método analítico cuantitativo (OAG, 2018) (Castro & Contreras, 2019) (Eurachem, 2016).

Se debe verificar un método analítico cuantitativo cuando:
Se incorpore un método analítico nuevo al laboratorio como método de rutina y/o se incorporen nuevos analizadores al laboratorio clínico
Se debe verificar cuando se realicen cambios mayores en el sistema analítico

Para temas relacionados con la validación/verificación de métodos, se entiende como:

- **Cambios mayores:** Cambio de equipo o procedimiento, mantenimiento mayor de equipos, traslado de equipo, etc.
- **Cambios menores:** Modificación del tamaño de muestras, cambio de analista, sustitución de reactivos entre otros.

Toda verificación debe ser realizada por parte del usuario final, en este caso por el laboratorio clínico. Es recomendable que el analista encargado del área en que se hará la verificación sea quien lo realice. El laboratorio además debe documentar el proceso usado para la verificación y registrar los resultados obtenidos (ema, 2008).

3.7.4. ¿Cómo debe verificarse un método?

La verificación de métodos es un requisito indispensable para poder generar resultados confiables e incluso precede al CCI y CCE. Todos aquellos procedimientos de examen que se utilicen sin modificaciones deben ser verificados para asegurar que se cumplen los requisitos necesarios de los usuarios de acuerdo con el uso previsto, considerando que este debe ser tan amplio como se requiera. Las especificaciones o características de desempeño que serán evaluadas deben de ser aquellas que cumplan con el fin del mismo examen.

Antes de iniciar la verificación de un método, es importante tener en cuenta consideraciones generales como lo son (Rodríguez, 2021):

- a) Cumplir con la calificación de equipos (Figura 5), este procedimiento garantiza que el equipo es el adecuado, ha sido instalado correctamente y se encuentra en condiciones de generar resultados clínicamente útiles. Esto implica llevar a cabo registros de los mantenimientos diarios, correctivos y los programas de mantenimiento preventivo.
- b) La capacitación de personal, que incluye un periodo de familiarización, y el registro de toda la información relacionada.
- c) Seguir las instrucciones del fabricante para el uso de los equipos de medición, reactivos, consumibles y materiales de control, utilizando instrumentos y equipos calibrados.
- d) Emplear el mismo lote de material de control y, si es posible, el mismo lote de reactivo en cada protocolo de verificación.
- e) Emplear concentraciones de los materiales de control cercanos a los límites de decisión clínica siempre que sea posible.



Figura 5. Sistema de Gestión de Calidad: etapa analítica (Modificado de Cortes, 2012). La calificación de equipo asegura que el equipo ha sido instalado correctamente y está en condiciones de generar resultados clínicamente útiles, este antecede a la verificación de métodos y cuenta con 4 fases: Calificación de Diseño (DQ), calificación de Instalación (IQ), calificación de Operación (OQ) y Calificación de Desempeño (PQ). Después la verificación permite conocer el desempeño del método en condiciones estables, es decir la evaluación del desempeño frente a Requisitos de calidad y la posterior implementación el método. La etapa analítica también abarca el CCI y CCE que nos permiten asegurar que el método se desempeña en condiciones estables, asegurar que el método cumple con nuestros requisitos de calidad, liberar resultados, alertar sobre problemas reales y finalmente el CCE que da el seguimiento del desempeño del método y permite corregir errores.

Además, antes de verificar un método se debe gestionar la selección del método que se desea introducir al grupo de métodos de análisis de rutina en el laboratorio clínico, como se precisó en capítulos anteriores, para esto se debe buscar al método que tenga mejor oportunidad de alcanzar los requisitos del laboratorio (Westgard, 2013). Las características de aplicación, desempeño y metodología deben ser tomadas en cuenta a la hora de elegir el correcto.

Para asegurar los resultados de la verificación, es necesario gestionar con adecuadamente el proceso. Con este fin, se han implementado varias fases que conforman un plan general que apoya en cumplir con el objetivo de la verificación en cada laboratorio clínico. Estas fases se dividen principalmente en cuatro etapas: planeación, acción, verificación y ajuste. La Figura 6 provee una descripción detallada de cada una de las etapas involucradas.

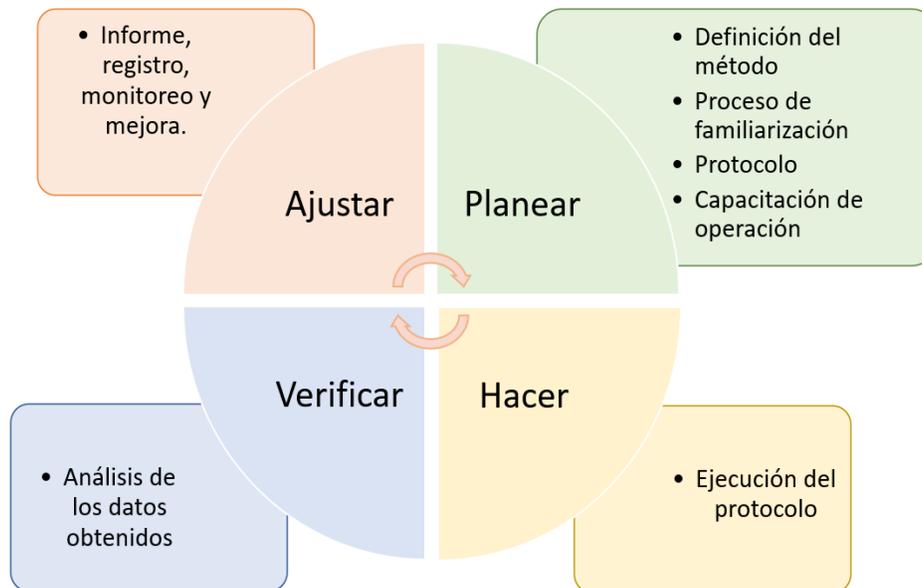


Figura 6. Fases de la gestión del proceso de verificación (modificado de Rodríguez 2021). Comprenden de la **Planeación**: dónde se define el método que se desea añadir a los métodos de rutina dentro del laboratorio clínico y el periodo de familiarización; es decir, es necesario gestionar un plan general para validar o verificar el método analítico elegido dónde se debe decidir con anterioridad el protocolo a utilizar para asignar responsables, materiales, equipos reactivos y tiempos de medición, posteriormente se realiza una capacitación de la operación al responsable antes de la ejecución completa. En la fase **Hacer** o en la implementación: se ejecuta el protocolo elegido para posteriormente **Verificar** los resultados obtenidos por medio del análisis de los datos obtenidos. Para finalizar en el **Ajuste** se elabora el informe o registros además de las recomendaciones dónde se genere un Esquema de Evaluación externa de la Calidad y se genere una estrategia de CCI (modificada de Rodríguez, 2021).

El desarrollo de un plan experimental previo a una verificación implica gestiones importantes. Rodríguez (2021), describe los siguientes pasos:

1. Identificar los tipos de errores que deben evaluarse para el método.
2. Determinar si el método requiere modificaciones u optimizaciones, requiriéndose la validación; o si simplemente se busca confirmar el desempeño del método, debiéndose verificar.
3. Identificar los experimentos adecuados y determinar la cantidad de datos necesarios para los diferentes tipos de errores.
4. Organizar el proceso de manera eficiente, optimizando el esfuerzo y tiempo requerido.

Para aplicar de manera efectiva un estudio de validación o de verificación del método, es importante tener en cuenta las siguientes características (Rodríguez, 2021):

- Establecer un requisito de calidad para la prueba, en forma cantidad de error admisible, preferiblemente un error total aceptable.
- Seleccionar los experimentos apropiados que permitan identificar los tipos de errores analíticos esperados, es decir, la evaluación de las características de desempeño del método.
- Generar un registro adecuado que recopile los datos experimentales necesarios para el análisis posterior.
- Aplicar los cálculos estadísticos necesarios (Figura 7) para estimar la magnitud de los errores analíticos.
- Comparar los errores observados con el error permitido previamente definido, o bien, comparar el rendimiento observado con las datos del fabricante.
- Evaluar la aceptabilidad del rendimiento del método observado, tomando en consideración si cumple con los criterios establecidos.

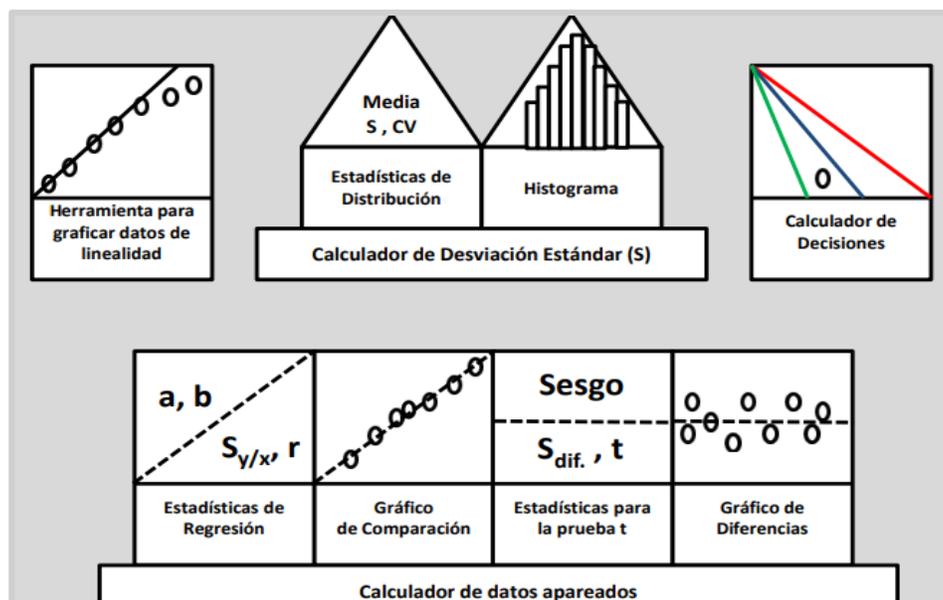


Figura 7. Herramientas recomendadas para el análisis de datos (Westgard, 2013). El objetivo de los experimentos dentro de la validación y verificación es estimar la cantidad de error a partir de los datos obtenidos, es de utilidad saber cuál estadístico nos da una información más útil acerca de los errores de interés.

Para planificar y organizar el estudio de verificación de métodos analíticos cuantitativos es necesario considerar aspectos, antes, durante y después de la verificación. Además es importante establecer un proceso sistemático que se adapte a las necesidades de cada laboratorio clínico y a las características de método seleccionado. La Tabla 16 resume diferentes aspectos a considerar antes de la verificación de métodos.

Tabla 16. Aspectos previos por considerar en la verificación de métodos (Rodríguez, 2021).

Aspectos generales	Materiales para la verificación	Sobre el reactivo a verificar	Registro de la información
<ul style="list-style-type: none"> • Entrenamiento al personal sobre el uso del equipo • Asegurar la validación previa • Capacitación personal en verificación de métodos, incluyendo el procedimiento de la guía a utilizar • Calificación de equipos • Mantener condiciones ambientales del área de trabajo • Asignación de responsabilidades: registro de resultados, cálculos, revisión y aprobación • Elaboración y aprobación del presupuesto, que cubran todos los costos de verificación 	<ul style="list-style-type: none"> • Materiales Certificados de Referencia • Materiales de referencia • Controles de veracidad • Materiales de control con participación en esquemas interlaboratorio • Materiales con participación en programas de evaluación externas de la calidad • Materiales de control comercial con valores asignados • Muestras de pacientes, muestras suplementadas, soluciones comerciales, estándares. <p>*Cercanos a los niveles de decisión médica *Inserto para el material de control</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Inserto del fabricante • Lote del reactivo en stock suficiente • Reactivo calibrado • Buenas prácticas de almacenamiento 	<ul style="list-style-type: none"> • Asignación de personal para el registro (participantes del proceso): <p>Registrar información del:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Procesamiento, revisión de resultados, aprobación del informe Equipo: modelo, serie, ubicación y código • Analito: unidades • Reactivo: marca, lote, fecha de vencimiento • Control: tipo, marca, lote, fecha de vencimiento, n° de niveles • Especificaciones de calidad: fuente y porcentaje

Durante la verificación, también se necesita la atención de diversos requerimientos que deben cumplirse para obtener resultados óptimos y confiables, como los descritos en la Tabla 17.

Tabla 17. Aspectos necesarios por considerar durante la verificación de métodos (Rodríguez, 2021).

Aspectos generales	
<ul style="list-style-type: none"> • Buenas prácticas en la preparación del material: alícuotas, dilución, etc. • Seguir cada paso según el protocolo establecido. • Registro de la fecha de inicio y finalización. • Revisar diariamente los datos obtenidos. • Registrar los resultados con decimales. • Supervisión de la transcripción de resultados. • No borrar los resultados obtenidos del equipo. 	<ul style="list-style-type: none"> • Obtener los cálculos, usando una plantilla en Excel o un <i>software</i> de verificación de métodos. • Comparar los resultados con las especificaciones del fabricante. • Revisar las especificaciones de calidad. • Discutir los resultados con el personal y con la dirección. • El Director de laboratorio o el responsable de calidad deben aprobar el informe.

Una vez finalizada la verificación y de acuerdo con las datos estadísticos necesarios se acepta o rechaza la verificación, en caso de ser rechazada, y antes de contactar al fabricante es necesario revisar diferentes aspectos, como se describen en la Tabla 18.

Tabla 18. Aspectos que producen fallos y variaciones en la verificación de métodos (Rodríguez, 2021).

Fuentes adicionales de variación	Factores que pueden producir fallos en la verificación
<ul style="list-style-type: none"> • Cambio de lote de reactivo • Cambio de lote de calibrador • Mantenimientos • Estabilidad de los reactivos • Condiciones ambientales • Operadores • Efectos preanalíticos 	<ul style="list-style-type: none"> • Almacenamiento incorrecto de reactivos • Manejo incorrecto de reactivos • Manejo incorrecto de muestras o problemas con la estabilidad • Problemas de pipeteo • Problemas de mantenimiento de los instrumentos • Cambio en las condiciones ambientales

3.7.4.1. Errores evaluados en el laboratorio clínico

En el contexto de la verificación de métodos, el enfoque principal es la evaluación y estimación de errores que podrían estar presente en los resultados de examen. La presencia significativa de algún error, indica que el método no es aceptable y tendrá un impacto negativo en la información que se le proporcione al paciente.

Las fuentes de error pueden originarse en cualquiera de las fases analíticas dentro del PTA, por lo tanto se debe tener una comprensión básica de qué tipo de errores (Tabla 19), dónde pueden surgir y cómo pueden afectar a un procedimiento en particular. Es necesario realizar una evaluación periódica con el fin de entender el grado de impacto en la seguridad de los usuarios.

Tabla 19. Tipos de errores evaluados en el laboratorio clínico (Westgard, 2013; Barraza et al., 2019).

Tipos de error	Características
Aleatorio (EA)	Se refiere a las variaciones inherentes y al azar producidas en cada proceso. Se expresa cuantitativamente. Estos errores no siguen un patrón específico y pueden variar incluso bajo condiciones similares. No es posible eliminarlo completamente, pero se puede controlar mediante el aumento del tamaño muestral y la aplicación de un análisis estadístico eficaz. El error aleatorio tiene un impacto en la confiabilidad.
Sistemático (ES)	También conocido como sesgo, se relaciona con deficiencias en el diseño metodológico o la ejecución del procedimiento. Se refiere a las discrepancias consistentes y predecibles entre los valores obtenidos y el valor verdadero u objetivo. Puede evaluarse cuantitativamente y ser evitado. El error aleatorio afecta la validez de los resultados.
Total (ET)	Es el resultado combinado de los errores aleatorios y sistemáticos en una determinación analítica. Sirve para evaluar la competencia analítica al compararlo con el error total aceptable (ETa), establecido en los requisitos de calidad de las especificaciones internacionales vigentes. El error total puede reducirse tomando medidas para controlar el error sistemático y aleatorio.

Las buenas práctica de calidad, exigen que los laboratorios especifiquen sus métodos por medio de procedimientos de verificación antes de su incorporación al uso rutinario. A nivel internacional y nacional varios laboratorios han adoptado las guías CLSI EP, para la especificación y verificación de su desempeño (Narasimhachar, et al., 2017).

La verificación de métodos en el laboratorio clínico proporciona evidencia de que se ha evaluado el desempeño de un método y este es aceptable para el uso previsto. Durante el proceso de la verificación se evalúan diferentes características de desempeño, que a su vez estiman los diferentes errores analíticos que se describen en la Figura 8.

Estos errores incluyen el error aleatorio y el error sistemático, los cuales deben ser tenidos en cuenta para asegurar la precisión y la exactitud en los resultados obtenidos. La verificación además permite anticipar y corregir estos errores antes de introducir un método a los métodos de rutina del laboratorio.

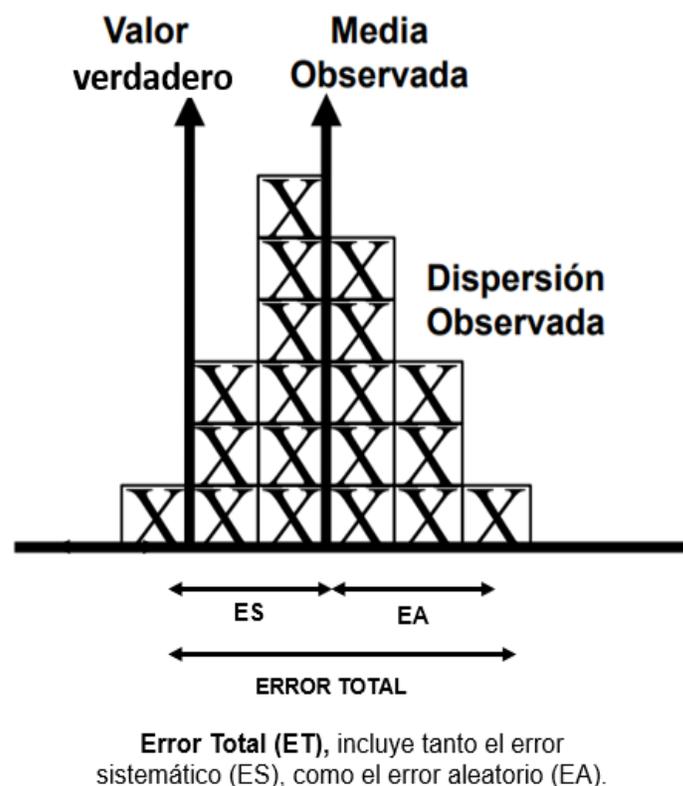


Figura 8. Tipo de errores a evaluar en la verificación de métodos (Westgard, 2013). El error aleatorio se refiere a la discrepancia entre un resultado específico de una medición y el promedio de resultados que se obtendrá con un número infinito de detecciones del mismo objeto de medición en condiciones de repetibilidad. La precisión, que es el inverso del error aleatorio, se considera un atributo deseable de la medición y la estimación. Por otro lado, el error sistemático se refiere a un error constante que afecta todas las mediciones de manera definida y tiene el mismo impacto en todas ellas a lo largo del proceso de medición. Estos errores sistemáticos pueden tener un valor constante o ser proporcionales en relación con el valor medido (Westgard, 2013).

3.7.4.2. Periodo de familiarización

Antes de realizarse la verificación de un método, es necesario que los profesionales completen un periodo de capacitación por parte del fabricante del sistema analítico adquirido. Es recomendable que el analista encargado de la tarea sea competente en el campo específico que se pretende verificar el nuevo método. Además debe ser supervisado hasta que pueda dominar el método correctamente.

La capacitación del sistema analítico abarca la operación, el mantenimiento, preparación de muestras y calibración. Estos aspectos son parte integral del entrenamiento previo que se debe contemplar (Eurachem, 2016).

El periodo de familiarización se realiza una vez que se ha establecido la gestión de la verificación, y los profesionales han sido capacitados. Tiene como objetivo permitir que el laboratorista encargado aprenda cómo trabajar apropiadamente con el método, a fin de establecer un protocolo de operación que garantice resultados consistentes (Westgard, 2013). Es importante que el procedimiento operativo estándar esté documentado por escrito y que esté completamente desarrollado y optimizado (Theodorsson, 2012).

La meta del analista es adquirir familiaridad con el procedimiento de medición, la teoría del método a implementar y la operación del instrumento, para así conocer las distintas etapas involucradas, previniendo posibles errores de ejecución.

Durante este periodo se espera que el operador realice determinaciones como parte del proceso de familiarización, además se debe configurar y operar el equipo el tiempo suficiente para entender todos los procedimientos involucrados. También es un buen momento para verificar que los materiales de control de calidad funcionen adecuadamente para el método de elección. Generalmente se asignan aproximadamente dos semanas para esta fase (Eurachem, 2016).

Además de familiarizarse con el procedimiento de medición, otro objetivo es adaptarse a los detalles de operación del instrumento. Esto implica la capacidad técnica de manejar cualquier instrumento y el mantenimiento periódico.

3.7.4.3. Calibración

El primer paso para iniciar la verificación es la calibración, en la que se debe llevar a cabo una serie de detecciones y comparaciones con estándares conocidos para ajustar la respuesta del instrumento o sistema. El proceso se realiza bajo condiciones específicas para establecer la relación entre la señal generada por el sistema de medición y la concentración de la sustancia medida por el procedimiento analítico (ema, 2008). Cuando se asume linealidad en el método, se realiza la calibración de dos puntos, en cambio, la calibración de puntos múltiples se utiliza en métodos no lineales, donde se requiere de tres a más niveles de calibrador y utilizar una rutina de ajuste de curvas para establecer la relación señal-concentración.

En el caso de establecer una calibración a largo plazo, se debe considerar que podría ser necesario verificar periódicamente para asegurar su precisión. A este proceso se llama “verificación de la calibración”. Los laboratorios deben llevar a cabo la calibración, o en su defecto, la recalibración, al menos cada 6 meses, después de un cambio en los reactivos, tras un mantenimiento preventivo mayor, al cambiar cualquier componente mayor, y en caso de que surjan problemas con los resultados del CC que no cumplan con los estándares y que sean persistentes. A menos que el laboratorio pueda demostrar que estos problemas no afectan la calibración (Westgard, 2013; Killen et al, 2014).

Es común que se produzca confusión entre la verificación de la linealidad con la verificación de la calibración, pese a que cuenten con objetivos y requerimientos distintos. La verificación de la calibración implica la medir la concentración de analitos en calibradores, u otras muestras de concentración conocida, trazable a un método de referencia. Su fin principal es establecer y confirmar que la relación entre la señal generada y la concentración es estable y es útil para determinar la exactitud de un método analítico.

Por otro lado la verificación de la linealidad se enfoca en determinar y confirmar el comportamiento lineal del método, de acuerdo con la información proporcionada por el fabricante y en la que no se necesita conocer la concentración absoluta para llevar a cabo el procedimiento (Arroyo, 2021).

3.7.4.4. Verificación de métodos analíticos

Una vez elegido el método y finalizado el proceso de familiarización, se determinan las características de desempeño a verificar. De acuerdo con la guía de la *ema* éstas son:

- a) Precisión
- b) Linealidad
- c) Veracidad
- d) Incertidumbre

El PROY-NOM-007-SSA3-2017, indica que las características de desempeño incluyen además de las características anteriores, a los valores de referencia. Si el laboratorio considera que alguna de las características para la verificación del método no aplica en función al análisis seleccionado, es necesario justificar técnicamente dicha decisión.

El plan de validación y/o verificación se establece de acuerdo con los requisitos analíticos que son determinados por las regulaciones aplicables. Por consiguiente, las características de desempeño a medir van a depender y variar de acuerdo con el organismo que regulador en cada país (Taverniers, et al., 2004).

Las características de desempeño son factores que demuestran en la práctica qué tan bien se desempeña un método. Este término está relacionado con la calidad requerida en la aplicación clínica de cada prueba de laboratorio. Estos requisitos pueden ser expresados como error máximo o total permitido ET_a , o un intervalo de decisión clínica, el cual también representa un tipo de requisito de calidad (Rodríguez, 2021).

Los requisitos determinan la tasa de error que se puede permitir para un procedimiento de medida, sin comprometer la utilidad clínica de los resultados generados por dicho método. El laboratorio clínico debe seleccionar los requisitos, recurriendo a fuentes validas de origen nacional o internacional:

- Requisitos médicos.
- Variabilidad biológica.
- Estado del Arte: *Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA)*.
- *Royal College of Pathologists of Australasia (RCPA)*.
- *Richtlinien der Bundesärztekammer (RiLiBAK)*, entre otros.

Las guías RiliBAK, utiliza el término, **errores máximos permisibles**, las guías CLSI usan **límite de error total**, ISO 3534-2 **límite de tolerancia**, existen otras expresiones como **especificaciones de calidad** u **objetos de calidad**. Las fuentes específicas de cada requisito se pueden en sus respectivas páginas web (Rodríguez, 2021).

El laboratorio también debe asegurarse que el fabricante haya realizado la validación del sistema analítico mediante procedimientos reconocidos por los organismos reguladores apropiados. También se solicitará que después de llevar a cabo la verificación del procedimiento, este se mantenga bajo monitoreo a través de programas internos y externos de control de calidad.

3.7.4.4.1. Precisión

La alta demanda de exámenes ha constituido una de las principales razones por las cuales la GC ha tenido la necesidad de monitorear y mantener la calidad en todas las etapas del proceso de examen. Evaluar el desempeño analítico de los métodos se convierte en una responsabilidad esencial del laboratorio, como se ha señalado anteriormente (Narasimhachar, et al., 2017).

Uno de los primeros estudios que lleva a cabo el laboratorio clínico en la verificación de métodos es la verificación de la precisión, esta se refiere a la capacidad del método para obtener resultados consistentes y reproducibles. La verificación de la precisión es crítica para garantizar la confiabilidad para con el usuario.

De acuerdo con el Vocabulario Internacional de Metrología (2008), la precisión se refiere a la:

Proximidad entre las indicaciones o los valores medidos obtenidos en mediciones repetidas de un mismo objeto, o de objetos similares, bajo condiciones especificadas. La precisión de una medida se expresa numéricamente mediante medidas de dispersión desviación, la varianza o el coeficiente de variación bajo las condiciones especificadas y puede ser medida bajo condiciones de repetibilidad, reproducibilidad y precisión intermedia y es una característica de desempeño empleada en la validación y verificación de métodos (pp.31-32).

Tabla 20. Resumen del parámetro precisión: definición y expresión (VIM, 2008; Taverniers, et al., 2004).

Parámetro	Definición	Expresión
Repetibilidad (precisión intracorrida intraserie o intradía)	Condición de medición que requiere de repeticiones en un intervalo corto de tiempo (dentro de una corrida o serie analítica), las condiciones incluyen el mismo procedimiento de medida, equipo, condiciones de operación: operador, reactivo (lote, envase) y calibración, además del laboratorio.	Desviación estándar SD o DE . Desviación estándar relativa S_{rel} o DER . Coeficiente de Variación CV% .
Reproducibilidad	Condición de medición que incluye diferentes laboratorios, equipo, operador, calibración, entorno y niveles de mantenimiento. El lote de reactivo y el lote del calibrador pueden cambiar o no. Los diferentes sistemas de medición pueden o no utilizar diferentes procedimientos de medida.	$SD = \left(\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{x})^2}{n-1} \right)^{0.5}$
Precisión intermedia (Precisión intercorrida, interserie, intralaboratorio o total)	Condición de medición que involucra repeticiones en un intervalo prolongado de tiempo. Las condiciones incluyen el mismo procedimiento de medida, laboratorio y equipo. El operador puede cambiar o no. Las variaciones pueden comprender diferentes lotes de reactivo, calibraciones, mantenimiento preventivo, mantenimiento correctivo y condiciones ambientales.	$CV (\%) = \left(\frac{SD}{\bar{x}} \right) \times 100$

Es común encontrar variaciones aleatorias en los métodos de medición, por lo tanto, se realiza un experimento de replicación, que permite estimar el error aleatorio o la imprecisión. El error aleatorio es descrito como un valor que puede ser positivo o negativo, y su dirección y magnitud exacta no pueden ser predichas. La imprecisión se cuantifica comúnmente calculando la desviación estándar (SD) de los resultados obtenidos a partir de un conjunto de mediciones repetidas.

La SD incrementa en proporción a la concentración, por lo que resulta útil calcular el coeficiente de variación (CV), que se expresa como un porcentaje de la concentración media del estudio de repetibilidad. Esto permite una comparación más adecuada de la imprecisión entre diferentes concentraciones (Taverniers, et al., 2004).

Para comprender mejor el tamaño potencial de un error, se suele expresar el máximo de un error aleatorio como un estimado 2S o 3S, estos valores ofrecen un rango para evaluar la magnitud de error en relación con los límites aceptados establecidos.

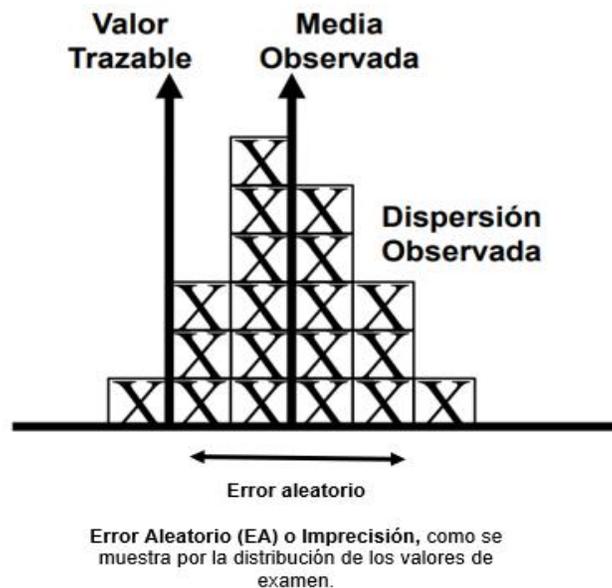


Figura 9. Error aleatorio (EA) o imprecisión (Westgard, 2013). Diferencia entre el resultado de una medición con la media, indica precisión y su expresión cuantitativa está dada por el coeficiente de variación (CV). El coeficiente de variación debe ser menor o igual 25% del requisito de calidad.

Para evaluar la precisión se realiza una muestra de control estándar con concentraciones conocidas. Para la verificación, se debe obtener resultados de un número de muestras significativas, que dependen del protocolo elegido pero siempre se sugiere un número mayor a 20 datos totales. Posteriormente se calculan estadísticos como, la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación, también es común que se reporte como DER (Westgard 2013). Estos resultados son comparados con los criterios aceptados de precisión establecidos anteriormente.

El enfoque más común, para estimar la repetibilidad en un nivel determinado es realizar 20 repeticiones en una sola ejecución en un solo día. Este enfoque, también conocido como protocolo sencillo, busca estimar la precisión dentro del laboratorio mediante la estimación de una muestra, 20 veces durante varios días, registrando estadísticos, como la media, la SD y CV%.

Desafortunadamente, este enfoque tiene sus limitaciones, ya que tiende a subestimar la repetibilidad. Esto se debe a que las condiciones de operativas en un momento determinado pueden no reflejar las parámetros de funcionamiento generales del método (Chesher, 2008).

Los protocolos recomiendan evaluar la precisión bajo dos condiciones: **repetibilidad y precisión intermedia**. Estas dos condiciones requieren una evaluación más completa de la precisión y la necesidad del método, considerando diferentes fuentes de variación y necesaria una visión más precisa de su desempeño en situaciones reales.

El CLSI verifica la precisión y veracidad mediante el uso de la misma guía: la EP15-A, la cual proporciona pautas minuciosas, donde se precisan los siguientes elementos:

1. Un protocolo detallado.
2. De 2 a 3 materiales de decisión médica distintos.
3. Hoja de cálculo o *software*, para el registro y desarrollo estadístico.
4. El inserto de reactivo o manual del fabricante.

Además se recomienda tomar en cuenta otros factores, como los descritos en la Tabla 21, que son relevantes para llevar a cabo una correcta verificación de la precisión.

Tabla 21. Factores para considerar antes de la verificación de la precisión (INACAL, 2018).

Factores	Descripción
Duración del experimento	Depende de la directriz o guía utilizada, ej. EP15-A3, 5-7 días, EP05-A3, 20 días. Protocolo sencillo, 1 día.
Matriz de las muestras	Es importante usar muestras que tengan una matriz tan cercana como sea posible al tipo real del espécimen de interés para el método evaluado, las muestras a utilizar son descritas en la Tabla 22.
Cantidad de materiales y concentraciones	El número de materiales debería depender de las concentraciones que son críticas para el uso clínico del examen. Al menos dos concentraciones diferentes deben ser seleccionadas.
Número de replicas	Cinco replicas por corrida son recomendadas. Al menos 20 estimaciones totales, mientras mayor sean, se proporciona una mejor estimación.

La guía ofrece procesos simples y prácticos para que cualquier establecimiento pueda replicarlo; también es rigurosa en cuanto a requisitos estadísticos, garantiza la obtención de conclusiones válidas y confiables para los estudios de verificación.

Asimismo puede ser utilizada para verificar el desempeño de un método después de la implementación de una acción correctiva posterior a una falla en una encuesta de un esquema de evaluación de la competencia (Westgard 2013, Taverniers, et al., 2004).

La EP15 también sugiere el uso diferentes tipos de materiales, la Tabla 22, describe los más comunes, ya sea si el laboratorio decide evaluar únicamente la precisión o ambos procesos, es decir la precisión y veracidad.

Tabla 22. Materiales para la evaluación de la verificación de la precisión y veracidad (INACAL, 2018).

Materiales para evaluar precisión	Materiales para evaluar precisión y veracidad
Muestra de pacientes	Materiales de referencia
* <i>Pools</i> de muestras de pacientes	Muestras con participación en ensayos de aptitud (PEEC)
Material de control (interno – interlaboratorial-PEEC)	Controles con participación en esquemas interlaboratorio
	Control de Calidad Interno
	Calibradores
	Muestras de pacientes con valor obtenido a través de un procedimiento de referencia.
Si se utilizan materiales de control, se sugiere que sean conmutables con la matriz de las muestras según su uso previsto. En el caso de emplear estos materiales, es necesario contar con información sobre la estimación del valor asignado de los materiales utilizados. Es de vital importancia que los materiales seleccionados tengan concentraciones cercanas o representen niveles de decisión médica.	
* Los <i>pools</i> consisten en mezclas de varios sueros o plasmas elaborados en el laboratorio clínico.	

Es recomendable que las concentraciones sean próximas, representar niveles de decisión médica o encontrarse en los límites de referencia, además de emplear materiales con la menor incertidumbre asociada a la estimación del valor asignado. Cuando se utilicen muestras de control de calidad, estas deben ser diferentes a las utilizadas para asegurar que el instrumento está bajo control en el momento de la evaluación (Castro & Contreras, 2018).

Cada una de las muestras mencionadas con anterioridad pueden ser seleccionadas para la verificación, pero es importante evaluar las ventajas o limitaciones que puedan tener para cada laboratorio clínico.

La idea principal es emplear los mismos resultados para la verificación de la precisión y la veracidad. La Tabla 23 proporciona una descripción detallada de cada caso.

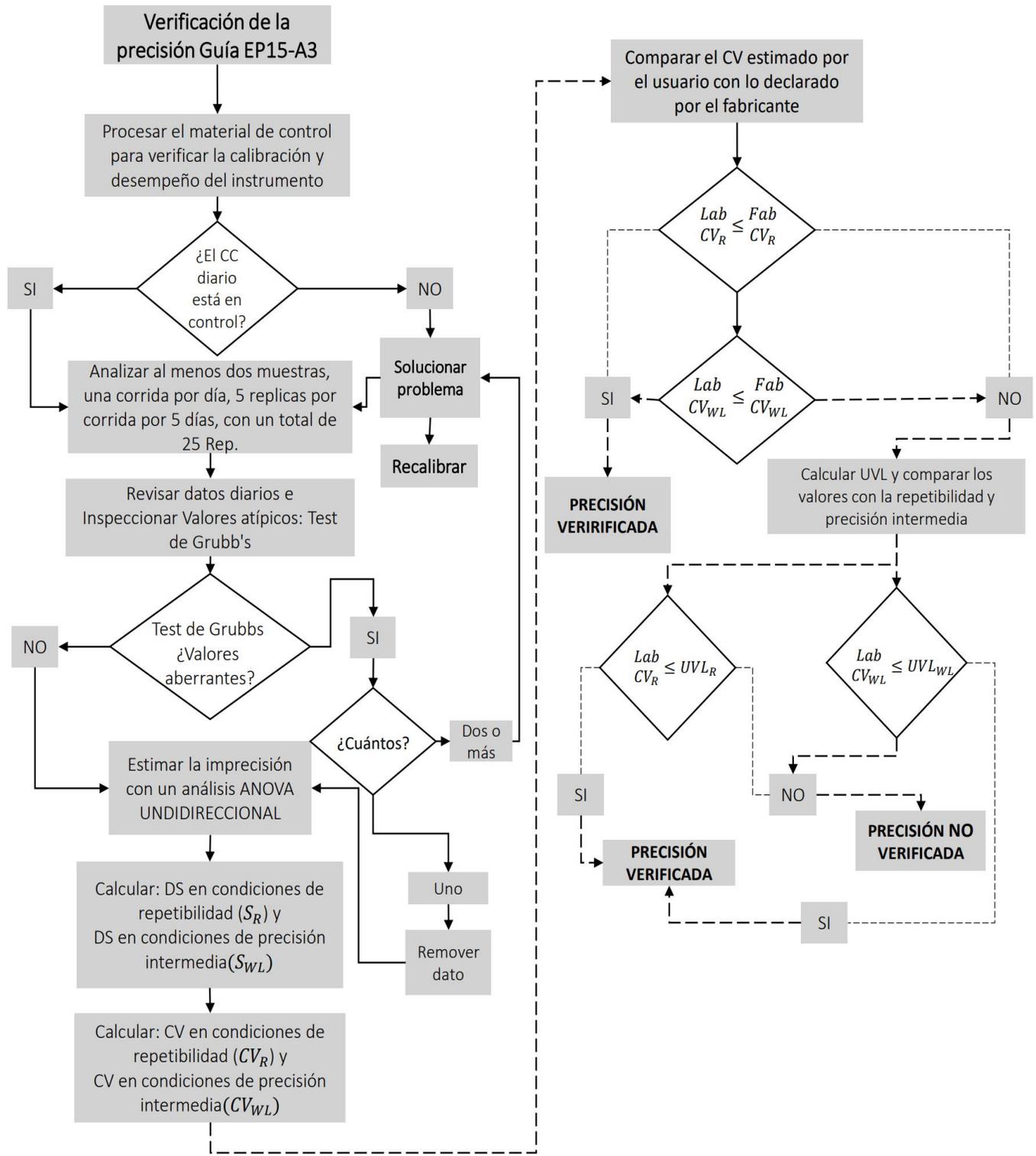
Tabla 23. Ventajas y limitaciones de las muestras utilizadas para la evaluación de la precisión (Westgard, 2018).

Muestras	Descripción
Soluciones estándar	Se encuentran disponibles para analitos comunes de química clínica y son fáciles de preparar. La matriz suele ser más simple que las muestras reales de pacientes. Se estima que el error aleatorio en una solución estándar sea optimista y probablemente que represente el mejor desempeño posible. Sin embargo, si los resultados obtenidos bajo condiciones tan favorables no son satisfactorios, se puede optar por rechazar el método.
Soluciones control o materiales de control	Se obtienen de fuentes comerciales en forma y tamaño, además de contener estabilizadores a largo plazo. Aunque la matriz es similar a la muestra de paciente es posible que se presenten ciertos efectos debido a la adición de estabilizantes, el proceso de liofilización y reconstitución, y la incorporación de aditivos especiales para aumentar los niveles de ciertos analitos, como enzimas y lípidos. Obtener materiales de control a partir de muestras de pacientes reales podría volverse más difícil debido a la necesidad de garantizar que estén libres de enfermedades infecciosas.
Pools de muestras	Se usan comúnmente para exámenes a corto plazo, como los estudios de replicación intracorrida e intradía. Se pueden analizar diariamente duplicados de muestras frescas de pacientes por largos periodos de tiempo, sin embargo reflejarán sólo los componentes de la imprecisión intracorrida e intradía. Para observar los componentes de cada entre días, se deben realizar duplicados en diferentes días, lo cual implica demostrar la estabilidad de las muestras frescas durante el tiempo transcurrido entre los duplicados.

El laboratorio necesita considerar todos los aspectos finales, en función de los recursos disponibles. Además debe tener en cuenta que los diseños experimentales más elaborados, a comparación de los protocolos sencillos, generan información más extensa sobre los componentes a largo y corto plazo de la variación.

Estos diseños a menudo usan cálculos estadísticos más complicados, sin embargo por el tiempo corto del experimento se ha convertido en un buen referente para ser implementados.

Diagrama 1. Verificación de la precisión Guía EP15-A3.



El procedimiento que propone la guía EP15-A2 para precisión, indica que la evaluación se realiza en al menos dos concentraciones seleccionadas y se analiza una corrida por día. Cada nivel se corre con tres replicados por muestra para cada una de las concentraciones seleccionadas por día, durante cinco días.

La EP15 en su versión más reciente, A3, declara una metodología diferente, que asegura un mayor número de resultados para un análisis más completo, la Tabla 24, describe detalladamente las diferencias.

Tabla 24. Procedimiento para la verificación de la precisión bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia (Suasnavas, 2018).

Condiciones para la medición de la precisión	Procedimiento
Para repetibilidad	Procesar cada material de control en cinco réplicas diarias durante un período de cinco días. A partir de estos resultados se calcula el coeficiente de variación en condiciones de repetibilidad (CV_R).
Para precisión intermedia	Procesar cada material de control por quintuplicado durante cinco días. A partir de estos resultados se calcula el coeficiente de variación intralaboratorio (CV_{WL}).
Para mejorar la precisión en la estimación, es recomendable extender el protocolo de verificación para una o más muestras, con una duración total de hasta 7 días, pero nunca menos de 5. Los días de análisis no tienen que ser consecutivos, y se sugiere que el procesamiento sea realizado por diferentes operadores en diferentes días, replicando así las condiciones de rutina del laboratorio. Además, es importante examinar los datos diarios para identificar valores atípicos. En caso de detectar más de dos datos aberrantes, se debe considerar repetir el estudio o, en su defecto, ponerse en contacto con el fabricante.	

Para la prueba de valores atípicos, la guía propone el uso de la prueba de Grubb, (aunque se puede utilizar otra herramienta estadística) que permite establecer límites y verificar que los 25 datos obtenidos no superen los límites hallados.

Es necesario forma llevar un control estadístico gráfico que permita verifica y dar seguimiento a los datos de forma diaria y estimar si existen datos aberrantes que sean necesario repetir o eliminar, siendo necesario documentarlo. Si se eliminan más de dos valores aberrantes será necesario cancelar el experimento y evaluar los errores para su repetir todo el protocolo, previa evaluación de las posibles causas de errores (CLSI, 2003).

$$\text{Limite de Grubb} = \bar{x} \pm (\text{Factor de Grubb} * SD)$$

Fórmula 1, para el cálculo de valores atípicos. Donde, \bar{x} : promedio de los 25 datos, SD: desviación estándar, el Factor G depende de N. Siendo los criterios de evaluación: máximo 1 resultado aberrante por muestra: Aceptada, máximo 2 resultados aberrantes en el protocolo: Aceptado. Más de 3 resultados aberrantes en todo el protocolo: Rechazada.

El propósito principal de la guía EP15, con respecto a la precisión, es observar y evaluar la variación esperada de los datos en condiciones normales de operación, buscando que sea pequeña, es decir los resultados de replicación deberían arrojar valores similares.

La facilidad de las ecuaciones estadísticas de la guía EP15A-3, permite que sean obtenidos con *software* específicos o mediante funciones frecuentes en una plantilla de Excel, como el análisis de varianza de un factor (ANOVA). La hoja de cálculo nos permite ordenar los datos para desarrollar las ecuaciones parcialmente, para al final obtener los valores de la verificación. Actualmente existen muchos *softwares* que ofrecen herramientas que permiten obtener los datos necesarios de manera automática, simplificando el proceso, el analista únicamente debe comprender los datos y cómo deben ser interpretados (Westgard, 2013; Douglas, 2008).

El *software* de Microsoft Excel permite obtener como resultado de la función ANOVA una tabla resumen que muestra la variabilidad total del conjunto de datos, desglosada en columnas, dentro del grupo y entre grupos, como lo muestra la Tabla 25.

Tabla 25. Resumen del análisis de varianza (ANOVA) unidireccional.

Fuente de variación	Suma de cuadrados (SS)	Df	Media cuadrada (MS)
Entre grupos	SS ₁	df ₁	MS ₁
Dentro de los grupos	SS ₂	df ₂	MS ₂
Total	SS _{total}	df _{total}	

Con los resultados de la tabla ANOVA, se obtienen los datos necesarios para iniciar el análisis estadístico y calcular la desviación estándar para cada condición de precisión: repetibilidad (**S_R**) y entre corridas (**S_B**), y las varianzas: intracorrída (**V_w**, *within-run*),

entre corrida (V_B , *between-run*). Así como la varianza total (V_{WL} *within-laboratory*) a través de la sumatoria de V_W y V_B (Pum, 2019).

$$MS_2 = V_W$$

$$\frac{MS_1 - MS_2}{n_0} = V_B$$

Fórmula 2, para el cálculo de Varianza intracorrida (V_W).

Fórmula 3, para el cálculo de Varianza entre corrida (V_B).

Donde, MS_2 : Fuente de variación dentro de los grupos, MS_1 : Fuente de variación entre grupos, n_0 : días de corrida. Si $MS_1 \leq MS_2$, entonces el componente de varianza entre corrida se establece en 0.

$$S_R = \sqrt{V_W}$$

$$S_B = \sqrt{V_B}$$

Fórmula 4, para el cálculo de la Desviación estándar en condiciones de repetibilidad (S_R).

Fórmula 5, para el cálculo de la Desviación estándar entre corridas (S_B).

$$S_{WL} = \sqrt{V_W + V_B}$$

Fórmula 6, para el cálculo de la Desviación estándar en condiciones de precisión intralaboratorio (S_{WL}).

El cálculo de la desviación estándar en condiciones de repetibilidad (S_R) se obtiene de la raíz cuadrada de V_W (MS_2), la desviación estándar entre corridas (S_B), por la raíz cuadrada de V_B (diferencia entre MS_1 y MS_2 , dividido entre n_0). La desviación estándar intralaboratorio por la raíz cuadrada de V_{WL} , cómo lo explican las Fórmulas 2,3,4,5 y 6.

Obtenidas las desviaciones estándar, es posible estimar los coeficientes de variación en porcentajes (CV_R , CV_B y CV_{WL}). Estos resultados deben ser comparados con las especificaciones de desempeño declaradas por el fabricante (Pum, 2019; INACAL, 2018; Romero, 2019).

$$CV(\%)_R = \frac{S_R}{\bar{x}} \times 100$$

Fórmula 7, para el cálculo del Coeficiente de variación intracorrida o en condiciones de repetibilidad (CV_R).

$$CV_B = \frac{S_B}{\bar{x}} \times 100$$

Fórmula 8, para el cálculo del Coeficiente de variación entre corridas (CV_B).

$$CV_{WL} = \frac{S_{WL}}{\bar{x}} \times 100$$

Fórmula 9, para el cálculo del Coeficiente de Variación total (CV_{WL}) o intralaboratorio.

Se considera que la verificación es aceptada si los valores calculados de CV son menores o iguales al valor obtenido por el fabricante, como se describe en la Tabla 26.

Tabla 26. Criterios de aceptabilidad para precisión acorde al fabricante (INACAL, 2018).

Control	Valor CV		Valor CV	Verificación
Nivel 1	CV _R laboratorio	≤	CV _R fabricante	Aceptada
Nivel 1	CV _{WL} laboratorio	≤	CV _{WL} laboratorio	Aceptada

En la última versión (A3) de la guía EP15, un cambio importante es la adición de los valores superiores de verificación (UVL), o LSV por sus siglas en español. Este cálculo permite realizar una segunda valoración, en caso de que el parámetro del fabricante no se cumpla. Este valor amplía el parámetro del fabricante teniendo en cuenta que el laboratorio clínico muchas veces no puede reproducir las condiciones analíticas del fabricante (Pum, 2019).

Para obtener los UVL se requiere del estadístico F o Prueba de Fisher. El enfoque de los cálculos se basa en los siguientes pasos (Suasnavas, 2018):

- a) Determinar los grados de libertad.
- b) Determinar el factor F, utilizando (df_R) y (df_{WL}).
- c) Calcular UVL utilizando el factor F determinado.

Para calcular los grados de libertad en la prueba de repetibilidad, se realiza una resta, donde se obtiene la diferencia del número de datos y el número de corridas. Mientras para la precisión se requiere de la proporción “p”, que permite establecer los grados de libertad.

Los dos grados de libertad se fijan con tablas estadísticas que se establecen en la misma guía, para determinar el estadístico F.

El valor UVL se obtiene multiplicando el factor F por las especificaciones del fabricante, σ_{RF} y σ_{WL} según corresponde.

$$df_R = N - K$$

Fórmula 10, para el cálculo de los grados de libertad para repetibilidad (df_R). Donde N: número de resultados y K: cantidad de corridas analíticas.

$$UVL_{repetibilidad} = F * \sigma_{RF}$$

Fórmula 11, para el cálculo de los valores superiores de verificación (UVL). Donde, F: valor obtenido de tablas, y σ_{RF} : especificación del fabricante para repetibilidad.

$$p = \frac{\sigma_{WL}}{\sigma_R} = \frac{CV_{WL}}{CV_R}$$

Fórmula 12, para el cálculo del índice de reclamaciones, p, para la determinación de los grados de libertad para precisión intermedia (df_{WL}). Donde σ_{WL} : desviación estándar para precisión intermedia del fabricante σ_R : desviación estándar para repetibilidad del fabricante. El valor de p calculado se interpola en la tabla correspondiente para encontrar los df_{WL}.

$$UVL_{precisión\ intralaboratorio} = F * \sigma_{WL}$$

Fórmula 13, para el cálculo de los valores superiores de verificación (UVL). Donde, F: valor obtenido de tablas, y σ_{WL} : especificación del fabricante para precisión intermedia.

Finalmente se comparan las especificaciones del fabricante con los UVL previamente obtenidos, para determinar si es aceptada o no la verificación de la precisión.

Si el valor obtenido por el laboratorio es menor o igual al UVL, se acepta la verificación en condiciones de repetibilidad y precisión intralaboratorio, si el valor del fabricante resulta ser superior al UVL especificado se rechaza la verificación desde el punto de vista estadístico.

Tabla 27. Criterios de aceptabilidad para precisión acorde el límite superior de verificación (UVL).

Control	Valor CV		Valor CV	Verificación
Nivel 1	CV_R fabricante	\leq	UVL	Aceptada
Nivel 1	CV_{WL} fabricante	\leq	UVL	Aceptada
Nivel 1	CV_R fabricante	\geq	UVL	Rechazada
Nivel 1	CV_{WL} fabricante	\geq	UVL	Rechazada

Clínicamente se debe trabajar bajo los requisitos de calidad (TEa) seleccionados por el laboratorio clínico, comparando los resultados de CV_R y CV_{WL} obtenidos durante protocolo contra los requisitos de calidad. El criterio sobre la aceptabilidad depende de la cantidad de error analítico que es permitido sin que afecte o limite la interpretación y uso de un resultado de examen. Se recomienda utilizar los criterios de CLIA para aceptabilidad, como punto de referencia para establecer la cantidad de error permitido.

En términos de repetibilidad o desviación estándar intradía, que representa la imprecisión a corto plazo, S_w , debe ser $\frac{1}{4}$ o menos del error total permitido, o $S_w < 0.25 TE_a$. Por otro lado, en cuanto a la imprecisión a largo plazo, o llamada precisión dentro del laboratorio, la desviación estándar total debe ser $\frac{1}{3}$ o menos del error total permitido, es decir $S_{tot} < 0.33 TE_a$ (Rodríguez, 2021; Westgard, 2013).

Tabla 28. Criterios de aceptabilidad para precisión bajo condiciones clínicas.

Control	Valor CV		Valor	Verificación
Nivel 1	CV_R laboratorio	\leq	$0.25 TE_a$	Aceptada
Nivel 1	CV_{WL} laboratorio	\leq	$0.33 TE_a$	Aceptada

Estos criterios permiten establecer los límites de aceptabilidad en función de la imprecisión, asegurando así la calidad de los exámenes clínicos.

3.7.4.4.2. Linealidad

El concepto de linealidad en un método se refiere al intervalo de concentraciones del analito donde la respuesta del sistema de medición sigue una relación lineal con la concentración. Para que el método analítico sea considerado aceptable, la representación gráfica de este rango (concentraciones frente a respuestas) debe demostrar una buena correlación de los puntos experimentales a la línea de regresión. Es responsabilidad del laboratorio verificar matemáticamente esta relación (ema, 2008).

Este parámetro es de gran importancia, ya que la relación lineal es la forma matemática más simple y permite una interpolación fácil y precisa de los resultados.

Tabla 29. Resumen del parámetro linealidad: definición y expresión (Taverniers, et al., 2004).

Parámetro	Definición	Expresión
Linealidad	<p>La capacidad del método para generar resultados que sean proporcionales a la concentración del analito, dentro de un intervalo específico.</p> <p>El rango de concentraciones o cantidad de analito sobre el cual:</p> <ul style="list-style-type: none">• El método da respuestas de la prueba proporcionales a la concentración del analito• Se puede aplicar un modelo de calibración lineal con un nivel de confianza conocido.	<p>NOTA: La linealidad no puede ser expresada en algún termino. Esta debe ser demostrado con la ayuda de diferentes parámetros.</p>

Es un enfoque menos restrictivo, la linealidad se refiere a la capacidad de un sistema de prueba para generar resultados que se ajusten a una línea recta de la forma $y=mx+b$ dentro de un intervalo dado. La linealidad evalúa la respuesta general del sistema, es decir, a la respuesta analítica final y no a la señal del instrumento.

El experimento de linealidad es un requisito reconocido por CLIA como parte del rango reportable, aunque también se le conoce como "rango lineal", "rango analítico" o "rango de trabajo" en referencia al método.

Aunque el rango reportable puede no coincidir exactamente con el intervalo lineal, se considera parte integral del mismo según las fuentes (Westgard, 2013; Suasnavas, 2018).

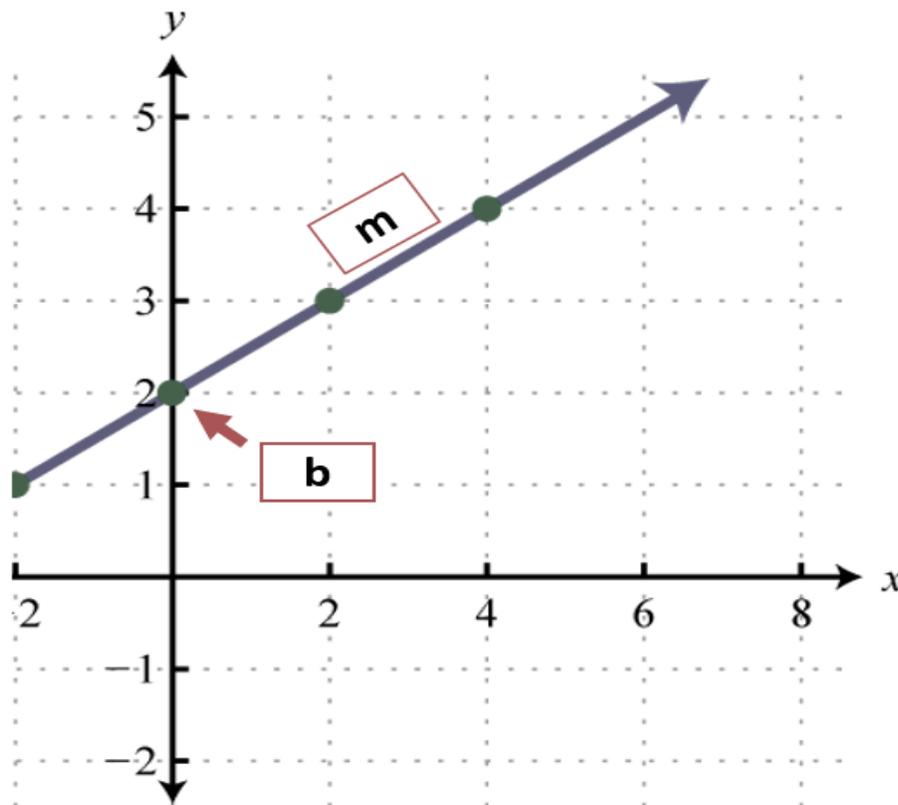


Figura 10. Ecuación lineal. El modelo de primer orden representa una línea recta que típicamente sigue la forma matemática $y=mx + b$, siendo m : pendiente y b : intersección con el eje y ; para algunas aplicaciones los usuarios pueden optar por verificar la linealidad utilizando una ecuación lineal que incluya un término para la intersección y .

Es importante destacar que no todos los métodos analíticos exhiben una relación lineal en su respuesta. Un ejemplo de ello son los inmunoensayos competitivos, que presentan una relación intrínsecamente no lineal entre la señal de respuesta y la concentración del analito.

En este caso es importante hallar una relación matemática bien definida entre las dos variables para permitir la interpolación de puntos y la elección de una transformación adecuada de la curva dosis-respuesta en una forma lineal (Hsieh & Liu, 2008).

El procedimiento de análisis de datos para la verificación de la linealidad implica la comparación entre los valores observados y los asignados, seguido de la evaluación de esas diferencias con un criterio de aceptabilidad definido por el laboratorio (Arroyo, 2021).

El protocolo EP06 es empleado por los fabricantes para establecer las características de desempeño sobre linealidad o por los laboratorios clínicos para verificar el intervalo de medición propuesto con anterioridad por el fabricante de los procedimientos de medición cuantitativa (Gimenez, 2019). Este protocolo se aplica de manera consistente en diferentes escenarios, variando el número de niveles de concentración y réplicas utilizadas en el análisis.

Tabla 30. Características del procedimiento de linealidad bajo diferentes condiciones de aplicación (Arroyo, 2021; CLSI, 2003).

Característica	Definición
Para establecer el intervalo de linealidad	Se analizan entre 7 y 11 niveles de concentración, realizando de 2 a 4 replicados para cada nivel. Se recomienda que se utilicen más puntos y un rango de concentraciones de 20-30% más amplio que el rango previsto, lo que permitirá eliminar los puntos no lineales y establecer el intervalo analítico más amplio posible que cumplan las especificaciones de linealidad.
Para validar un método “in-house”	Se analizan de 7 a 9 niveles de concentración, realizando 2 o 3 replicados para cada nivel.
Para verificar el intervalo de linealidad	Se analizan entre 5 a 7 niveles de concentración, realizando 2 replicados como mínimo para cada nivel. Se recomienda que el intervalo de concentraciones a evaluar sea similar a los establecidos por el fabricante.
*Cinco puntos es el número confiable para describir de manera confiable el rango lineal. Si se aumenta el número de niveles se proporciona una descripción más exacta de la linealidad y proporcionan un rango lineal más amplio en caso de que sea necesario eliminar puntos, por lo cual los usuario deben usar su juicio, sobre la cantidad de niveles y replicados a realizar.	

Aunque se han descrito numerosos métodos experimentales para evaluar un rango lineal, el enfoque más ampliamente aceptado es el método polinomial descrito por primera vez por Kroll et al. y posteriormente adoptado en el documento CLSI EP06-A.

El enfoque de la guía se basa en un método polinomial, que utiliza un método estadístico para determinar las concentraciones en las que el método carece de linealidad y la magnitud de esa no linealidad para el nivel específico de concentración.

Este enfoque es estadísticamente riguroso y fácil de implementar en programas de hojas de cálculo. Las versiones más recientes de la guía hacen hincapié en la necesidad de establecer los requisitos de error relacionados con la no linealidad (Suasnavas, 2018; Hsieh & Liu, 2008).

El análisis de regresión polinomial es una técnica que permite encontrar una línea o curva que se ajuste mejor a los datos, para así poder interpolar un valor desconocido, ya sea de un polinomio de primer, segundo o tercer grado. Este procedimiento consta de dos pasos:

1. Evaluar la linealidad.
2. En caso de no linealidad, el cálculo del grado de no linealidad y comparación con los criterios de sesgo permitidos.

Orden	Polinomio	Regresión df (Rdf)
Primero	$y = b_0 + b_1x$	2
Segundo	$y = b_0 + b_1x + b_2x^2$	3
Tercero	$y = b_0 + b_1x + b_2x^2 + b_3x^3$	4

Figura 11. Análisis de regresión polinomial (CLSI, 2003). *El modelo de primer orden es una línea con tendencia lineal. El modelo de segundo orden describe una relación donde hay una respuesta curva, ya sea con una tendencia creciente en la respuesta ("curva hacia arriba" o recuperación creciente en niveles más altos) o una tendencia decreciente ("curva hacia abajo" o recuperación decreciente en niveles más altos). El modelo de tercer orden se ajusta a situaciones en las que la respuesta cambia entre niveles; Este modelo ajusta las respuestas "sigmoideas" o inclinadas en "forma de S", al igual que los modelos donde la no linealidad ocurre en los extremos del rango de medición (CLSI, 2003).*

En esencia, el método polinomial se utiliza para evaluar la no linealidad en un conjunto de datos. La elección de polinomios se debe a que permiten representar relaciones no lineales de manera más precisa.

El análisis estadístico realizado según la guía permite determinar si un polinomio no lineal se ajusta mejor a los datos en comparación con uno lineal. Posteriormente, se evalúa si la diferencia entre el polinomio lineal y el no lineal que mejor se ajusta es menor que el límite de sesgo permitido para el método. Este enfoque asegura que se cumplan los criterios de aceptabilidad establecidos para la precisión del método (Suasnavas, 2018).

Aunque la guía nos permite evaluar el rango lineal de un valor cuantitativo sin considerar directamente la precisión y la veracidad, es importante tener en cuenta que una precisión deficiente puede dificultar una evaluación precisa de la linealidad. Por lo tanto, siempre se recomienda verificar la repetibilidad o, en ciertos casos, comenzar con la verificación de la precisión. Esta práctica garantiza una evaluación más eficiente y confiable de la linealidad de un método analítico (CLSI, 2003; Suasnavas, 2018).

Antes de iniciar el protocolo de verificación de la linealidad, es importante tener en cuenta varias consideraciones y especificaciones para obtener resultados acordes con el objetivo y que el resultado de la verificación realmente sea el correcto.

Por ejemplo, la evaluación del rango lineal debe abarcar concentraciones importantes, como la concentración analítica mínima o el límite inferior del rango lineal, varios límites de decisión médica y la concentración analítica máxima o el límite superior del rango lineal. Además se recomienda recopilar muestras de acuerdo con la guía, es decir analizándolas aleatoriamente durante una sola serie o series analíticas estrechamente agrupadas.

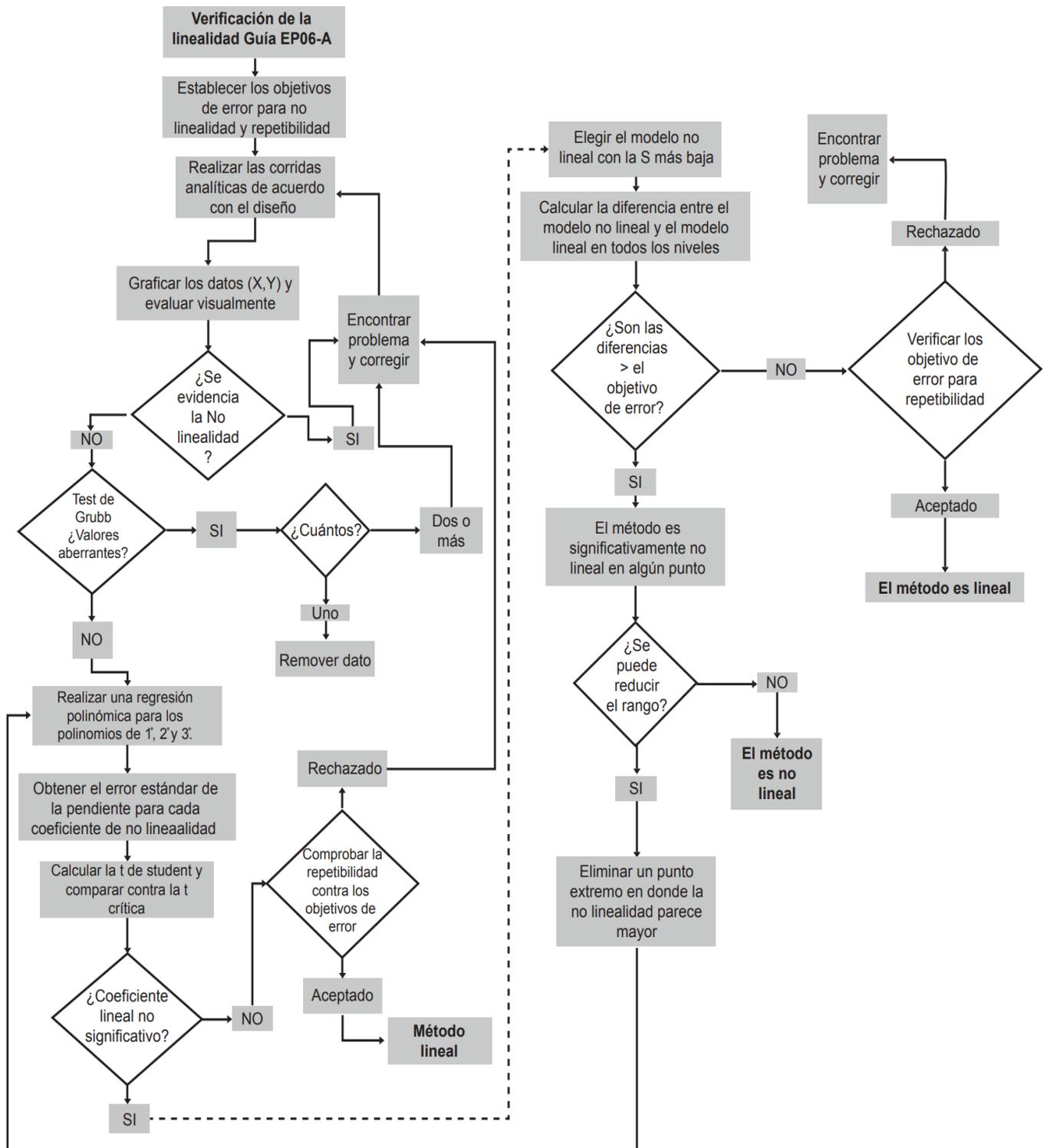
Todo el protocolo de recopilación de datos debe llevarse a cabo en el intervalo de tiempo más corto posible después de que se haya completado el período de familiarización con el dispositivo. Idealmente, todos los resultados para un solo analito se obtendrán el mismo día (Suasnavas, 2018; Arroyo, 2021).

Conjuntamente existen otras especificaciones que son importantes para empezar la verificación de la linealidad detalladas en la Tabla 31. Todas ellas permiten tener un panorama de los requerimientos específicos necesarios a considerar antes de comenzar el procedimiento.

Tabla 31. Consideraciones previas para la verificación de la linealidad (Westgard, 2013, *ema*, 2008 y Hsieh & Liu, 2008).

	Características
Materiales necesarios	Se recomienda el uso de muestras de pacientes ya que reducen al máximo el efecto matriz. Sin embargo las muestras de pacientes pueden generar un sesgo, por la presencia de interferentes y la diluciones manuales o pretratamiento que pueden aumentar el error analítico y afectar la precisión en condiciones de repetibilidad.
Efecto matriz	Las muestras deben ser similares a las de las pruebas clínicas. Deben estar libres de interferencias específicas que el método reporte, si lo anterior no puede cumplirse, deberá ser indicado en el reporte final, así como cualquier tratamiento adicional. *Si se analizan varios tipos de muestras (orina, suero, líquido cefalorraquídeo, sangre total, etc.), deberá realizarse un estudio para cada tipo de muestra.
Número de niveles	Se recomienda un mínimo de 4 niveles de concentración. Pueden ser utilizados más de 5 sobre todo cuando el rango reportable superior necesita ser maximizado, pero se ha constatado que un número de 5 es conveniente y casi siempre suficiente.
Uso de materia comercial	Se permite el uso de material comercial con una matriz similar a la de las muestras de pacientes, ya que puede resultar difícil obtener muestras que alcancen las concentraciones máximas reportadas por el fabricante. *Se siguen las indicaciones del fabricante respecto al procesamiento y análisis de resultados, así como el uso de materiales que no requieran de reconstitución, cuya matriz sea similar a la matriz de las muestras a evaluar y que abarque en mayor medida el intervalo analítico reportado por el fabricante.
Replicas	El evaluador debe proponer el número de réplicas necesarias, aunque se recomiendan 4 réplicas, 3 réplicas por nivel de concentración son suficientes. *Se debe preparar el volumen mínimo exacto para realizar las diluciones con las réplicas programadas, contando el volumen muerto que se requiere sobre todo en los equipos automatizados.
Metas de error	Se deben definir previamente las metas de error (Error total aceptable ETa) para cada analito. Las metas de linealidad se definen como un porcentaje de error total de forma que el resultado en cada punto debe ser igual o inferior al porcentaje de error máximo permitido definido a partir del ETa.
Valores aberrantes	Se permite único valor aberrante durante la corrida, cuando se detecte más de un valor mediante un gráfico de regresión o algún método estadístico se debe evaluar la causa de error, corregir y repetir el ensayo de verificación.
Preparación de diluciones	Se recomienda la preparación de concentraciones equidistantes (Figura 12), aunque la guía no es un requisito. Es necesario que las concentraciones sean conocidas, ya sea por razones de dilución o formulación. *Se recomienda evaluar concentraciones cercanas a los valores de decisiones clínicas según el mensurando a evaluar.
Diluyentes	Es importante utilizar un diluyente que no altere la matriz del espécimen si se trabaja con muestras de pacientes. Para química clínica se usan el agua y la solución salina. Para otras pruebas, se utilizan preparaciones de albúmina bovina o sérica, especímenes con bajas concentraciones o suero libre de fármacos. *Se recomienda seguir las especificaciones del fabricante para diluir especímenes de pacientes fuera de rango.
Material volumétrico	Contar con el correcto material volumétrico para realizar las diluciones, ya que de lo contrario se pueden presentar errores que afectan directamente el protocolo.
Secuencia analítica	La secuencia de procesamiento de muestras debe ser aleatoria. Si existe un arrastre significativo puede afectar los resultados del experimento.
Rango analítico	Los niveles de concentración para la medición deben incluir o coincidir con los valores mínimos y máximos establecidos en las declaraciones de desempeño.

Diagrama 2. Verificación de la linealidad Guía EP06-A.



Para la verificación de la linealidad se recomienda analizar entre 5 y 7 niveles de concentración, aunque se permite utilizar más niveles si se desea. Para cada nivel se corren 3 replicados como mínimo. Es recomendable que los niveles con concentración mínima y máxima sean similares a los establecidos por el fabricante (Arroyo, 2021).

Los materiales necesarios para la verificación de la linealidad son los siguientes:

1. Protocolo, que detalle los procesos a seguir.
2. Disoluciones, (es común la preparación de concentraciones equidistantes pero no es un requisito).
3. Planilla de cálculo o *software*.
4. Inserto del reactivo o manual proporcionado por fabricante.
5. Bitácora de trabajo, para llevar un registro detallado de todas las actividades.

Las muestras utilizadas en la determinación del rango lineal del resultado analítico deben ser representativas de las muestras que se analizarán en las pruebas clínicas. Es importante que estas muestras estén libres de interferencias conocidas que puedan afectar los resultados y que estén en concordancia con las instrucciones del método analítico, como la presencia de ictericia, hemólisis o lipemia.

En caso de que no sea posible obtener muestras de libres interferencias, es necesario indicar en el informe final cualquier tratamiento de muestra o tipo de matriz utilizada durante la evaluación. Esta información garantiza la transparencia y la comprensión adecuada de los resultados obtenidos en relación con las condiciones específicas de las muestras utilizadas en el estudio (CLSI, 2003).

El objetivo es asegurar que las muestras utilizadas para determinar el rango lineal sean lo más representativas posibles de las muestras clínicas reales, lograr una evaluación precisa y confiable de los resultados analíticos.

La Tabla 32 presenta una lista de posibles tipos de muestras en orden de conveniencia. Al seleccionar una muestra para su análisis, es importante tener precaución y elegir la matriz adecuada que sea compatible con el método analítico específico utilizado.

Tabla 32. Muestras recomendadas y sus características para las disoluciones patrón (CLSI, 2003).

Muestra y características
<p>1. Pool de muestras de pacientes</p> <p>La matriz de muestra ideal consiste en una combinación de muestras con concentraciones de analito cercanas a los límites superiores e inferiores esperados. Se utiliza un pool de muestras de pacientes con concentración en el límite inferior para diluir el <i>pool</i> con concentración en el límite superior. Es importante ajustar las concentraciones finales de los <i>pools</i> analizados para que estén dentro del rango deseado.</p>
<p>2. Pool de muestras de pacientes diluido con diluyente recomendado</p> <p>Es importante utilizar el diluyente recomendado por el fabricante o probado como aceptable por el laboratorio al diluir un <i>pool</i> de muestras de alta concentración, ya que puede afectar los resultados de la prueba. Además, en sistemas analíticos que permiten la dilución de muestras, el uso del diluyente aprobado ayuda a demostrar la linealidad en todo el rango de medición y documenta la idoneidad del diluyente. Los estudios de dilución deben ser incluidos en el establecimiento del rendimiento del fabricante, según corresponda.</p>
<p>3. Pool de muestras de pacientes suplementado con analito</p> <p>El material suplementario que contiene el analito no requiere ser de alta pureza si no hay sustancias que interfieran. Si hay sustancias que interfieren presentes, deben reportarse (fuente, pureza y efecto anticipado). Si se usa una solución concentrada de analito para complementar el <i>pool</i>, diluya lo menos posible (menos del 10%, como guía) y documente el solvente utilizado.</p>
<p>4. Pool diluido con materiales de baja concentración o pool de material tratado</p> <p>Si es posible, utilice un <i>pool</i> de muestras de pacientes de baja concentración. Alternativamente, se pueden usar ciertos tratamientos para reducir la concentración del analito (p. ej., diálisis, tratamiento térmico y cromatografía). Tenga en cuenta que estos tratamientos pueden cambiar el analito y/o la matriz física y/o químicamente. Es importante mantener una matriz constante en lugar de lograr niveles bajos simplemente por dilución.</p>
<p>5. Material comercial de control/calibrador/linealidad</p> <p>Analice estos materiales como lo haría con muestras de pacientes, si no se proporcionan las mezclas adecuadas, use las muestras alta y baja para crear concentraciones intermedias. El analito debe encontrarse en su forma fisiológica normal (p. ej., ligado a proteínas o un metabolito, si corresponde).</p>
<p>6. Pool diluido con solución salina u otros diluyentes distintos del recomendado</p> <p>Cuando utilice tales muestras, tenga cuidado con las diferencias de matriz que pueden afectar los resultados. Estas diluciones deben mantenerse al mínimo y documentarse.</p>
<p>7. Material de control comercial subdiluido o sobrediluido</p> <p>Cuando se utilicen tenga cuidado con las diferencias de matriz que pueden afectar los resultados: estos efectos pueden variar según la concentración. Las diluciones deben mantenerse al mínimo y documentarse. Se debe tener cuidado para lograr una solución completa.</p>
<p>8. Soluciones acuosas</p> <p>El efecto de la matriz humana y su respuesta no se analiza cuando se utilizan soluciones acuosas. Estos efectos pueden afectar la respuesta del método y la interpretación de los resultados. Aunque se prefieren materiales de alta pureza para minimizar posibles interferencias, los materiales de menor pureza pueden ser aceptables. En muchos métodos de química clínica de rutina, se utilizan materiales acuosos para la calibración y la concentración establecida puede tener el valor esperado.</p>
<p>9. Solución en otros solventes</p> <p>Los efectos de matriz son incluso más probables cuando se utilizan disolventes orgánicos.</p>

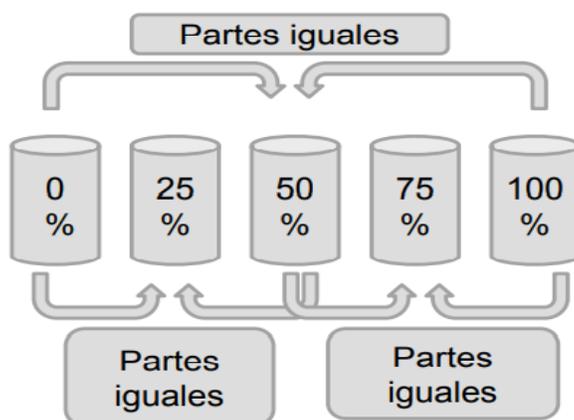


Figura 12. Protocolo de concentraciones equidistantes (Modificado de Rodríguez, 2016). El protocolo requiere la inclusión de una muestra de alta concentración, una muestra de concentración mínima y/o un diluyente adecuado, el uso del inserto proporcionado por el fabricante, un software o plantilla para el análisis estadístico, así como la definición de un criterio de calidad para el procedimiento de medición.

Según la guía EP06, para implementar el protocolo de concentraciones equidistantes, se necesitan una muestra de alta concentración y una muestra de baja concentración. Concretamente, se requiere una muestra cercana al nivel cero o límite de detección, y otra muestra que se sitúe cerca o ligeramente por encima del límite superior indicado por el fabricante. El protocolo incluye los siguientes pasos (ema, 2008):

1. Determinar el volumen total necesario para realizar el protocolo.
1. Seleccionar pipetas volumétricas verificadas.
2. Etiquetar la muestra de concentración más baja como M1 y la muestra de concentración alta como M2.
3. Preparar las diluciones (Tabla 33).

Tabla 33. Preparación de concentraciones equidistantes (ema, 2008).

Número de dilución	Proporción en volumen de la muestra M1	Proporción en volumen de la muestra M1
1	Usar sin diluir	0
2 (75/25)	3	1
3 (50/50)	2	2
4 (15/75)	1	3
5	0	Usar sin diluir

*Se puede adecuar el protocolo de preparación de diluciones de acuerdo con el número elegido por el evaluador, por ejemplo si se desean más niveles pueden ser mezclados 4 a 1, 3 a 2, 2 a 3 y 1 a 4 para dar cuatro niveles intermedios para un total de seis niveles para el experimento.

4. Evaluar cada una de las diluciones por triplicado para obtener la media de cada dilución.
5. Recopilar y procesar los datos obtenidos en una planilla de cálculo.

La concentración de cada dilución (C_i) se calcula a partir de los volúmenes (V_{M1} , V_{M2}) y concentraciones (C_{M1} , C_{M2}) de los *pools* bajos y altos (CLSI, 2003):

$$C_i = \frac{C_L * V_L * C_H * V_H}{V_L * V_H}$$

Fórmula 14, para la concentración de cada dilución C_i . Donde, C_L : concentración baja, V_L : volumen bajo, C_H : concentración alta, V_H : volumen alto.

El examen preliminar de los datos obtenidos consta de dos pasos, según Westgard, 2014:

1. Identificar cualquier diferencia evidente o error significativo en los resultados. Si no se detectan discrepancias, se procede al segundo paso.
2. Graficar los datos y examinar visualmente posibles valores atípicos en cada concentración de analito.

Para el análisis de datos, se realiza una representación gráfica donde se colocan los datos medidos en el eje (Y) y los valores asignados, teóricos, relativos o factores de dilución en el eje (X). Este gráfico proporciona una representación visual que permite evaluar la linealidad del método y detectar áreas de posible no linealidad.

Opcionalmente se puede graficar la media de cada conjunto de replicas por nivel, lo que facilita la identificación de desviaciones graves de la linealidad, puntos atípicos, errores de transcripción o posibles problemas con el instrumento.

Si es necesario, organice los datos de cada grupo en orden cronológico para evaluar la desviación o las tendencias. En caso de encontrar alguna diferencia excesiva, se deben reemplazar los datos de toda la ejecución después de corregir la causa. Es importante tener en cuenta que los datos que revelan problemas pueden ser indicativos del rendimiento real del método (Westgard, 2014; CLSI, 2003).

Durante el análisis de los datos, se debe observar las diferencias entre las respuestas en cada nivel. En un patrón lineal, los pendientes de los segmentos serán aproximadamente iguales. Cualquier tendencia creciente o decreciente sugiere la presencia de no linealidad en el método. Además, es necesario examinar visualmente los valores de respuesta (y_i) en relación con los demás valores de Y para una concentración determinada. Si un valor de respuesta parece estar significativamente alejado de los demás, se debe considerar como un valor atípico y eliminarlo del conjunto de datos. Dos o más valores atípicos sin explicación arrojan dudas sobre el rendimiento del sistema de prueba.

El examen visual de la gráfica XY es importante para evaluar la linealidad y determinar si existe una relación clara entre las variables. Este examen ayuda a identificar la necesidad de ajustar el rango de prueba y seleccionar los métodos estadísticos apropiados para el análisis posterior. Es importante tener en cuenta que la linealidad puede variar entre métodos estadísticos y clínicos, por lo que es crucial que el analista comprenda y defina claramente ambos conceptos (CLSI, 2003).

Un valor atípico se refiere a un dato visual y estadísticamente diferente que no se ajusta al patrón general de los datos. Estos valores se aplican a las réplicas individuales y no deben confundirse con errores sistemáticos. Los valores atípicos pueden surgir debido a errores administrativos, fallas en el sistema u otros factores.

Aunque existen métodos estadísticos para identificar y analizar los valores atípicos, la evaluación visual es la primera instancia recomendada para detectarlos. La Guía EP06-A sugiere el uso de pruebas estadísticas, como el test de Grubb o Dixon, para identificar los valores atípicos de manera más precisa y objetiva. Estas pruebas tienen un enfoque estadístico para determinar si un dato en particular es un valor atípico en relación con el resto de los datos (INACAL, 2018; Morales & Gutiérrez, 2019).

Si se identifica un solo valor atípico en un conjunto de datos, generalmente se puede eliminar sin necesidad de reemplazarlo. Sin embargo, si hay más de un punto que parece estar fuera del patrón de datos, es probable que exista imprecisión y se debe identificar y abordar la causa subyacente.

En este punto, es necesario aplicar los procedimientos de resolución de problemas, que pueden incluir ponerse en contacto con el fabricante para obtener ayuda, si los valores atípicos no tienen una explicación clara (CLSI, 2003; Suasnavas, 2018).

Un procedimiento de medida se considera estadísticamente lineal si la ecuación obtenida a partir de los puntos trazados sigue una función lineal de primer orden, que es el modelo más común y simple. La recta en el gráfico representa las diferentes diluciones utilizadas, las cuales se definen mediante una variable X o variable independiente. La variable Y , que corresponde a la media de las réplicas de cada dilución, se representa en el eje vertical del gráfico. En este modelo, se obtiene la pendiente e intercepto, y el coeficiente de regresión lineal b_1 , que no es relevante ya que la ecuación describe una línea recta.

Sin embargo, si la ecuación obtenida no sigue un modelo de orden 1, se debe evaluar la linealidad clínica utilizando ecuaciones de orden 2, 3 o 4. Para que un procedimiento de medida sea considerado clínicamente lineal, el error de no linealidad no debe exceder el 50% del requisito de calidad establecido (Westgard, 2014). Esto significa que el procedimiento debe mantener una relación lineal satisfactoria dentro del rango de concentraciones clínicamente relevantes.

Para evaluar la linealidad en un método, se utilizan herramientas que permiten determinar si existe una relación lineal y si la curva generada se ajusta a un modelo de primer orden u a otro tipo de ecuación, como un modelo polinomial. Después de descartar los valores atípicos, se deben seguir las recomendaciones establecidas en la guía CLSI EP6-A, que incluyen los siguientes pasos:

1. Realizar el análisis de la regresión polinomial para los polinomios de primero, segundo y tercer orden.
2. Obtener el error estándar de la pendiente para cada coeficiente (SE_i).

El error estándar se define como la desviación estándar de una estimación. El error estándar del coeficiente mide con qué precisión el modelo estima el valor desconocido del coeficiente, y es siempre positivo, lo que permite medir la precisión de la estimación del coeficiente. Cuanto menor sea el error estándar, mayor será la precisión de la estimación.

El error estándar de la pendiente se utiliza para calcular el valor t, que se obtiene dividiendo el coeficiente por el error estándar. Esta fórmula se utiliza para evaluar la significancia estadística de la pendiente del modelo en relación con la hipótesis nula. El valor t se compara con un valor crítico para determinar si la pendiente es estadísticamente significativa (Minitab, 2022).

Este valor se puede obtener automáticamente con cualquier *software* estadístico, ya que su cálculo algebraico puede ser complejo. Bajo los supuestos de errores gaussianos independientes e idénticamente distribuidos, la matriz de covarianza de las estimaciones del coeficiente de regresión se calcula utilizando la fórmula: $\text{Var}(\hat{\beta}) = \sigma^2 (X^T X)^{-1}$ donde X es la matriz de diseño que contiene las variables independientes de cada punto de datos, y σ^2 es la varianza de los errores. Para obtener el valor de SE_i, se multiplica la varianza de los errores (también conocida como varianza residual) por los elementos diagonales de la matriz inversa del producto $(X^T X)^{-1}$, en el caso de la regresión lineal (Montgomery, Peck & Vinig, 2003).

En el caso de modelos de segundo y tercer orden, el cálculo del valor SE_i se basa en la matriz de covarianza de las estimaciones de los coeficientes, pero el cálculo exacto de SE_i es más complicado y puede requerir *software* estadístico especializado o métodos numéricos.

En el ejemplo de linealidad, encontrado más adelante, se obtuvo el *software* R, que es un lenguaje de programación estadística gratuito y ampliamente utilizado. Este *software* proporciona herramientas estadísticas para el análisis de regresión y otros análisis de datos. Utilizando el *software*, se pueden calcular automáticamente los valores del error estándar del coeficiente y realizar diversos análisis estadísticos.

En el análisis de regresión, la varianza de error se calcula de acuerdo las siguiente fórmula:

$$\sigma^2 = \sqrt{\frac{SR}{df}}$$

Fórmula 15, para la varianza de error. Donde, SR: la raíz cuadrada de la sumatoria de los cuadrados de los residuos, df: número de grados de libertad.

El segundo paso en la evaluación de la linealidad implica comprobar la significancia estadística de los coeficientes no lineales, es decir, determinar si estos coeficientes son significativamente diferentes de cero. Esto se puede realizar utilizando la prueba t, para los coeficientes no lineales:

3. Calcular Prueba T con la fórmula, para comparar con la t crítica.

$$t = \frac{b_i}{SE_i}$$

Fórmula 16, para el cálculo de T-test. Donde, b_i : coeficientes de regresión polinomial, SE_i : error estándar de la pendiente para cada coeficiente no lineal.

*Los dos primeros coeficientes (b_0 y b_1) no se prueban porque no reflejan la no linealidad, la prueba se calcula para b_2 y b_3 .

4. Calcular los grados de libertad con la Fórmula 17.

$$df = L \cdot R - Rdf$$

Fórmula 17, para el cálculo de los grados de libertad. Donde, L: número de diferentes preparaciones o concentraciones de muestra, R= número de réplicas en cada preparación o concentración, Rdf= número de grados de libertad consumida por el análisis de regresión o el número de coeficientes en el modelo de regresión, incluido b_0 .

Un método para evaluar la significancia estadística de los coeficientes no lineales es comparar el valor calculado del estadístico de prueba con el valor crítico correspondiente. Es importante tener en cuenta que estas pruebas de significancia estadística solo indican que se ha detectado una no linealidad en los datos, pero no confiable información sobre si dicha no linealidad es lo suficientemente grande como para afectar los resultados clínicos o tener relevancia práctica.

5. Buscar el valor crítico para t ($\alpha=0.05$) en la tabla para linealidad (que se encuentra en anexo 3).
6. Determinar si el valor-p denota o no significancia estadística de los coeficientes no lineales, de acuerdo con la siguiente información:

Si ninguno de los coeficientes no lineales b_2 o b_3 en el modelo de tercer orden es significativo, ($p > 0.05$), entonces el conjunto de datos se considera lineal y el análisis está completo.

Si alguno de los coeficientes no lineales b_2 en el modelo de segundo orden, o b_2 o b_3 en el modelo de tercer orden son significativos ($p < 0.05$), entonces el conjunto de datos es no lineal, según el protocolo de la guía EP06. Este enfoque proporciona una forma objetiva de evaluar la linealidad basada en la evidencia estadística obtenida de la muestra analizada (CLSI, 2003).

Por lo tanto, además de la evaluación de la significancia estadística, es necesario determinar el grado de linealidad y su posible impacto en la interpretación de los resultados clínicos. Esto implica considerar el contexto clínico, la magnitud de la no linealidad y los criterios de calidad o requisitos establecidos para el método en cuestión.

El análisis de grado de la no linealidad es una estadística que proporciona una medida de la diferencia entre los resultados y el modelo polinomial de mejor ajuste. Al realizar este análisis, se calcula el error estándar para cada modelo polinomial considerado. El modelo que tenga un error estándar más bajo será el que proporcione un mejor ajuste a los datos observados (CLSI, 2003).

- 4) Elegir el polinomio no lineal (de segundo o tercer orden) que mejor se ajuste de acuerdo con el análisis del error estándar de regresión ($S_{y.x}$).

El error estándar de la regresión es una medida estadística que indica la distancia media entre los valores observados y la línea de regresión. Representa la discrepancia entre los resultados medidos y el modelo utilizado (Montgomery, Peck & Vinig, 2003).

Es una métrica importante para comparar diferentes modelos de regresión. El modelo polinomial con el valor más bajo de error estándar de la regresión ($S_{y.x}$) se considera el que proporciona el mejor ajuste a los datos. El cálculo de esta medida estadística también es complejo, siendo recomendable el uso de *softwares* o programas específicos para obtener el dato (CLSI, 2003).

5) Calcular la desviación de la linealidad en cada concentración con la siguiente fórmula.

$$DL_i = p(x_i) - (b_0 + b_1x_i)$$

Fórmula 18, para el cálculo del grado de no linealidad. Donde, DL_i : la diferencia que existe entre el modelo de segundo (cuadrático) y tercer (cúbico) orden y el modelo de primer orden (lineal) en cada uno de los niveles de concentración.

*Se expresa en las unidades del analito para que pueda compararse con objetivos predefinidos y puede ser expresada en porcentaje.

Si cada valor DL_i , son inferiores al criterio establecido ($DL_i < \text{criterio establecido}$), incluso si se ha detectado una no linealidad estadísticamente no significativa, no es importante ya que la cantidad de error está dentro del objetivo deseado.

Sin embargo, si algún valor de DL_i excede el criterio ($DL_i > \text{criterio establecido}$), indica un posible problema con la linealidad en el nivel determinado. En tal caso, se deben seguir los siguientes pasos según las recomendaciones del CLSI (CLSI, 2003):

- 1) Identificar el motivo de la no linealidad, que puede estar relacionada con, preparación de la muestra, interferencia, calibración del instrumento, entre otros. Es necesario eliminar la causa subyacente. En esta etapa, es posible ponerse en contacto con el representante del sistema o instrumento utilizado para obtener orientación adicional.
- 2) Examinar el gráfico de respuesta frente a concentración. Si se observa que la no linealidad ocurre en alguno de los extremos de la concentración, una opción es eliminar el punto de datos correspondiente donde DL_i fue excesivamente grande y luego volver a realizar el análisis estadístico. Es importante tener en cuenta que al eliminar este punto, se reducirá el rango lineal del método.

Tabla 34. Criterios DL_i para la verificación de la linealidad de un método.

Valor DL_i	<	Criterio establecido	Verificación aceptada
Valor DL_i	>	Criterio establecido	Seguir recomendaciones de la guía utilizada

3.7.4.4.3. Veracidad

De acuerdo con la definición del VIM (2008), la veracidad de medida se refiere a “la proximidad entre la media de un número infinito de valores medidos repetidos y un valor de referencia”. En otras palabras, la veracidad se relaciona con la precisión y exactitud de las mediciones, y cómo se comparan con un valor de referencia conocido o aceptado.

Tabla 35. Resumen del parámetro veracidad: definición y expresión (Taverniers, et al., 2004).

Parámetro	Definición	Expresión
Veracidad	La proximidad del acuerdo entre la expectativa del resultado de la prueba (valor medio esperado) y el valor de referencia aceptado (valor verdadero).	Sesgo: %error: diferencia entre el valor medido y el valor real. <i>Sesgo = Media global \bar{x} – VT</i>

La veracidad de medida está inversamente relacionada con el error sistemático, pero no guarda ninguna relación con el error aleatorio. El error sistemático puede expresarse como un valor absoluto o relativo al valor verdadero y puede manifestarse de dos formas: como un error sistemático constante, que se mantiene constante en un rango de concentraciones, o como un error sistemático proporcional, que varía predeciblemente en todas las medidas. En los errores sistemáticos hay un desplazamiento de la media respecto a su valor original (ema, 2008), como se puede observar en la Figura 13.

El sesgo de medida se refiere al valor estimado del error sistemático en una medición, es la diferencia entre el valor medio determinado por el laboratorio para el analito de interés y el valor verdadero esperado o de referencia. Se expresa en unidades de concentración o actividad, también como porcentaje. En un análisis químico, este sesgo puede ocurrir si el método no logra extraer completamente el elemento de interés o si la presencia de un elemento interfiere en la determinación de otro (Garzón 2006; Romero, 2019; Morales & Gutiérrez, 2019).

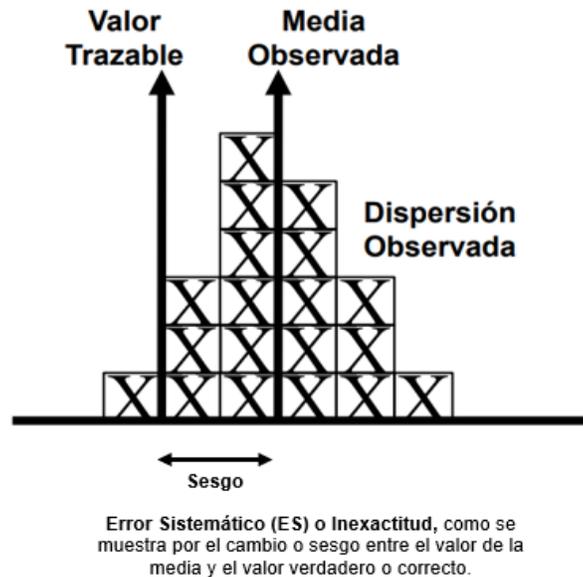


Figura 13. Error sistemático (ES) o inexactitud (Westgard, 2013), está inversamente relacionado con la veracidad o directamente con la inveracidad, pero no está relacionada con el error aleatorio. Los errores sistemáticos están en una sola dirección y causan que todos los resultados de exámenes sean altos o bajos; por lo que la estimación de cuanto se desplaza la media o de cuanto tan altos o bajos son los valores puede ser descrito por el sesgo (Westgard, 2013).

El sesgo se estima mediante la comparación de los resultados de las medidas obtenidas en muestras de control de calidad, materiales de prueba, muestras de aptitud o estándares de referencia, con los valores target (VT) correspondientes. Para ello, se realiza un análisis preliminar de los datos, descartando valores atípicos que pueden afectar la precisión de la estimación.

Una vez realizado el análisis preliminar de datos y descartando valores atípicos se debe identificar el VT en la información del inserto, o mediante la media del grupo de comparación correspondiente al mes considerado (Pum, 2019).

Aunque para la verificación de la veracidad existan diferentes fuentes de materiales para determinar el sesgo, todos ellos deben contar con un VT y una incertidumbre expresable como el error estándar del material de referencia se_{RM} , conocido también como error estándar asociado al valor asignado, verdadero o target se_{VT} , el cual debe ser declarado por el fabricante o estimada a partir de otros estadísticos asociados a la asignación de valores.

Es importante tener en cuenta que las concentraciones deben comprender niveles de decisión médica y límites de referencia, también se debe considerar la confiabilidad del VT buscando aquel con el menor error estándar del material de referencia (se_{RM}), valor que será determinado de acuerdo con el material seleccionado (Romero, 2019). Existen otros factores a considerar antes de comenzar con la verificación, los principales se explican en la Tabla 36.

Tabla 36. Factores para considerar antes de la verificación de la veracidad (INACAL, 2018; Suasnavas, 2018).

Factores	Descripción
Duración del experimento	Depende de la directriz o guía utilizada, ej. EP15-A3, 5-7 días, según comparación de métodos: óptimo 20 días.
Materiales para la verificación	Las muestras por utilizar están descritas en la Tabla 37. Herramientas y materiales de referencia para la verificación de la veracidad.
Cantidad de materiales y concentraciones	El número de materiales depende de las concentraciones que son críticas para el uso clínico del examen. Se recomienda utilizar concentraciones que estén cercanas a los niveles de decisión médica o a los límites de referencia, o que simplemente se encuentren en las regiones que corresponden a los valores normales y patológicos.
Número de replicas	Al menos 20 estimaciones totales, mientras mayor sean, se proporciona una mejor estimación. El diseño experimental de 5 x 5 es sugerido.

La elección del material depende del propósito del usuario para estimar el sesgo, además del tiempo y costo que involucra cada material. Por ejemplo el procedimiento más sencillo para la evaluación de la veracidad es el que utiliza materiales de referencia con valores asignados pero su costo elevado es la principal desventaja.

Otra opción es utilizar materiales obtenidos mediante programas de comparación entre laboratorios, donde se establece un consenso sobre los valores asignados. Estos programas requieren una inversión de tiempo, ya que generalmente se necesita participar durante un período de al menos 6 meses para obtener resultados significativos. También existen materiales en los que el valor se obtiene al aplicar un procedimiento de medición de referencia, estos implican un cálculo estadístico más complicado y la colaboración con un laboratorio que utiliza una metodología de referencia reconocida (Ramírez, 2016).

Tabla 37. Herramientas y materiales de referencia para la verificación de la veracidad (INACAL, 2018).

Herramientas para la verificación de veracidad	Materiales para la verificación de veracidad
Valoración de un material de referencia certificado:	Materiales certificados de referencia
a) Valoración por el cálculo de error relativo.	Materiales de referencia
b) Valoración por el cálculo de porcentaje de recuperación.	Controles de veracidad
Estudios de comparación de métodos	Materiales de control de participación de esquemas interlaboratorio
Estudios de comparación interlaboratorios con base en los resultados de programas de ensayos de aptitud	Materiales con participación en PEEC
	Materiales de control comercial con valores asignados

La calidad de cada material utilizado para estimar el sesgo depende de la estimación del VT. En el caso de los materiales de concentración conocida que se utilizan como suplemento en un grupo de muestras de pacientes libres de analito, el valor objetivo se establece de acuerdo con la práctica, sin incertidumbre y con un error estándar de cero. Lo mismo que ocurre con los materiales utilizados en CCI, donde a menudo no se conoce su incertidumbre o se_{RM} .

En ambos casos, existe una alta probabilidad de que el resultado promedio medido en el experimento caiga fuera de ese intervalo de verificación más estrecho.

En los materiales que presentan un valor promedio y desviación estándar resultantes de la participación de varios laboratorios con un método igual o equivalente al usado por el usuario final, como los utilizados en pruebas de competencia, evaluación externa de la calidad y programas de control de calidad interlaboratorio, el se_{RM} puede ser calculado con base en los estadísticos descritos y números de laboratorio. Se recomienda como número óptimo de laboratorios un mínimo de 20 para obtener un VT confiable (Suasnavas, 2018; Pum, 2019).

Las diferentes fórmulas para su cálculo dependiendo del material utilizado, así como su descripción se expresan en la Tabla 38.

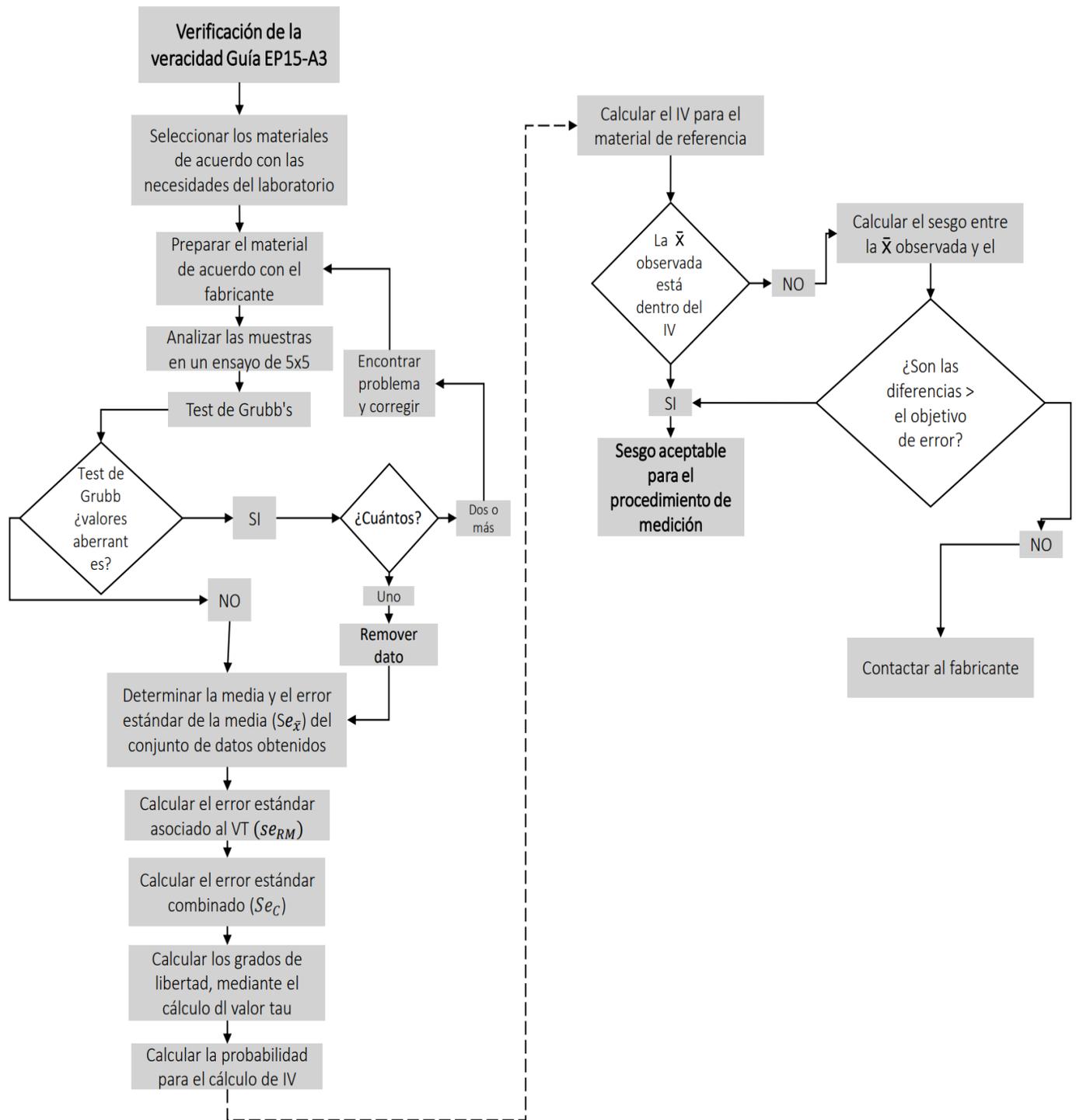
Tabla 38. Materiales de selección y estimación del error estándar del valor target asignado se_{VT} o error estándar del material de referencia se_{RM} (Romero, 2019).

Materiales	Fórmula	Descripción
Materiales de referencia	$se_{RM} = \frac{U}{K}$	se_{RM}: Error estándar del valor asignado U: Incertidumbre expandida. K: Factor de cobertura (95%=2)
Materiales con participación interlaboratorio	$se_{RM} = \frac{SDg}{\sqrt{Ng}}$	se_{RM}: Error estándar del valor asignado SDg: Desviación estándar del grupo de comparación. Ng: Cantidad de laboratorios del grupo de comparación
Materiales de EQQ/PT	$se_{RM} = \frac{SDg}{\sqrt{Ng}}$	se_{RM}: Error estándar del valor asignado SDg: Desviación estándar del grupo de comparación Ng: Cantidad de laboratorios del grupo de comparación
Materiales de control comercial (control interno)	$se_{RM} = 0$	se_{RM}: Error estándar del valor asignado Como no existe información se asume un valor de "0" cero.

El protocolo EP15-A propone una metodología para evaluar simultáneamente la verificación de la precisión y la veracidad de un método analítico que ha sido validado previamente por el fabricante. El experimento para realizar esta evaluación se estima que tomará alrededor de cinco días, aunque también se puede extender una semana o más si se busca una mayor confiabilidad en los resultados. No es necesario llevar a cabo el experimento de forma consecutiva, se pueden programar los días según la disponibilidad del laboratorio. La estimación del sesgo puede realizarse con los resultados previos de la verificación de la precisión, si el material aprobado tiene un VT, o también llamado valor asignado (Suasnavas, 2018; Romero, 2019).

La guía recomienda seleccionar por lo menos dos materiales que representen concentraciones próximas al nivel de decisión médica bajo y al nivel de decisión médica del rango reportable del método. Si es el caso del material de elección, deben ser preparados de acuerdo con las recomendaciones del fabricante y analizados por duplicado durante 3 o 5 corridas. De la misma forma también se puede utilizar el diseño de 5x5 descrito para la verificación de la precisión (Suasnavas, 2018).

Diagrama 3. Verificación de la veracidad Guía EP15-A3.



Aunque los cálculos para la verificación de la veracidad varían según el material empleado, la estimación del sesgo de acuerdo con la EP15 requiere que se deriven dos estadísticas para asegurar la veracidad: Una **estadística** y otra **clínica**. A continuación se describen los pasos involucrados en estos cálculos (INACAL, 2018):

1. Calcular la media o promedio total del experimento (\bar{x}).
2. Obtener el error estándar total de la media ($Se_{\bar{x}}$), (Fórmula 19 y 20).
3. Calcular el error estándar asociado al VT (se_{RM}), que depende del material seleccionado (Tabla 38).
4. Obtener el error estándar combinado (Se_C), (Fórmula 21.)

$$Se_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{1}{nRun} \left[S_{WL}^2 \left(\frac{nRep - 1}{nRep} \right) S_R^2 \right]}$$

Fórmula 19, desarrollada para el cálculo del error estándar de la media. Donde Se_x : error estándar de la media, S_{WL} : desviación intralaboratorio, S_R : desviación estándar en condiciones de repetibilidad, $nRun$: número de corridas y $nRep$: número de replicados por día.

$$Se_{\bar{x}} = S_{WL} / \sqrt{df_{\bar{x}} + 1}$$

$$Se_C = \sqrt{Se_{\bar{x}}^2 + Se_{RM}^2}$$

Fórmula 20, simplificada para la estimación del error estándar de la media. Donde Se_x : error estándar de la media, S_{WL} : desviación intralaboratorio, df_x : grados de libertad para la media.

Fórmula 21, para la estimación del error estándar combinado. Donde Se_C : error estándar combinado, Se_x : error estándar de la media y se_{RM} : error estándar del valor asignado.

La estimación del error estándar de la media se realiza con el fin de conocer la dispersión de los valores alrededor de la media. El cálculo depende de la información con la que se cuenta, se puede recurrir a una fórmula de error más simplificada (parte inferior izquierda), si se cuenta con información necesaria. La guía EP15-A3 recomienda sustituir los valores experimentales de SD precisión interlaboratorio y SD repetibilidad por la repetibilidad del fabricante (S_R) y la imprecisión dentro del laboratorio (S_{WL}). Estos valores se obtienen de la tabla de precisión encontrada en el inserto del procedimiento. Si el estudio de verificación indica que el desempeño en el laboratorio es consistente con lo descrito por el fabricante. Teniendo de los valores de se_{RM} y se_x , calcula el error estándar combinado.

5. Calcular los grados de libertad combinados. Este cálculo también depende del material elegido, por ejemplo, para los grados de libertad combinados con control de fabricante o interno se utiliza la Fórmula 23.

La determinación de estadísticos como el valor tau, cuando se utilizan materiales de control con participación interlaboratorio o de control externo, requiere tener información sobre la cantidad de participantes.

El valor tau es obtenido al dividir el error estándar asociado al VT por el error estándar (se_{RM}/se_x). El propósito de su cálculo es determinar los grados de libertad combinados (df_c), para el número de laboratorios utilizados según su nivel de concentración. Para obtener estos grados de libertad se debe consultar las tablas descritas en la guía EP15. Otra opción es utilizar la fórmula de Satterthwaite para determinar los grados de libertad combinados (Suasnavas, 2018; Pum, 2019).

$$df = \frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right)}{\frac{1}{n_1 - 1} \left(\frac{s_1^2}{n_1}\right)^2 + \frac{1}{n_2 - 1} \left(\frac{s_2^2}{n_2}\right)^2} \qquad df_c = nRun - 1$$

Fórmula 22, de Satterthwaite para el cálculo de los grados de libertad combinados con Control Interlaboratorio

(Programas de Ensayo de Aptitud). Donde S_1^2 : varianza muestral de la primera muestra, S_2^2 : varianza muestral de la primera muestra, n_1 : tamaño de la primer muestra, n_2 : tamaño de la segunda muestra.

Fórmula 23, para el cálculo de los grados de libertad combinados con control de fabricante. Donde nRun: número de corridas.

$$tau = \frac{Se_{RM}}{Se_{\bar{x}}}$$

Fórmula 24, para la estimación del valor tau para el cálculo de los grados de libertad combinados con Control Externo o Control Interlaboratorio para cálculo de grados de libertad (df). Donde SE_{RM} : error estándar del valor asignado, Se_x : error estándar de la media.

Obtenidos los grados de libertad, se puede:

6. Calcular la probabilidad (Fórmula 25).

$$Probabilidad = 1 - \frac{0.025}{\#muestras}$$

Fórmula 25, para el cálculo de probabilidad. Donde, #muestras: número de muestras utilizadas.

Para 1 muestra, se trabaja con 0.9750; para 2 muestras, se trabaja con 0.9875; para 3 muestras, se trabaja con 0.9917; para 4 muestras, se trabaja con 0.9938 y para 5 muestras, se trabaja con 0.9950.

7. Calcular el intervalo de verificación VI al 95%.

Para la determinación del estadístico “t de student” se utiliza la relación entre los grados de libertad combinados y el valor de probabilidad.

El cálculo de t para un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$, se determina de manera rápida usando la fórmula de Excel: INV.T(probabilidad, grados de libertad combinados) (Romero, 2019). Una vez obtenida toda la información necesaria, se puede determinar finalmente el VI utilizando la Fórmula 26.

$$VI = VT \pm (t_{probabilidad,dfc} * Se_c)$$

Fórmula 26, para el Intervalo de verificación VI. Donde VT: valor target, t: t de student, dfc: grados de libertad combinados y Se_c : error estándar combinado.

Para determinar la aceptabilidad de la verificación de la veracidad, es importante que el valor promedio de las mediciones del experimento se encuentre dentro del intervalo de verificación. Sin embargo, desde un punto de vista clínico, se requieren fórmulas específicas para estimar el sesgo. Además, es necesario considerar el valor del error total aceptable, el cual puede variar según la fuente de referencia utilizada.

EL TEa, debe tener unidades de concentración (TEa_c), lo cual permite calcular el error sistemático (ESa_c). El ESa_c se calcula dividiendo el error total aceptable: $TEa_c/2$.

Para que el sesgo del experimento sea considerado aceptable, debe ser menor al ES_{ac}. El sesgo se calcula con la Fórmula 27.

$$\text{Sesgo} = \text{Media global } \bar{x} - VT$$

Fórmula 27, para la estimación des sesgo. Donde VT: Valor objetivo del material de referencia.

En la evaluación clínica, se considera que existe un sesgo clínicamente no significativo cuando este es menor al 50% del requisito de calidad establecido. Sin embargo, si el sesgo supera este límite, se considera que la verificación ha sido rechazada (INACAL, 2018).

3.7.4.4.4. Incertidumbre

La estimación de la incertidumbre de medición en los resultados generados por un sistema de medición de rutina es un aspecto fundamental para verificar su desempeño, si un laboratorio clínico utiliza procedimientos de examen adecuados para su propósito, obtiene resultados que son trazables y tienen un nivel de incertidumbre apropiado (ema, 2008).

De acuerdo con el VIM (2008), la incertidumbre de medición (U) se define como el "parámetro no negativo que describe la dispersión de los valores asignados a una magnitud, a partir de la información que se utiliza", en el contexto del laboratorio clínico, el término "magnitud" se refiere al analito o al examen específico que está siendo evaluado.

La incertidumbre es una forma de estimar la probabilidad de que el resultado esté cerca del valor óptimo posible, teniendo en cuenta el conocimiento disponible en ese momento. Esta estimación puede ser representada mediante varios parámetros, como la desviación estándar, lo cual se conoce como incertidumbre típica de la medida (o un múltiplo de esta desviación). También puede ser expresada como la semiapertura de un intervalo con una probabilidad de cobertura específica (JCGM, 2008; VIM, 2008).

Tabla 39. Resumen del parámetro incertidumbre: definición y expresión (VIM, 2008).

Parámetro	Definición
Incertidumbre (u)	Parámetro relacionado con los resultados de una medición que describe la dispersión de los valores o margen de error asociado, que podría razonablemente ser atribuidos al objeto o cantidad medida. Proporciona información sobre la confiabilidad y la calidad de los resultados obtenidos.

La incertidumbre de medida incluye numerosos componentes que contribuyen a la variabilidad de resultados. Considerando fuentes de error, tanto sistemáticas como aleatorias, que pueden afectar los resultados de una medición. Estas fuentes de error engloban aspectos como imperfecciones en los instrumentos de medición, limitaciones en los procedimientos de medición, condiciones ambientales variables, habilidades del operador, entre otros factores (ema, 2013; JCGM, 2008).

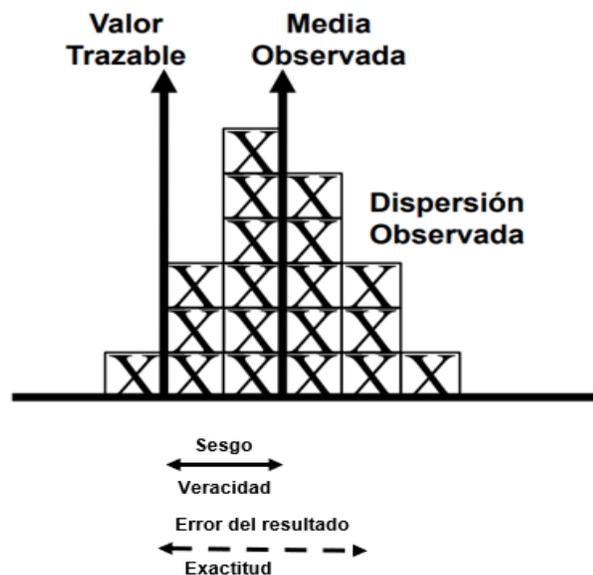


Figura 14. Incertidumbre de medida (Westgard, 2013). La estimación de la incertidumbre puede darse en diversas formas, la forma básica, es la de desviación estándar (incertidumbre Típica o Estándar). Estimados de componentes múltiples del proceso de medición pueden ser combinados adicionando las varianzas de los componentes individuales, luego tomando la raíz cuadrada de las varianzas combinadas, lo que se conoce como Incertidumbre típica combinada. Estos componentes pueden ser estimados experimentalmente (Evaluación del Tipo A de la incertidumbre) u obtenidos a partir de información publicada, teóricos, (Evaluación del Tipo B de la incertidumbre). La incertidumbre se expresa como un intervalo de confianza con un factor de cobertura establecido: Incertidumbre Expandida o Incertidumbre Combinada Expandida con un factor de cobertura de 2 para un intervalo del 95% (Westgard, 2013).

La evaluación tipo A de la incertidumbre de medida permite calcular algunos de estos componentes mediante el análisis estadístico de una serie de observaciones realizadas bajo condiciones definidas. Este método se fundamenta en la distribución estadística de los valores obtenidos a partir de una serie de mediciones, lo que permite caracterizar los componentes de la incertidumbre utilizando desviaciones típicas (VIM, 2008; Westgard, 2013).

Los componentes restantes de la incertidumbre de medida pueden calcularse mediante una evaluación tipo B. Este método se distingue por el uso de desviaciones típicas evaluadas a partir de funciones de densidad de probabilidad, las cuales se basan en la experiencia u otra información. A diferencia de la evaluación de tipo A, la evaluación de tipo B no se apoya en el análisis estadístico de series de observaciones, sino que utiliza diferentes métodos para estimar la incertidumbre (CLSI, 2012).

En general, cuando se habla de la incertidumbre de medida, se asume que está asociado a un valor específico asignado al mensurando, por lo tanto, cualquier modificación en este valor conlleva una modificación en la incertidumbre asociada. La información utilizada para determinar la incertidumbre puede probarse de diferentes fuentes, como valores autorizados y publicados, valores de cantidad de materiales de referencia certificados, certificados de calibración, estudios de precisión de instrumentos de medición verificados o límites derivados de la experiencia personal.

Aunque tanto las evaluaciones de tipo A como las de tipo B son tratadas de la misma manera, en las solicitudes de autorización o aprobación de dispositivos por parte de las agencias reguladoras generalmente se prefiere utilizar evaluaciones de tipo A siempre que sean prácticas y factibles. Estas evaluaciones se basan en el análisis estadístico de series de medición y garantizan una base sólida para la estimación de la incertidumbre de medida (CLSI, 2012).

La *“Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement”* (GUM), se publicó por primera vez en 1993 posteriormente se corrigió y reimprimió dos años después; surgió como parte de una colaboración de organizaciones nacionales e internacionales y fue desarrollado específicamente para laboratorios de calibración y ensayos en campos como la química analítica y las pruebas físicas, posteriormente otras organizaciones

también han definido el concepto dando un enfoque más práctico para implementar en el control de calidad existente en el laboratorio clínico. Estos enfoques prácticos buscan implementar medidas efectivas para garantizar la calidad y confiabilidad clínica de los resultados obtenidos en el laboratorio (Pum, 2019). La Tabla 40 es necesaria para comprender su importancia estableciendo las siguientes definiciones.

Tabla 40. Conceptos asociados a la incertidumbre de medida (Westgard, 2014).

	Definición
Incertidumbre Típica (Estándar)	Término utilizado para describir la incertidumbre de un resultado de medición. Se representa mediante la letra (u) y se expresa en forma de desviación típica.
Incertidumbre típica relativa	Parámetro que se obtiene al dividir la incertidumbre de medida entre el resultado de una medición, simbolizada como <i>u_{rel.}</i> . Proporciona una estimación de la incertidumbre relativa o proporcional al valor obtenido en la medición.
Incertidumbre Típica Combinada	Se simboliza como <i>u_c</i> . Se obtiene cuando el resultado se consigue a partir de los valores de otras magnitudes, como la precisión y el sesgo. Es igual a la raíz cuadrada positiva de una suma de términos, siendo éstos las varianzas o covarianzas de esas otras magnitudes, ponderadas en función de la variación del resultado de medida con la variación de dichas magnitudes.
Incertidumbre Expandida	La incertidumbre expandida <i>U</i> , es parámetro que se utiliza para definir un intervalo relacionado con el resultado de una medición, dentro del cual se espera encontrar una fracción significativa de los valores que podrían ser razonablemente atribuidos al mensurando.
<p>* La fracción se refiere a la probabilidad o nivel de confianza asociado al intervalo definido por la incertidumbre expandida.</p> <p>** Para asignar un nivel específico de confianza a un intervalo determinado por la incertidumbre expandida, es necesario hacer suposiciones explícitas o implícitas sobre la distribución de probabilidad representada por el resultado de la medida y su incertidumbre combinada. El nivel de confianza que se puede atribuir a este intervalo tiene la misma validez que las suposiciones realizadas.</p>	

Existen diversas ecuaciones o modelos matemáticos que se fundamentan en distintas guías para la estimación de la incertidumbre de medición. Estos modelos proporcionan una medida cuantitativa del nivel de confianza que el laboratorio tiene en cada medición (Pum, 2019).

Dentro del contexto del laboratorio clínico, la exactitud del resultado en un prueba depende de la veracidad y la precisión del método de ensayo. Cuando se brinda un

servicio al paciente, en una sola medición se requiere ser exacto. La exactitud es indirectamente proporcional a la estimación de la incertidumbre, a mayor incertidumbre menor exactitud, a menor incertidumbre mayor exactitud (Garzón, 2017).

Para que una evaluación de la incertidumbre sea válida, cada modelo debe considerar lo siguiente (Pereira, 2016):

1. La definición clara del mensurando.
2. Una especificación completa del procedimiento de medición y los objetos de medición.
3. El análisis completo que permita identificar todas las fuentes de incertidumbre que se presentan en un procedimiento de medida conforme a los objetivos y requerimientos del laboratorio.

La Tabla 41, contiene las condiciones generales que deben preverse antes de iniciar la verificación de la incertidumbre de medida, dentro del laboratorio clínico.

Tabla 41. Condiciones generales para estimar la incertidumbre de la medición.

Condiciones	Características
Procedimiento documentado	Se debe presentar un procedimiento documentado o especificación completa para la estimación de la incertidumbre de la medición, indicando los cálculos para las mediciones de cada componente de la incertidumbre.
Enfoque apropiado	El enfoque más apropiado para estimar la incertidumbre de la medición es el Top-Down, ya que la incertidumbre estándar combinada de la medición se estima directamente a partir de mediciones repetidas de muestras seleccionadas. Este enfoque es apropiado para sistemas de medición de los laboratorios clínicos de rutina.
Matrices	Cuando se realizan mediciones de un mismo parámetro en diferentes tipos de muestras y se observan diferencias atribuibles al efecto de la matriz, es necesario que el laboratorio estime la incertidumbre correspondiente a cada matriz en particular. Ejemplo: glucosa en suero, LCR y orina.
Métodos cuantitativos	La estimación de la incertidumbre se estima en todos los procedimientos cuantitativos. En la fase analítica: se debe desarrollar el proceso completo de estimación de incertidumbre. En la fase pre y postanalítica se deben identificar los factores que puedan afectar la calidad de resultados, estos no se incluyen en la estimación de incertidumbre de medición. *No es requerimiento estimar incertidumbre en métodos cualitativos.
Etapas de la medición	1) Especificación del mensurando, 2) Identificación de las fuentes de incertidumbre, 3) estimación de los componentes de incertidumbre en la fase analítica, 4) Estimación de la incertidumbre típica combinada y 5) estimación de la incertidumbre expandida.

En la actualidad muchos laboratorios clínicos de rutina utilizan una variedad de sistemas de medición comerciales, desde sistemas totalmente automatizados, hasta sistemas menos automatizados que utilizan componentes e instrumentos adquiridos de diversas fuentes, e incluso métodos manuales.

Todos estos sistemas tienen múltiples fuentes de variación, ya sea inherentes a los productos comprados y otras más causadas por el procedimiento o personal de laboratorio.

La identificación y estimación de la incertidumbre brindan a los laboratorios una comprensión más precisa del rendimiento y las limitaciones de sus métodos, lo que ayuda a nivelar los aspectos técnicos involucrados en los que potencialmente se puede reducir la incertidumbre. Además de contribuir a una mejor interpretación de los resultados de los pacientes, ya que dichos datos son esenciales para la comparación de los resultados con los límites de decisión clínica (CLSI, 2012; INACAL, 2018).

Tabla 42. Identificación de las fuentes de incertidumbre (CLSI, 2012).

Fuentes inherentes a los equipos	Fuentes asociadas a reactivos	Fuentes asociadas a procedimientos de medición	Fuentes asociadas al personal de laboratorio
<ul style="list-style-type: none"> • Mecanismos volumétricos, p. ej., pipetas • Detectores de señales • Calibración y algoritmos de ajuste de curvas de reducción de datos • Deriva del instrumento con el tiempo • Diferencias entre instrumentos • Remanente de muestras • Arrastre de reactivos 	<ul style="list-style-type: none"> • Valor asignado de calibradores • Variaciones de lote a lote en la respuesta del reactivo • Estabilidad de reactivos y calibradores • Conmutabilidad de calibradores y materiales de referencia • Condiciones de almacenamiento 	<ul style="list-style-type: none"> • Frecuencia de calibración • Mantenimiento 	<ul style="list-style-type: none"> • Deficiencias en la educación y la formación • Falta de cumplimiento de procedimientos y o instrucciones • Falta de destreza manual, por ejemplo, pipeteo

La identificación y cuantificación de las fuentes de incertidumbre depende en gran medida de los requisitos de calidad. Desde el punto de vista del laboratorio clínico, las dos fuentes principales son: la **precisión**, que se refiere al error aleatorio, o al componente de incertidumbre de reproducibilidad dentro del laboratorio (**uR**) y, cualquier **sesgo** de medición (**uB**), que representa el error sistemático.

En el laboratorio, es común agrupar las fuentes de incertidumbre según las etapas o fases analíticas que afectan. Al reportar los resultados, es recomendable que el laboratorio clínico incluya la incertidumbre de medición y proporcione un intervalo de confianza en el cual se encuentra el valor verdadero del mensurando (JCGM, 2008).

El documento EP29 (2012) del CLSI considera únicamente las fuentes de incertidumbre que están directamente relacionadas con el propio sistema de medición. Estas fuentes de incertidumbre incluyen:

- Imprecisión (dentro de la corrida, entre la corrida, entre laboratorios y entre instrumentos).
- Calibración (estimación de parámetros, error del modelo utilizado).
- Veracidad de los valores asignados por el calibrador y conmutabilidad de los calibradores y materiales de referencia.
- Efectos relacionados con la muestra (matriz, interferencias, entre otras).
- Diferencias de lote en reactivos, calibradores de productos y materiales de referencia.
- Diferencias entre los operadores que realizan las mediciones.
- Variabilidad del equipo (por ejemplo, balanzas, pipetas y mantenimiento de instrumentos).
- Variabilidad ambiental (por ejemplo, temperatura, humedad, vibración y voltaje).

La incertidumbre expandida (U) es una medida que establece un intervalo en el cual se estima que se encuentra el valor del mensurando, con un nivel de confianza específico. Este intervalo se obtiene al multiplicar la incertidumbre estándar combinada (u_c) por un factor de cobertura establecido como (k).

La elección del factor k se establece en el nivel de confianza deseado, para un nivel de confianza del 95%, k es igual a 1.96, aunque normalmente se establece en 2, con un a confianza superior del 99%, k normalmente se establece en 3 cuando los grados de libertad combinados son más de 20 (Pum, 2019, Pereira, 2016 y Biogne, 2019).

Existen dos enfoques distintos para estimar la incertidumbre de medición. El enfoque bottom-up se basa en descomponer meticulosamente la medición en sus componentes individuales, identificando y cuantificando cada fuente potencial de incertidumbre. El tamaño de cada contribución a la incertidumbre puede ser estimado mediante análisis estadístico de los valores medidos (Tipo A) u otros métodos, como la consulta de literatura o especificaciones de equipos y productos. Estas incertidumbres identificadas se combinan matemáticamente para generar la incertidumbre estándar combinada, también conocida como enfoque GUM.

El enfoque top-down utiliza principios estadísticos para estimar directamente la incertidumbre general de un sistema de medición, dado normalmente mediante la evaluación de datos experimentales de protocolos especiales, control de calidad, o datos de un experimento de verificación de métodos. Si los resultados de la estimación top-down indican que los objetivos de rendimiento no se han alcanzado, se puede recurrir al enfoque bottom-up para identificar fuentes de incertidumbre que puedan ser modificadas (INACAL, 2018; Eurachem, 2021).

El procedimiento bottom-up puede ser más útil durante el desarrollo de métodos, mientras que el enfoque top-down es comúnmente utilizado para caracterizar los métodos desarrollados o para su verificación.

Cuando sea posible, es importante utilizar el enfoque bottom-up para estimar la incertidumbre, ya que proporciona una mejor comprensión de las fuentes importantes de variación y su contribución a la incertidumbre combinada, lo que permite identificar oportunidades para reducir o eliminar dicha incertidumbre. Idealmente la incertidumbre estimada por ambos enfoques debería ser intercambiable, es decir los resultados obtenidos deberían ser idénticos entre sí.

El tratamiento del sesgo difiere en cada enfoque, y la incertidumbre en su estimación debe ser considerada y agregada a la incertidumbre combinada en función de su

magnitud en relación con otras fuentes. Es importante destacar que la distinción entre los dos enfoques es un tanto arbitraria: el resultado de una evaluación de Tipo A "se convierte" en una estimación de Tipo B cuando se utiliza por cualquier motivo que no sea el propósito previsto original. Esta distinción se realiza para ayudar a evaluar la calidad y relevancia de la estimación (CLSI, 2012).

La elección del enfoque para la estimación de la incertidumbre de medida depende de la naturaleza de la medición y la disponibilidad de la información requerida. Sin importar el método que se utilice. Un primer paso es identificar el mensurando, es decir, la cantidad que el procedimiento pretende medir. En algunos casos, esto puede ser sencillo y sin complicaciones, pero en otros casos, se mide una cantidad que no es la verdadera cantidad prevista (Salazar, 2019; CLSI, 2012).

La American Association for Laboratory Accreditation (A2LA) en su política P903 sobre estimación de la incertidumbre de medida para laboratorios de ensayo según ISO 15189, propone un modelo simple basado en la comparación interlaboratorios que utiliza el enfoque top-down. Este enfoque considera la imprecisión en condiciones de precisión intermedia y la incertidumbre estándar del sesgo, y es de fácil aplicación para los laboratorios clínicos.

El CLSI también ofrece una guía para la estimación de la incertidumbre que es fácilmente aplicable en el campo de la medicina de laboratorio clínico, la EP29-A "*Expression Of Measurement Uncertainty in Laboratory Medicine*". Esta guía define ambos enfoques y propone diferentes ejemplos para cada caso. Además existen otras guías propuestas y adaptadas al laboratorio clínico para estimar la incertidumbre, entre ellas las más difundidas son la Eurachem, la Nordtest y la Eurolab (Garzón, 2017).

Según la política que establece la *ema 2008*, respecto a la estimación de la incertidumbre, se requiere su cálculo en los siguientes casos:

- a) Si el método de medición previamente se validó dentro del laboratorio clínico.
- b) Cuando se disponga de datos provenientes de mediciones de CCI.
- c) Si se requiere respaldar la validez o aplicación del resultado de ensayo.
- d) Si existe una solicitud expresa del cliente.
- e) Cuando la incertidumbre afecte el cumplimiento de una especificación.

La medición de la incertidumbre después de la verificación de métodos se debe de calcular aproximadamente de cada 6 meses a 1 año. Esto se debe a que su estimación se basa en datos recopilados a largo plazo, lo que permite tener una visión más completa y representativa de las fuentes de variación y su contribución a la incertidumbre.

La *ema* propone tres casos diferentes ante la determinación de la incertidumbre, desarrollados en la Tabla 43.

Tabla 43. Estimación de la incertidumbre bajo diferentes condiciones (*ema*, 2008).

Condición	Descripción
Caso a	Se debe tener en cuenta al menos dos fuentes de incertidumbre: la proveniente del material de referencia utilizado (como calibradores, ajustadores o materiales de referencia certificados) y la incertidumbre asociada a la medición en si (como datos de repetibilidad, datos del control diario y precisión intermedia).
Caso b	Si se cuentan con los datos de las mediciones de control de calidad interno, se debe seguir el mismo procedimiento que en el caso a. Sin embargo, en situaciones donde no se dispone de información sobre la concentración y la incertidumbre del material de calibración, se debe considerar únicamente la contribución de la incertidumbre de la medición. Esto puede ocurrir, por ejemplo, cuando se utilizan calibradores electrónicos o ajustadores fotométricos, donde la información sobre la concentración y la incertidumbre del material de calibración puede no estar disponible o ser difícil de determinar.
Caso c	Cuando se requiera estimar la incertidumbre para respaldar la validez o aplicación de un resultado de ensayo, se puede recurrir a programas formales de comparación interlaboratorio. En estos programas, el organizador proporciona un valor de índice de desviación (ID) o una puntuación del índice de varianza (PIV), que puede utilizarse para calcular el error cuadrático medio (ECM), el cual corresponde al valor de la incertidumbre de la medición. En situaciones en las que no existen programas formales de comparación interlaboratorio, se puede considerar el intercambio de muestras con otros laboratorios como una alternativa válida.

La “Directriz para la verificación de los procedimientos de análisis cuantitativo en los laboratorios clínicos” propuesta por el Instituto Nacional de Calidad, INACAL (2018), propone los mismos modelos en el siguiente orden:

- Modelo 1, estimación de la incertidumbre empleando material de referencia y datos del control de calidad interno
- Modelo 2, estimación de la incertidumbre empleando datos del control de calidad interno y control de calidad externo.
- Modelo 3, estimación de la incertidumbre empleando datos de la participación en esquemas interlaboratorio.
- Casos especiales, donde la estimación de la incertidumbre es requerida para procedimientos recién implementados, como sucede en la verificación de métodos.

La estimación de la incertidumbre es un procedimiento que consta de cuatro pasos importantes, independientemente del modelo seleccionado (INACAL, 2018):

1. Especificación del mensurando. En este paso se define y explica claramente la magnitud que se va a medir además del procedimiento utilizado para determinar su valor.

En el laboratorio clínico las magnitudes que se miden son generalmente concentraciones de un componente específico en una muestra biológica.

La IFCC y la IUPAC establecen el registro de la correcta definición del analito, precisando primero el sistema de estudio, luego el componente de este sistema y por último el tipo de ensayo.

2. Identificación de las fuentes de incertidumbre. Se establecen posibles fuentes de incertidumbre. Dentro de los laboratorios clínicos es frecuente delimitar como fuentes a la precisión y el sesgo medido referentes a los materiales de referencia utilizados.
3. Cuantificación de la incertidumbre. Se caracteriza por estimar los componentes de la incertidumbre asociada a cada fuente de incertidumbre identificada, lo cual depende de la información obtenida previamente y para lo cual se requieren

fórmulas específicas, respecto a la información con la cual se cuenta y el modelo elegido, como se muestra en los siguientes ejemplos.

$$u_R = SD_R$$

Fórmula 28, para la estimación del componente de incertidumbre dentro del laboratorio reproducibilidad. Si se utilizan muestras estables de control de calidad (QC), entonces el componente de incertidumbre para la reproducibilidad dentro del laboratorio (u_R) se estima a partir de la desviación estándar de los resultados de control de calidad. Se requieren al menos ocho mediciones para la estimación de este componente de incertidumbre.

El modelo 1 de estimación de incertidumbre, considera la cuantificación del sesgo mediante información procedente del material de referencia (MR), como el calibrador, material de referencia certificado o material de referencia. Además, se estima la imprecisión utilizando datos del control de calidad interno recopilados durante un período prolongado bajo condiciones de precisión intermedia, como ejemplo se encuentra la Fórmula 29.

Al combinar la información del sesgo y la imprecisión, el modelo 1 proporciona una estimación de la incertidumbre total asociada a la medición. Esto permite tener una mejor comprensión del rendimiento y las limitaciones del método, lo que a su vez puede contribuir a la reducción de la incertidumbre y mejorar la interpretación de los resultados clínicos (INACAL, 2018; Pum, 2019).

$$U_B = \sqrt{b^2 + \left(\frac{SD_b}{\sqrt{n}}\right)^2} + U_{Cref}^2 \quad u_{Cref} = \frac{UL-LL}{2}/\sqrt{3}$$

Fórmula 29, para estimación del componente de incertidumbre del sesgo del método utilizando: muestras de Control de Calidad. La incertidumbre asociada con el sesgo del método (u_B) se estima a partir de (i) la el propio sesgo y (ii) la incertidumbre de la muestra de control de calidad (u_{Cref}): Donde, b: bias, SD_b : desviación estándar de los valores medidos del control de material, n: el número de mediciones del sesgo en el material de referencia, u_{Cref} : la incertidumbre de la muestra de control de calidad, UL: límite superior del valor target de la muestra control y LL: límite inferior del valor target de la muestra control.

Existen diversos métodos y técnicas que pueden ser utilizados para estimar el componente asociado a la imprecisión (u_R), dependiendo de la naturaleza de los datos y del estudio en cuestión.

Algunas de las formas comunes de estimar este componente se encuentran detalladas en la "*Directriz para la verificación de los procedimientos de análisis cuantitativos en los laboratorios clínicos*" elaborada por el Subcomité Técnico de Aseguramiento de la Calidad en los procesos del Laboratorio Clínico de la Dirección de Acreditación de INACAL.

Además, se puede encontrar información relevante en el artículo científico titulado "*A practical guide to validation and verification of analytical methods in the clinical laboratory*" escrito por Joachim Pum.

El modelo 2, estima los mismos componentes utilizando datos del CCI y CCE, siendo este último referente a la participación en los ensayos de aptitud (EQA, PT o PEEC).

La Fórmula 30. calcula la incertidumbre estándar asociada con el sesgo dependiendo de la información disponible.

$$u_B = \sqrt{RMS_{bias}^2 + u_{Cref}^2}$$

$$RMS_{Bias} = \sqrt{\frac{\sum D_i^2}{n}}$$

Fórmulas 30, para estimación del componente de incertidumbre del sesgo del método, utilizando: Comparación interlaboratorio. La incertidumbre asociada con el sesgo del método (u_B) se estima a partir de (i) la raíz cuadrada media de las diferencias entre los resultados de la medición y los valores asignados para las diferentes muestras (RMS_{Bias}) (ii) la incertidumbre media de los valores asignados de las muestras de comparación entre laboratorios (u_{Cref}). Donde, D_i : diferencia entre el resultado de la medición y el valor asignado del i muestra de la comparación interlaboratorios y n : el número de muestras de comparación entre laboratorios analizadas.

* Se deben usar estimaciones de sesgo de al menos seis ejecuciones para estimar la incertidumbre del componente de sesgo.

Para estimar el componente asociado a la imprecisión (u_R), se puede utilizar cualquiera de las formas según el MODELO 1. Esto implica que se puede emplear el modelo que se ajuste mejor a los datos y a la naturaleza del estudio.

$$u_B = \sqrt{(SEM^2) \text{ o } (RMS)^2 + SR_g^2 + u_{ref}^2}$$

Fórmula 31, para la estimación de la estimación de sesgo para el cálculo de la incertidumbre. Un valor de referencia aceptable incluye cualquier valor asignado obtenido de un procedimiento de medición de referencia de orden superior, de un método de referencia nacional e internacional aceptado mutuamente o de una red de laboratorios, de un grupo de pares y de los valores medios de todos los métodos del programa PT. Dónde SEM: Error estándar de la media. RMS: Raíz cuadrática media del sesgo observado. SR: Incertidumbre asociada con una referencia específica y estimada a partir de datos de PT/EQA de reproducibilidad del grupo de todos los métodos.

Por otro lado, el modelo 3 realiza la estimación utilizando datos provenientes de la participación en esquemas interlaboratorio, tal como se muestra en la ecuación anterior. Este modelo se considera la opción preferida debido a que permite estimar tanto la imprecisión como el sesgo del componente utilizando el mismo material de control. Esto evita la introducción de otras fuentes de incertidumbre asociadas a la matriz cuando se trabaja con materiales de control de diferentes procedencias o fabricantes para la estimación de los componentes aleatorios y sistemáticos.

Para que un programa sea considerado un esquema interlaboratorio, el organizador debe contar con un programa estadístico para el análisis de los datos proporcionados. Por lo general, el análisis estadístico se basa en la norma ISO 13528:2015, que utiliza técnicas estadísticas robustas (INACAL, 2018).

La estimación del segundo componente, es decir el asociado a la imprecisión tiene cálculos más sencillos pudiéndose utilizar el mismo para los tres modelos, este se calcula con un mínimo de mediciones del CCI por cada nivel evaluado por lo menos durante 6 meses. Se requiere información de los CV% del CCI de al menos 2 niveles del material de control que representen niveles de decisión médica (INACAL, 2018; Pum, 2019).

El último paso para la estimación de la incertidumbre de un método es:

4. El cálculo de la incertidumbre combinada. Este cálculo se realiza utilizando la información obtenida en el paso 3 y puede incluir contribuciones de fuentes individuales o la combinación de varias fuentes.

Estas contribuciones se expresan como desviaciones estándar y se combinan siguiendo las reglas adecuadas, utilizando un factor de cobertura apropiado.

De esta manera, se obtiene la incertidumbre combinada expandida, tal como se detalla en las siguientes fórmulas (Allen & Crawford, 2014).

$$u_C = \sqrt{u_R^2 + u_B^2}$$

Fórmula 32, para la estimación de la incertidumbre de medida combinada. La incertidumbre de medida combinada (μ_C) se calcula como la suma de los componentes de la incertidumbre.

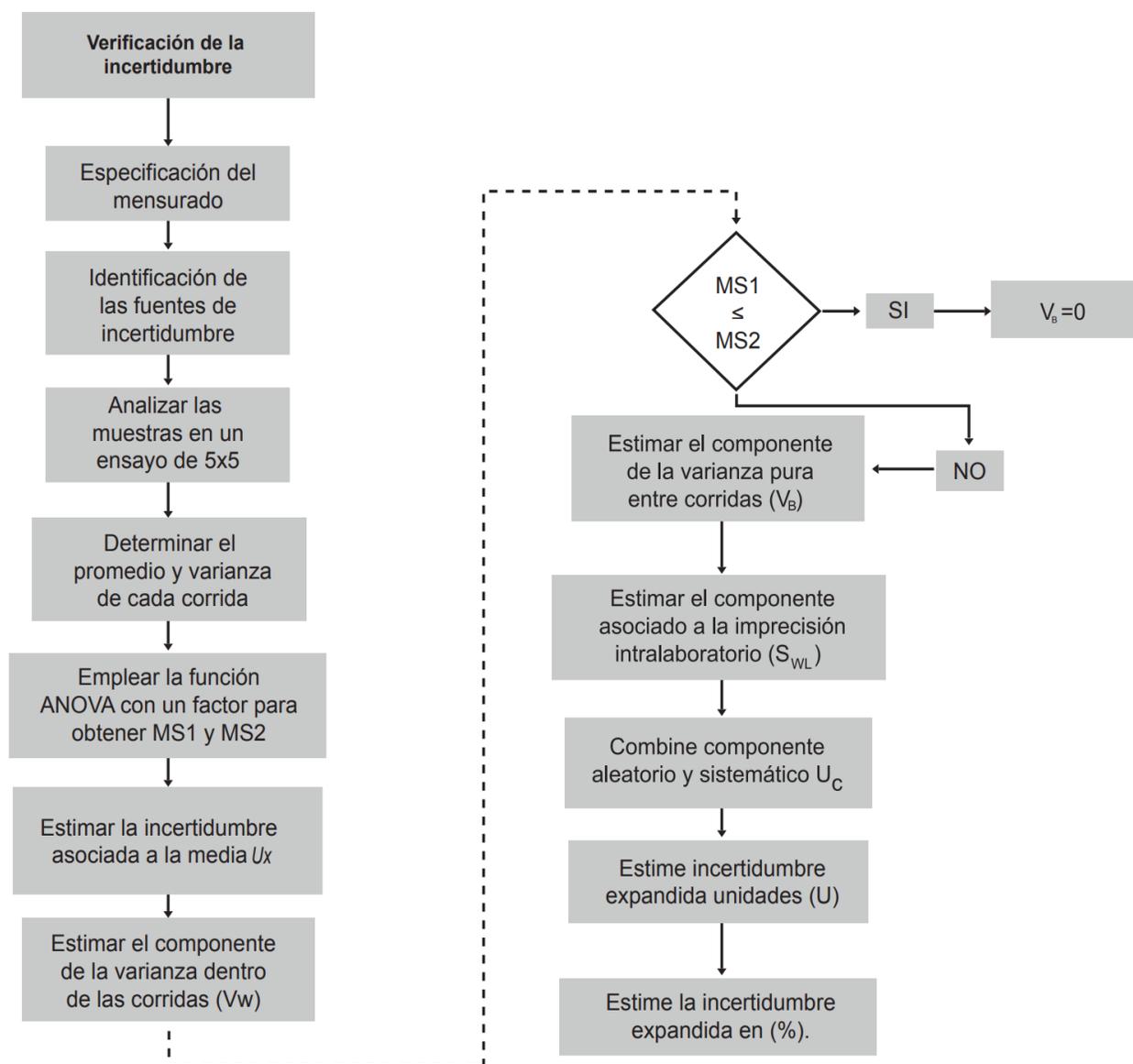
$$U = 1.96 \times \mu_C$$

Fórmula 33, para la estimación de la incertidumbre de la medida expandida. La incertidumbre expandida (U) se calcula multiplicando la incertidumbre combinada con un factor de cobertura k: 1,96, o 2 que es el valor más común que corresponde aproximadamente a un intervalo de confianza simétrico del 95%.

Existe un cuarto caso en la estimación de la incertidumbre para procedimientos recién implementados. Específicamente para los centros de acreditación, la determinación de la incertidumbre mediante en enfoque top-down, para métodos nuevos en los que no se tiene un antecedente de datos de menores a seis meses, se requiere un mínimo de 30 determinaciones repetidas del material de control o de referencia adecuado para el cálculo de una desviación estándar provisional; si el sesgo es significativo o conocido, calcule la incertidumbre estándar combinada (INACAL, 2018).

Las magnitudes de las fuentes de incertidumbre se pueden determinar utilizando el análisis de varianza ANOVA como lo indica la EP29-A. Por lo tanto, para los procedimientos nuevos o recién implementados, es posible calcular la incertidumbre utilizando los datos obtenidos de los estudios de verificación de la precisión y estimación del sesgo. Estos estudios proporcionarán información importante para cuantificar la incertidumbre asociada al método y asegurar la calidad de los resultados en el laboratorio clínico.

Diagrama 4. Verificación de la incertidumbre.



El primer paso es determinar los componentes asociados a la imprecisión y al sesgo, según sea el modelo empleado, para de esta forma combinar las incertidumbre de las variables antes obtenidas. La u_c se calcula como la raíz cuadrada positiva de cada uno de los componentes, según la fórmula siguiente:

$$u_c = \sqrt{u(R_w)^2 + (u(bias))^2}$$

Fórmula 34, para la estimación de la incertidumbre típica combinada. Donde u_{R_w} : componente de incertidumbre asociado a la imprecisión (componente aleatorio) y $u(bias)$: componente de incertidumbre asociado al sesgo (componente sistemático).

A partir de que la u_c es obtenida el factor de cobertura k es necesario para lograr un nivel definido de confianza. En la práctica metrológica es común informar la incertidumbre expandida con un intervalo adecuado de confianza (INACAL, 2018). Generalmente se informa a un 95% de confianza; donde $k = 1.9$ o ~ 2 , que es el valor comúnmente utilizado, como lo muestra la Fórmula 33. El informe del resultado final se cita con un máximo de dos dígitos significativos (Pum, 2019).

3.7.5. Registros y documentación

Al término de la verificación del método, la documentación juega un papel clave ya que es necesaria para fines relacionados con auditorías y evaluaciones, así como requisitos contractuales o reglamentarios. Existen normas que proporcionan orientación sobre la información requisitada necesaria para generar el registro o documentación de una validación o verificación (Eurachem, 2016).

La documentación de los métodos es una parte fundamental del sistema de gestión de calidad del laboratorio y requiere un nivel adecuado de control. Es importante que el laboratorio conserve la documentación de verificación o validación de los métodos durante el tiempo en que se utilicen dichos métodos (Westgard, 2013). Además, es necesario generar los registros al mismo tiempo que se lleva a cabo cada actividad. Estos registros abarcan prácticamente todos los documentos relevantes para el desempeño de las pruebas realizadas en el laboratorio.

Es esencial contar con información completa y clara sobre los métodos validados proporcionados por el fabricante, de esta manera se reducen las posibilidades de introducir cambios accidentales. Los aspectos generales que se requieren para los registros son los descritos en la Tabla 44.

Tabla 44. Aspectos generales para los registros de la verificación de métodos.

Aspectos generales
<ol style="list-style-type: none">1. Nombre de la plataforma y número de serie.2. Ensayo o mesurando.3. Incluir la información relevante sobre el reactivo, calibrador y controles.4. Definir el material seleccionado para llevar a cabo el protocolo.5. Documentar las especificaciones de desempeño de precisión en condiciones de repetibilidad, precisión intermedia o intralaboratorio (total), declaradas por el fabricante.6. Documentar la herramienta de <i>software</i> utilizada para procesar los datos.7. Incluir número de serie y versión.8. Documentar el diseño escogido (cantidad de días y replicados por día para el protocolo y cualquier comentario que se considere relevante).

El listado de información que debe ser registrada es: Identidad del mensurando, propósito del procedimiento de examen y metas para su desempeño, principio del método, requisitos de desempeño, tipo primario de muestra, requisitos de equipo y materiales, procedimientos de calibración, instrucciones paso a paso para llevar a cabo el procedimiento de examen, procedimientos de control estadístico interno de la calidad, cálculos, interferencias, intervalos de referencia, medición de la incertidumbre, rango reportable, valores críticos, interpretación de la prueba, precauciones de seguridad y fuentes potenciales de variación.

Para cada estudio de verificación se debe registrar lo siguiente: Criterios de aceptación y rechazo, resultados obtenidos, procedimientos de calibración y control, análisis de datos, características de desempeño determinadas, comparación de los resultados con otros métodos y otros laboratorios, factores que afectan los resultados, arrastre (cuando sea aplicable), e interferencias o problemas de especificidad (Westgard, 2013). La siguiente imagen muestra de manera visual las características importantes de un documento de registro para la verificación para cualquiera de las características de desempeño.

ESTABLECIMIENTO Y VERIFICACIÓN DE LA PRECISIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

LABORATORIO		Analito		Unidades		Instrumento		Serie	
Concentración evaluada			DE objetivo		DE obtenido		Fuente DE		

Lote de reactivo 1	Caducidad		Lote de reactivo 1	Caducidad		N° de curvas de calibración	
Lote de reactivo 3	Caducidad		Lote de reactivo 3	Caducidad		N° de operadores	

DÍA	Fecha	Corrida 1			Corrida 2						
		Resultado 1	Resultado 2	Media	Resultado 1	Resultado 1	Media				
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
n											

Valores atípicos detectados			Media		DE preliminar					
Sr			Sr		A					
CVr			CVr		B					

EVALUACIÓN DE REPETIBILIDAD	EVALUACIÓN PRECISIÓN
DATOS	DATOS
Conclusión	Conclusión

REALIZÓ	REVISÓ	APROBÓ
PUESTO	PUESTO	PUESTO

Figura 15. Registro y documentación de la verificación de métodos analíticos (Modificado de Consultoría de Calidad Analítica, 2018). El registro debe contener como mínimo: Personal que participará del estudio (quien: procesa, revisa los resultados y aprueba el informe). Equipo (modelo, serie, ubicación y código). Analito (unidades). Reactivo (marca, lote y fecha de vencimiento). Control (tipo, marca, lote, fecha de vencimiento y n° de niveles). Especificaciones de calidad (fuente y %).

3.7.6. ¿Por qué es importante verificar un método?

El laboratorio clínico ante la alta demanda de la realización de exámenes clínicos ha tenido la necesidad de evaluar el desempeño analítico de los diferentes métodos dentro de las distintas áreas con que cuenta, incrementando también la importancia del SGC.

Establecer el objetivo de la verificación de métodos define el propósito de su aplicación en cualquier laboratorio clínico, que es sin duda determinar la cantidad de error de un método analítico y con ello el cumplimiento de ofrecer un servicio fiable a los médicos y pacientes, garantizando exactitud y confianza en los resultados.

La validación y verificación de métodos son herramientas que proporcionan confianza y seguridad, siendo el principal motivo por el cual más que una exigencia debe ser una razón que provee varios beneficios para el mismo laboratorio clínico (Baptista, 2009).



Figura 16. Esquema que define el objetivo de la evaluación de un método de medida (Westgard, 2013). En el laboratorio clínico diariamente se realizan mediciones las cuales conllevan algún tipo de error (aleatorio/sistemático), evaluar un procedimiento de medida implica conocer el error, empleando herramientas estadísticas (protocolos) para cuantificar los errores. La magnitud obtenida se compara con las especificaciones de desempeño declaradas por los fabricantes o se compara la magnitud de los diferentes tipos de errores con un requisito de calidad establecido (validación del procedimiento de medición) (Westgard, 2013).

En resumen, la verificación de un método es importante para asegurar la calidad y confiabilidad de los resultados, cumplir con estándares y atenuar, identificar y eliminar errores sistemáticos, así como realizar ajustes para reducir errores aleatorios.

También permite validar la idoneidad del método y mejorar la confianza de los médicos y pacientes en los resultados del laboratorio clínico.

Los laboratorios deben tener claro cuándo corresponde validar o verificar un método. Aunque en la mayoría de los casos se requiera de una verificación, se recomienda que terminada la verificación el laboratorio integre información para estimar el error total del procedimiento de medida y evaluar si el desempeño es aceptable de acuerdo con el requisito de la calidad seleccionado en concordancia al uso previsto del procedimiento de medida.

Asimismo se puede utilizar la métrica sigma para evaluar el rendimiento del procedimiento de medición después de completar la verificación. Es fundamental que, una vez realizada la verificación, se realice un seguimiento continuo a través de programas internos y externos de control de calidad (Westgard, 2003; Eurachem, 2016).

4. Discusión

De acuerdo con Pasquel (2018), hasta el año 2017 México era el tercer país con mayor número de laboratorios acreditados en América Latina, solo con el 0.92% de laboratorios acreditados bajo la norma NMX-EC15189-IMNC-2015/ISO15189:2012. Esta baja cifra explica por qué la validación y verificación de ensayos no es una práctica común en el país.

Fue con la llegada de la norma ISO 15189, que estos procedimientos se convirtieron en un requisito de aplicación voluntaria para aquellos laboratorios que desean una acreditación. Sin embargo, debido a que tiene un costo razonable no ha sido adoptado por muchos laboratorios.

Hasta finales del año 2020, únicamente 151 laboratorios de los más de 12, 000 existentes en toda la región se encontraban acreditados por la *ema*. Esto significa que hasta la actualidad solo unos pocos cientos de laboratorios están involucrados en el proceso de validar o verificar sus métodos de rutina.

Tanto la validación como la verificación de métodos son herramientas que forman parte de la gestión del proceso del SGC y su implementación en los laboratorios clínicos, aunque ha sido paulatina es necesaria para establecer expectativas realistas con el analista y confianza con el usuario de que se conoce el método utilizado en cada medición y es adecuado para el fin previsto.

Aunque el número de laboratorios acreditados es relativamente bajo en comparación con el total de laboratorios existentes, la implementación de la validación y verificación de métodos está en crecimiento. En México, se han realizado esfuerzos significativos para promover su implementación, por medio de acciones tomadas que incluyen normativa y regulaciones, así como capacitación y difusión.

La validación de métodos es el proceso inicial, donde el fabricante tiene la obligación de aportar evidencia acerca de sistema analítico, comúnmente se evalúan características de desempeño como: linealidad, precisión, veracidad, límite de detección, selectividad, sensibilidad analítica, intervalo de trabajo, especificidad analítica e incertidumbre, mientras que la verificación es realizada por el laboratorio

clínico y tiene como fin confirmar los datos obtenidos por el fabricante, demostrando que se cumplen con los requisitos para el uso previsto. Las características de desempeño generalmente evaluadas son: linealidad, precisión, veracidad, incertidumbre, de ser requerido también se puede evaluar el límite de detección así como los intervalos de trabajo.

La creciente tecnología también ha formado parte del avance en el laboratorio clínico, la llegada de sistemas automatizados genera cambios importantes, lo que antes se evaluaba como un método analítico hoy se desarrolla como sistema analítico, aunque para su estudio se siga manejando el primer término.

Aunque generalmente la validación se realiza por parte del fabricante, el usuario final (en este caso el laboratorio clínico) debe tener en cuenta las operaciones bajo las cuales se debe verificar o en casos muy específicos validar un método.

Gestionar todas las consideraciones previas y subsecuentes a la verificación también se vuelve un deber de cada laboratorio. Esto incluye la planeación, ejecución, verificación de resultados, registro y monitoreo. El correcto desempeño de estas actividades es fundamental para lograr el objetivo de la verificación, que es reducir los posibles errores analíticos, preanalíticos y postanalíticos, ya que aunque puedan parecer pequeños representan fuentes de error capaces de modificar los resultados buscados.

Con la entrada en vigor del PROY-NOM-007-SSA3-2017, cada laboratorio clínico en México ya sea público o privado y de cualquier dimensión, se enfrenta a la necesidad de adaptarse y establecer los protocolos para cumplir con los cambios en la normativa establecida. Entre estos cambios se encuentra la obligación de que el laboratorio deber verificar los resultados emitidos por el fabricante, o en su caso hacer una validación.

Conocer las consideraciones generales, procedimientos, tipos de muestra, duración del estudio, análisis gráfico y estadístico, criterios de aceptabilidad o aspectos críticos de cada uno de los proceso son necesarios para elegir de entre las numerosas guías aceptadas para la verificación y seleccionar así la que más convenga y permita cumplir los objetivos específicos de cada establecimiento.

Organismos nacionales como la *ema*, han puesto a disponibilidad guías gratuitas con protocolos específicos para la verificación de métodos. Estas guías proporcionan un marco de referencia confiable y accesible para los laboratorios.

Además, organismos internacionales como el CLSI proponen protocolos que pueden ser de gran utilidad. Sin embargo es importante tener en cuenta que tienen un costo asociado de aproximadamente 200 dólares por guía.

Las guías de CLSI, a pesar de su costo elevado, ofrecen un procedimiento más riguroso con una duración amplia de estudio, lo que proporciona un análisis estadístico más complejo. Esto permite tener resultados más completos y cercanos a la realidad de cada laboratorio. Sin embargo una desventaja es que debido a su rigurosidad, es necesario el uso *softwares* o programas especializados para obtener los resultados de forma más sencilla y rápida.

Aunque el uso de hojas de cálculo sea posible, existen resultados que para ser precisos y detallados solo se obtienen con programas con un enfoque en análisis estadístico, en este caso especializado en verificación. Estos también suponen un costo.

Por otro lado, la guía establecida en por la *ema* en unión con el CENAM tiene la ventaja de tener procedimientos más sencillos con cálculos fáciles de resolver, así como procedimientos igualmente asequibles para el laboratorio clínico.

Independientemente de la guía seleccionada, es importante tener un conocimiento previo de las características del desempeño del método que se evalúan en la verificación de métodos. También es esencial entender la importancia de este procedimiento como parte del SGC.

Pese a que el uso de programas especializados para la verificación y validación de métodos han facilitado su aplicación, es importante recalcar que muchas veces la falta de conocimiento de estadística básica o aplicada, junto con los costos asociados, principalmente para los laboratorios pequeños, incluyen las razones principales por las que muchos laboratorios aún no se involucran en este tipo de ensayos.

Es primordial fomentar entre el personal de salud la percepción de estas herramientas como parte de protocolos rigurosos pero no necesariamente complicados, siempre y cuando se cuente con información correcta y formación adecuada para su aplicación.

También se vuelve fundamental comprender la importancia de evaluar las características de desempeño de los métodos bajo las condiciones específicas de cada usuario final o laboratorio clínico, teniendo en cuenta los diversos enfoques y metodologías utilizadas.

Conocer el tipo de error (aleatorio/sistemático), empleando herramientas estadísticas para cuantificar estos errores, y comparar esa magnitud con una especificación o requisito de la calidad, es beneficioso no solo para el laboratorio si no para todos los que utilicen sus servicios.

Un claro ejemplo de la evolución continua del SGC, tanto a nivel nacional como global, es la introducción de nuevas ediciones en los protocolos. El CLSI, hasta el año 2021 ha publicado ediciones actualizadas que introducen mejoras importantes para la práctica clínica y el control preciso destinado al laboratorio clínico.

Una de estas ediciones corresponde a la guía EP06, la cual ha experimentado cambios importantes en su segunda edición. Esta recomienda el análisis de regresión de primer orden bajo condiciones apropiadas, para limitar el riesgo de fracaso debido al azar, contrario a lo marcado por la primera edición que requería ajustar los datos, no solo por polinomios de primer orden sino también de segundo y tercer orden (es decir a los modelos lineales, cuadráticos y cúbicos), la segunda edición se basa en criterios estadísticos internos que respaldan el uso del ajuste de primer orden como el más adecuado para el procedimiento de medición lineal.

La exigencia global de mejorar los procesos, especialmente en términos de calidad analítica y el uso de herramientas estadísticas y experimentales para describir el desempeño de manera cuantitativa, ha tenido un avance significativo en México. La presión de gestionar a la calidad al menor costo posible ha llevado al desarrollo de documentos simples para su aplicación en cualquier laboratorio, pero suficientemente rigurosos como para brindar conclusiones estadísticamente válidas.

Las guías de CLSI, descritas con anterioridad son aptas para aplicarse en el proceso de verificación. Su implementación en los laboratorios clínicos de todo el país permitirá a cada laboratorio evaluar la situación actual de sus métodos y tomar medidas correctivas para mejorar no solo la calidad analítica, sino también todo el SGC.

Las especificaciones de desempeño deber ser planteadas de tal manera que cumplan por completo con el uso previsto del procedimiento de examen, el término “uso previsto” está vinculado a la calidad requerida para la aplicación clínica prevista de la prueba de laboratorio clínico, igualmente aplica al diseño del procedimiento de control estadístico interno de la calidad, en especial cuando se menciona verificar la calidad prevista de los resultados.

Por último es importante destacar la importancia de la verificación como parte del proceso de mejora continua en el laboratorio, donde los resultados y hallazgos obtenidos pueden utilizarse para identificar áreas de mejora, implementar acciones correctivas y preventivas, y optimizar el desempeño del método analítico.

Aunque en este documento se ha descrito el procedimiento de verificación de procedimientos de examen para métodos cuantitativos, es importante recalcar que es posible verificar determinados parámetros para métodos cualitativos.

5. Conclusiones

- A través de información documentada en diversas fuentes bibliográficas se generó un recurso informativo de los principales protocolos propuesto para la evaluación de las características de desempeño en la verificación de métodos analíticos cuantitativos que permite al lector conocer los aspectos generales, procedimiento, tipos de muestra, duración del estudio, análisis gráfico y/o estadístico, criterios de aceptabilidad o aspectos críticos necesarios a considerar antes y después de cada proceso.
- Se definieron y diferenciaron ambas herramientas estadísticas, estableciendo como la verificación de métodos analíticos cuantitativos secunda a la validación de métodos también conocida como validación mayor, y como ambas son necesarias para establecer y demostrar que un sistema analítico cumple con los requisitos para el uso previsto.
- Acorde a las diferentes referencias se describió como la evaluación de las características de desempeño es de importancia como parte del control o gestión del proceso dentro del SGC, y como representa un punto con distintas actividades y funciones necesarias para garantizar los elementos de salida dentro de un laboratorio clínico.
- Por medio de evidencia documental se establecieron ejemplos de las características de desempeño de: precisión, linealidad, incertidumbre y veracidad, que se evalúan durante la verificación de métodos o validación menor.
- Con la información obtenida se analizó y evidenció como obligatoriedad del ahora PROY-NOM-007-SSA3-2017 repercutirá a pequeños y grandes establecimientos ya que en la actualidad los laboratorios clínicos con conocimiento de la verificación y validación de métodos analíticos cuantitativos son minoría en el país.

6. Ejemplos de verificación de método

6.1. Ejemplo de verificación de la precisión

Se realizaron cinco replicas durante cinco días consecutivos, siendo la muestra de estudio de CI, para glucosa mg/dL con dos niveles de concentración. El procedimiento se basó en la guía EP15-A3 que brinda estimaciones para la verificación de la repetibilidad (S_r) y precisión intermedia (S_i). Los datos del inserto del fabricante para precisión son: CV_R : 1.94% y CV_{WL} : 2.35%.

*Para fines prácticos solo se realizó el ejercicio para un nivel de concentración.

Número de repicados: 5					
Número de días: 5					
Día	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Rep. 1	139	138	144	143	141
Rep. 2	140	137	144	143	143
Rep. 3	140	137	144	142	141
Rep. 4	141	138	143	142	140
Rep. 5	140	139	144	142	140

Con los datos obtenidos, se procede a realizar los cálculos de las diferentes operaciones para verificar la precisión.

- 1) Calcular el número total de datos, la media, desviación estándar y coeficiente de variación del conjunto de datos obtenidos, con las funciones, CONTAR, PROMEDIO, DESVEST y DS/media, respectivamente.

14	n° de datos	25	=CONTAR(B7:F11)	
15	Media	141	=PROMEDIO(B7:F11)	
16	D.S	2.10	=DESVEST(B7:F11)	
17	CV	0.015	=B16/B15	

- 2) Realizar el análisis de valores atípicos estableciendo los límites de Grubb para los datos obtenidos.

$$\text{Limite de Grubb} = \bar{x} \pm (\text{Factor de Grubb} * SD)$$

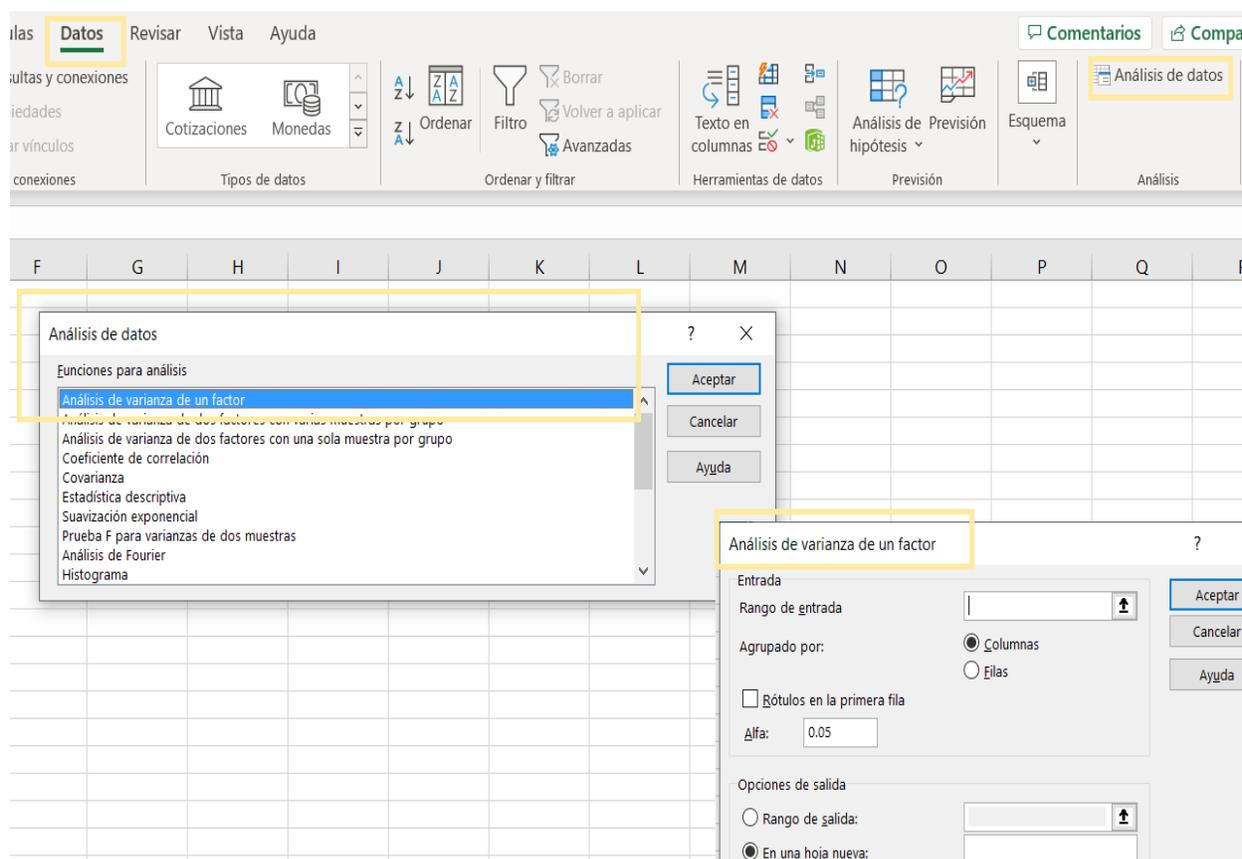
El factor de Grubb es tomado de tablas detalladas en la guía del CLSI, siendo los límites calculados como:

$$\text{Limite superior} = 141 + (3.135 * 2.10) = 147.58$$

$$\text{Limite inferior} = 141 - (3.135 * 2.10) = 134.41$$

Obtenidos los límites se eliminan los valores que no se encuentran dentro de los mismos, registrando el número de valores excluidos.

- 3) Obtener el análisis ANOVA, (la función “Herramientas para el análisis” debe estar habilitada), en la pestaña “Datos” de la barra de herramientas, selecciona “Análisis de datos” y seguido “Análisis de varianza de un factor” para continuar con la selección de datos en el “rango de entrada”.



Se debe tener cuidado en elegir “rótulos en primer fila”, si se ha incluido en la selección de datos los títulos. En la sección “agrupado por” es necesario seleccionar “columnas”, que compara una columna con otra. Elegir el nivel de confianza (95%), con un alfa de 0.5, finalmente elegir la opción que mejor convenga en la opción de salida.

	A	B	C	D	E	F	G
1	Análisis de varianza de un factor						
2							
3	RESUMEN						
4	<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>		
5	Columna 1	5	701	140.2	0.7		
6	Columna 2	5	689	137.8	0.7		
7	Columna 3	5	716	143.2	0.7		
8	Columna 4	5	711	142.2	0.7		
9	Columna 5	5	708	141.6	1.8		
10							
11							
12	ANÁLISIS DE VARIANZA						
13	<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
14	Entre grupos	87.6	4	21.9	23.8043478	2.301E-07	2.8660814
15	Dentro de los	18.4	20	0.92			
16							
17	Total	106	24				
18							

Los datos necesarios para los siguientes cálculos representan MS_1 y MS_2 , el promedios de los cuadrados, donde MS_1 es la corrida entre grupos y MS_2 la corrida dentro de los grupos.

- 6) Con los datos obtenidos de la tabla ANOVA, calcular la varianza entre corridas e intracorrida. Dado que MS_1 mayor que MS_2 , entonces:

$$V_B = \frac{21.9 - 0.92}{5} = 4.20$$

$$V_W = 0.92$$

- 5) Calcular la desviación estándar, de acuerdo con las fórmulas establecidas.

$$S_R = \sqrt{0.92} = 0.96$$

$$S_B = \sqrt{4.20} = 2.05$$

$$S_{WL} = \sqrt{0.92 + 4.20} = 2.26$$

- 6) Calcular los coeficientes de variación y comparar los resultados de CV_R y CV_{WL} obtenidos contra las especificaciones del fabricante.

$$CV_R = \frac{0.96}{141} = 0.68$$

$$CV_{WL} = \frac{2.26}{141} = 1.60$$

De acuerdo con los datos de la validación del reactivo y el criterio de aceptación que indica que la verificación es aceptada si, $CV_R \text{ laboratorio} \leq CV_{WL} \text{ fabricante}$.

Control	CV _R fabricante	CV _R laboratorio	Verificación
Nivel 1	1.94%	0.68%	Aceptada
Control	CV _{WL} fabricante	CV _{WL} laboratorio	Verificación
Nivel 1	2.35%	1.60%	Aceptada

Si no se aprobó la verificación del fabricante, calcular los límites superiores de verificación UVL.

Aunque ambas verificaciones hayan sido aceptadas en el ejemplo, con fines ilustrativos se calculará los valores de UVL.

Para repetibilidad

- 1) Determinar los grados de libertad para repetibilidad:

$$df_R = 25 - 5 = 20$$

- 2) Determinar el factor F, a partir de la tabla, del anexo 2, donde el valor es 1.31 para 20 grados de libertad y 2 números de controles.

- 3) Calcular el valor superior de verificación para repetibilidad:

$$UVL_{repetibilidad} = 1.31 * 1.94 = 2.54$$

Para precisión intralaboratorio

- 4) Calcular los grados de libertad para precisión intralaboratorio, calculando el valor p.

$$p = \frac{2.35}{1.94} = 1.21$$

El valor de p se interpola en la tabla del anexo 3, donde el valor resultante es 15.

- 5) Determinar el factor F, a partir de la tabla del anexo 3, interpolando los grados de libertad obtenidos y el número de controles o muestras, el factor resultante es 1.35.
- 6) Calcular el valor superior de verificación para precisión intralaboratorio:

$$UVL_{\text{precisión intralaboratorio}} = 1.35 * 2.35 = 3.17$$

- 7) Comparar los CV del fabricante frente a los UVL.

Control	CV _R fabricante	CV _R calculado	Verificación
Nivel 1	1.94%	2.54%	Aceptada
Control	CV _{WL} fabricante	CV _{WL} calculado	Verificación
Nivel 1	2.35%	3.17%	Aceptada

- 8) Comparar los datos de CV_R y CV_{WL} obtenidos durante el protocolo, contra los requisitos de calidad determinados por el laboratorio.

En este ejemplo el laboratorio ha definido para glucosa requisitos de calidad establecidos por CLIA.

Routine Chemistry	
Glucose	Target value ± 6 mg/dL or ± 10% (greater)

Error total aceptable (TEa) = 6 mg/dL ó 10%
 Requisito para Repetibilidad = 1,5 mg/dL ó 2,5%
 Requisito para precisión intralaboratorio= 2 mg/dL ó 3,3%

Control	CV _R fabricante	CV _R calculado	Verificación
Nivel 1	1.94%	2.5%	Aceptada
Control	CV _{WL} fabricante	CV _{WL} calculado	Verificación
Nivel 1	2.35%	3.3%	Aceptada

6.2. Ejemplo de verificación de la linealidad

Se realizaron mediciones para la verificación de la linealidad de un método analítico que mide calcio en orina, las mediciones se corrieron por duplicado en 6 niveles de concentraciones equidistantes, con un requisito de calidad de 0.20mg/dL para repetibilidad y no linealidad. El laboratorio realiza los análisis en orden aleatorio en una sola corrida.

El ejemplo se tomó de la guía EP6-A, del CLSI.

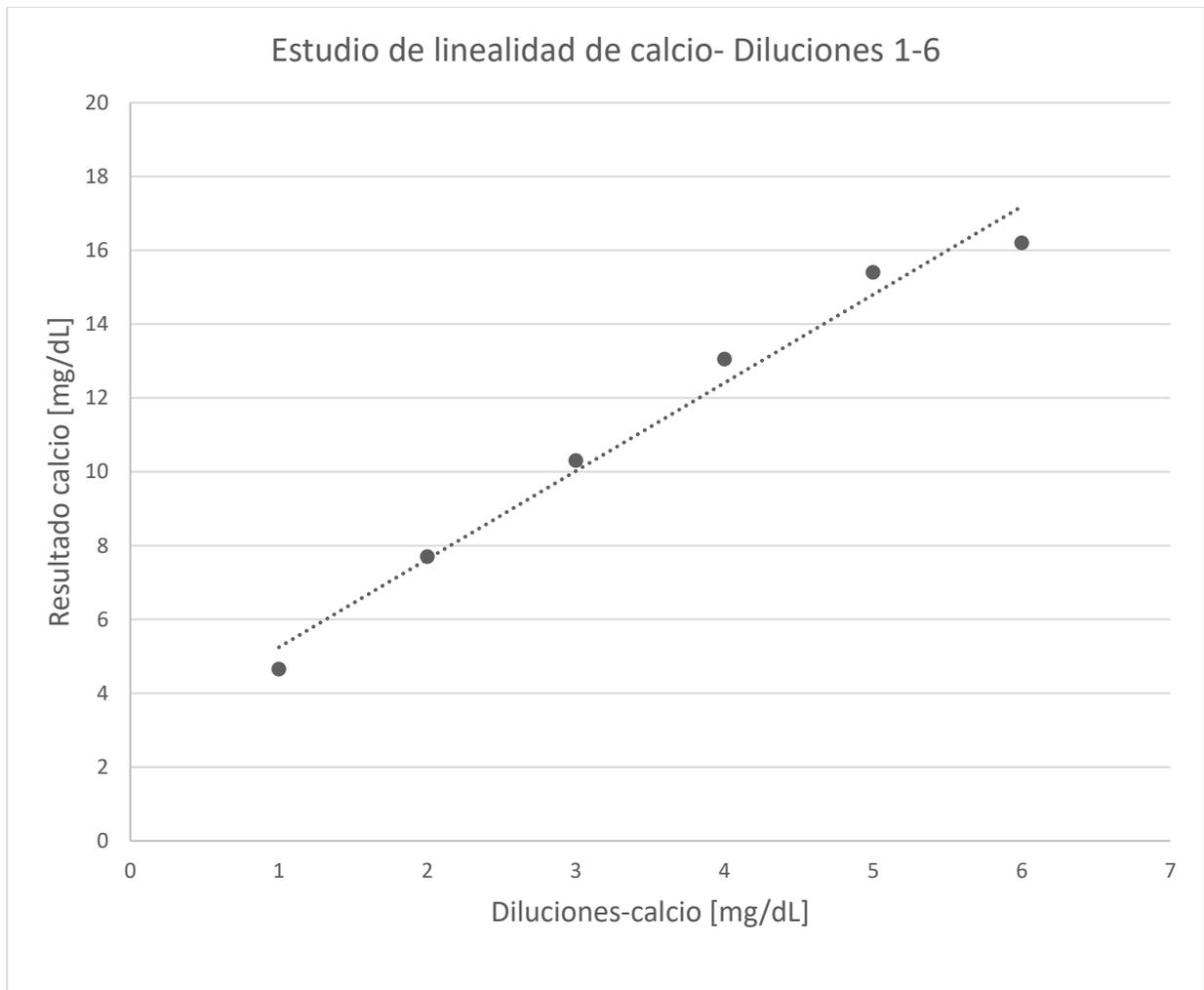
Número de diluciones: 6

Dilución (x)	Replicado	Replicado	Media (y)
1	4.7	4.6	4.65
2	7.8	7.6	7.7
3	10.4	10.2	10.3
4	13	13.1	13.05
5	15.5	15.3	15.4
6	16.3	16.1	16.2

* Para el ejemplo de linealidad, se propone utilizar RStudio, que es un entorno de desarrollo integrado (IDE) para el lenguaje de programación R, dedicado a la computación estadística y gráficos, que se encuentra como *software* libre. Hay que tener en cuenta que con el uso de este programa pueden variar algunos datos, como se explica más adelante.

** El análisis de ciertos datos también se desarrollaron con Excel como se puede observar a continuación.

El examen preliminar permite observar a través de la gráfica de resultados que no existen valores atípicos aparentes, aunque visualmente el último punto está alejado de la línea de tendencia a comparación de las cinco diluciones anteriores. La prueba de Grubb arroja un límite de -0.14 a 22.6 mg/dL, por lo que se corrobora la ausencia de valores aberrantes.



Como se considera la evaluación de la linealidad obviando la contribución del error aleatorio, y para el ejemplo dado no existe una aparente verificación de la precisión, se evalúa la repetibilidad con las diferencias agrupadas de las repeticiones.

Dilución	Media	D	D/2 ²	CV%
1	4.65	0.1	0.005	2.6
2	7.7	0.2	0.02	1.6
3	10.3	0.2	0.02	1.2
4	13.05	-0.1	0.005	0.9
5	15.4	0.2	0.02	0.8
6	16.2	0.2	0.02	0.7
Σ		0.8	0.07	
Promedio			0.015	

- 1) Calcular la SD para las diferencias agrupadas (D) con la función DESVEST, o con la función RAIZ, del promedio de $D/2^2$.

$$SD = \sqrt{0.015} = 0.12$$

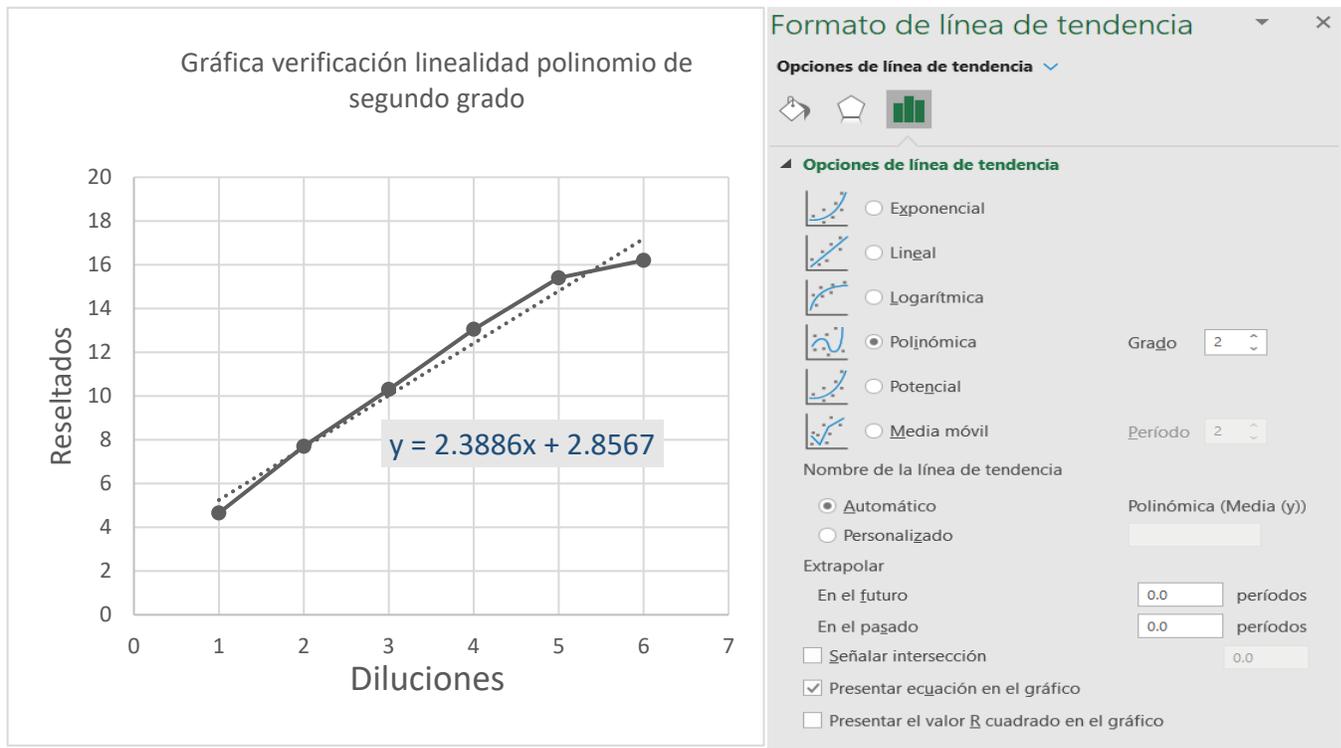
La SD de las diferencias agrupadas es igual a 0.12, con rangos desde 0.7% a 2.6% que parecen ser constantes a través de los niveles. La DE o SD es menor al requisito de calidad de 0.20 mg/dL. Una vez realizado el análisis preliminar de datos, descartando valores atípicos se debe realizar el análisis de la regresión polinomial para los polinomios de primero, segundo y tercer orden.

La siguiente tabla facilita el registro de datos necesarios para la evaluación.

Orden	Símbolo del coeficiente	Valor del coeficiente	SE de coeficiente	Prueba t	Error estándar de Regresión	Grados de libertad
Primero	b ₀	2.86	0.44	6.5		
Primero	b ₁	2.39	0.11	21.2	0.667	10
Segundo	b ₀	0.82	0.4	2.1		
Segundo	b ₁	3.93	0.26	15.2		
Segundo	b ₂	-0.22	0.04	-6	0.313	9
Tercero	b ₀	2.48	0.05	4.9		
Tercero	b ₁	1.82	0.57	3.2		
Tercero	b ₂	0.48	0.18	2.6		
Tercero	b ₃	-0.07	0.02	-3.8	0.197	8

Para obtener los parámetros que nos permiten verificar la linealidad se necesita realizar los siguientes cálculos:

1. Calcular el valor de cada coeficiente para cada uno de los tres polinomios. Al agregar la línea de tendencia en una gráfica Excel proporciona el “Formato de línea de tendencia”, donde se generan la pestaña de *opciones de línea de tendencia*, y la opción de *“Presentar ecuación en el gráfico”*.



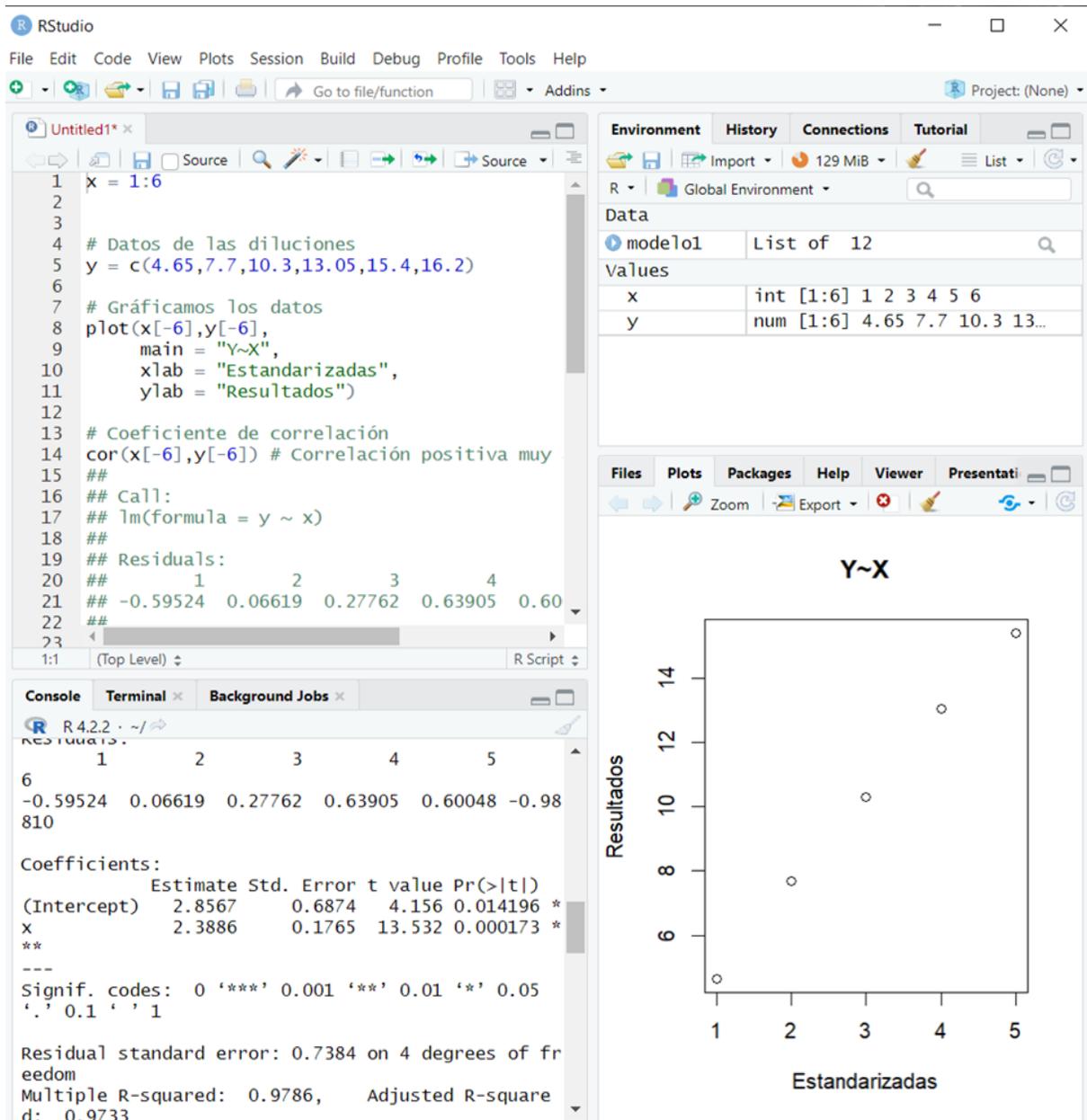
Excel permite construir una gráfica de dispersión XY (imagen izquierda), con los puntos correspondientes a los datos obtenidos; la ecuación con los valores de cada coeficiente se obtiene seleccionando los puntos de la gráfica y pulsando clic derecho sobre estos, automáticamente una pestaña aparecerá con la opción de “Agregar línea de tendencia” y al costado derecho el menú denominado “Formato de línea de tendencia” (imagen derecha), con la opción de tendencia Lineal y Polinómica, que son las necesarias dentro de la guía EP06; además en las opciones está el grado de polinomio que se desea obtener. Por último en la parte inferior del menú, se proporciona la opción de marcar “Presentar ecuación del gráfico”, además de otras opciones con información del gráfico, así como opciones de edición de diseño.

El paso descrito anteriormente se repite para obtener el valor de los coeficientes de 1°, 2° y 3° orden. Los valores se observan en la tercer columna de la tabla etiquetado como: **Valor del coeficiente**.

2. Calcular el SE_i de cada coeficiente.

Para la verificación, el cálculo de SE_i necesita un *software* o programa estadístico específico con esta función.

El programa RStudio se propone únicamente por ser un *software* gratuito y al alcance de todos quienes puedan descargarlo.



*Cabe resaltar que los valores obtenidos por el *software* R no son idénticos a los obtenidos en el ejemplo de la guía EP6-A, debido principalmente al cálculo de los grados de libertad (df). El cálculo que menciona la guía es específico de un contexto particular, donde se utiliza para calcular los grados de libertad en un análisis de regresión, a comparación del *software* R, que no es especializado en este contexto.

Sin embargo los resultados permiten llegar a la misma conclusión expuesta por la guía. Para evitar confusiones se trabajó con los valores ya establecidos en el ejemplo de la guía de CLSI.

3. Calcular la t, mediante la prueba o test t, los dos primeros coeficientes (b_0 y b_1), con la fórmula para t, no se prueban porque no reflejan la no linealidad, la prueba se calcula para b_2 y b_3 .

$$t = \frac{b_i}{SE_i} = \frac{2.86}{0.44} = 6.5$$

Repetir la fórmula para cada coeficiente, en Excel es posible realizar el cálculo con la función, dividir. Los valores se observan en la quinta columna etiquetada como:

Prueba t.

La prueba t se realiza para probar la significancia estadística de los coeficientes no lineales, se compara el valor absoluto de la prueba con el valor crítico de t (este último se obtiene con ayuda de la tabla t para linealidad encontrada en el anexo 3 o por medio de un *software* estadístico).

Los valores de t crítica obtenidos son: 2.306 para 8 grados de libertad, 2.62 para 9 grados de libertad y 2.28 para 10 grados de libertad.

Los resultados indican que los coeficientes no lineales b_2 y b_3 son estadísticamente significativos, lo que sugiere que hay una relación estadísticamente significativa entre los coeficientes no lineales y la variable de respuesta en el modelo de regresión:

Si el valor de la prueba t es menor que el valor crítico, no se rechaza la hipótesis nula y concluye que no hay efectos no lineales significativos en el modelo, es decir si alguno de los coeficientes no lineales b_2 o b_3 , son significativos ($p > 0.05$) los valores son considerados lineales y el análisis está completo.

En cambio si el valor de la prueba t es mayor que el valor crítico, rechaza la hipótesis nula y concluye que hay efectos no lineales significativos en el modelo, es decir si alguno de los coeficientes b_2 , en el modelo de segundo orden; o b_2 y b_3 , en el modelo de tercer orden son significativos ($p < 0.05$) los datos obtenidos son no lineales bajo este protocolo.

Para el ejemplo se cumple que $p < 0.05$, por lo que se debe comparar que modelo (2° o 3°) es mejor para el caso en particular.

Si se comprueba que el método no es lineal, se evalúa el polinomio (de segundo o tercer orden) que mejor se ajuste a los datos obtenidos, con los siguientes cálculos:

4. Estimar el error estándar de regresión para todos los polinomios, el polinomio con el menor valor de error indica un mejor ajuste.

El análisis de regresión muestra que el término no lineal en el modelo de segundo orden es muy significativo, pero los coeficientes no lineales de tercer orden también lo son: $t = 2.6$ y -3.8 .

Estas estadísticas superan el criterio de 2.306 para 8 grados de libertad. El modelo de tercer orden también tiene un error estándar mucho más bajo, lo que indica un mejor ajuste que los modelos de segundo o primer orden.

*Los grados de libertad para el cálculo t , se determinan con la siguiente fórmula:

$$df = L \cdot R - Rdf$$

5. Obtener la diferencia DLi entre el polinomio de mejor ajuste y el polinomio lineal en cada nivel de concentración.

Media (y)	Predicción de 1° orden	Predicción de 2° orden	Diferencia	Diferencia %
4.65	5.25	4.71	-0.54	-11.6
7.7	7.63	7.5	-0.13	-1.7
10.3	10.02	10.45	0.43	4.2
13.05	12.41	13.15	0.74	5.7
15.4	14.8	15.22	0.42	2.7
16.2	17.19	16.26	-0.93	-5.7

* Los modelos de primer y tercer orden se resuelven para las concentraciones 1-6. Las diferencias van desde 0.9 a 0.1 o 12% a 0.5%. Cinco puntos tienen diferencias que superan el criterio del laboratorio para el error no lineal, 0.20 mg/dL.

Se decide eliminar el último punto. Si los otros cinco puntos son aceptablemente lineales, entonces el método tiene un rango de alrededor de 4.5 a 15 que se adapta a las necesidades del laboratorio.

El análisis revisado se muestra en la siguiente tabla.

Símbolo del coeficiente	Valor del coeficiente	SE de coeficiente	Prueba t	Grados de libertad	Error estándar de regresión
b ₀	2.16	0.15	14.3		
b ₁	2.68	0.05	59.0	0.204	8
b ₀	1.54	0.19	8.2		
b ₁	3.22	0.14	22.4		
b ₂	-0.09	0.02	-3.8	0.124	7
b ₀	1.47	0.47	3.15		
b ₁	3.32	0.61	5.45		
b ₂	-0.13	0.23	-0.56		
b ₃	0.004	0.02	0.17	0.134	6

En el análisis revisado, el término de segundo orden en el polinomio de segundo grado es significativo: $t = -3.8$ excede el valor crítico de 2.365 para 7 grados de libertad y los términos no lineales en el modelo de tercer orden no son significativos.

Los errores estándar también muestran que el modelo de segundo orden se ajusta mejor que los modelos de primer o tercer orden.

Las diferencias en los valores pronosticados entre los modelos de primer y segundo orden se muestran en la última tabla. Ninguna de estas diferencias supera el criterio de laboratorio de 0.2 mg/dL, por lo que el método es aceptablemente lineal en el rango limitado.

Media (y)	Predicción de 1° orden	Predicción de 2° orden	Diferencia	Diferencia %
4.65	4.85	4.67	-0.18	-3.7
7.7	7.54	7.62	0.08	1.1
10.3	10.22	10.4	0.18	1.8
13.05	12.9	12.99	0.09	0.7
15.4	15.59	15.41	-0.18	-1.2

En este caso particular, la ejecución de un número de corridas mayor a 5 (que son las mínimas aceptadas), permite la eliminación de un punto, la nueva ejecución del análisis estadístico muestra una respuesta no lineal, pero las diferencias son menores que el criterio de laboratorio. Se supone que el método es aceptablemente lineal en el rango reducido.

6.3. Ejemplo de verificación de la veracidad

Se realizaron mediciones por quintuplicado durante cinco días consecutivos de tres materiales de control para glucosa, con un total de 25 datos. La material proviene del CCE: Ensayos de aptitud EQA/PT, con 2 niveles de decisión médica, el primer nivel tiene una concentración de 82 mg/dL, 0.25 DS_{gp} (desviación estándar del grupo de comparación) y 22 laboratorios con participación, información que se obtiene del reporte de CCE. Los valores de la verificación precisión para los cálculos correspondientes son los siguientes S_{WL}:1.89, S_R:1.69, nRun: 5 y nRep:5.

Número de repicados: 5

Número de días: 5

Día	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Rep. 5
Día 1	85	84	83	84	82
Día 2	83	84	80	81	81
Día 3	83	78	81	82	80
Día 4	83	80	81	79	81
Día 5	80	83	82	84	79

Identificados todos la valores necesarios para las diferentes fórmulas utilizadas en la verificación de la veracidad se procede a calcular cada parámetro.

1. Calcular de la media (Celda B14) y desviación estándar (DS) (Celda B15) de los datos obtenidos, con la función PROMEDIO, y DESVEST respectivamente.
2. Calcular el error estándar de la media $Se_{\bar{x}}$, (Celda B16), con la función RAIZ de $(1/nRun)$ multiplicado por S_{WL} elevado al cuadrado ^2, menos nRep-1/nRep, multiplicado por S_R al cuadrado.
3. Calcular el error estándar asociado al valor VT Se_{RM} (Celda B17), de acuerdo con el material utilizado se divide el DS_{gp} entre la RAIZ de la cantidad de laboratorios de grupo.
4. Estimar el error estándar combinado Se_C (Celda B18), con la función RAIZ de $Se_{\bar{x}}$ (Celda B16) elevado al cuadrado con la función ^2, sumado al valor de Se_{RM} (Celda B17) también elevado al cuadrado.

5. Calcular el valor tau (Celda B19), dividiendo Se_{RM} (Celda B17) entre $Se_{\bar{x}}$ (Celda B16).
6. Estimar los grados de libertad combinados dfc (Celda 20), con ayuda de la tabla del anexo 5, hallando el valor más cercano de grados de libertad de acuerdo con el valor tau obtenido.
7. Calcular la probabilidad (Celda B21) de acuerdo con el número de niveles, con funciones básicas: $1-0.025/2$ para el caso de glucosa.
8. Calcular el intervalo de verificación de VT; el valor t (Celda B25) se obtiene con la función INV.T, la PROBABILIDAD (Celda B21), una coma y los grados de libertad combinados (Celda B20). El intervalo superior (Celda B28) es la suma del VT o valor asignado (Celda B24) más el valor t (Celda B25), multiplicado por Se_c (Celda B26), el intervalo superior (Celda B29) es la resta del VT (Celda B24) menos el valor t (Celda B25), multiplicado por Se_c (Celda B26).

	A	B	C	D	E	F
6	Día	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Rep. 5
7	Día 1	85	84	83	84	82
8	Día 2	83	84	80	81	81
9	Día 3	83	78	81	82	80
10	Día 4	83	80	81	79	81
11	Día 5	80	83	82	84	79
12						
13	No. De datos	25				
14	Media	81.720	=PROMEDIO(B7:F11)			
15	DS	1.860	=DESVESTA(B7:F11)			
16	Error estándar de la media $Se_{\bar{x}}$	0.507	=RAIZ((1/5)*(1.89^2-(((5-1)/5*1.69^2))))			
17	Error estándar asociado al valor VT Se_{RM}	0.053	=0.25/RAIZ(22)			
18	Error estándar combinado Se_c	0.510	=RAIZ(B16^2+B17^2)			
19	Tau	0.105	=B17/B16			
20	Grados de libertad combinados dfc	5	Valor obtenido de tablas			
21	Probabilidad	0.9875				
22						
23	Intervalo de verificación 95%					
24	Valor asignado	82				
25	Valor t	3.163	=INV.T(B21,B20)			
26	Se_c	0.510				
27						
28	IV superior	83.614	=B24+B25*B26			
29	IV inferior	80.386	=B24-B25*B26			

Una vez obtenido el intervalo se puede analizar que la media o promedio de los datos analizados, 81.72 mg/dL, entra en el intervalo de VT, que se encuentra entre 83.61 mg/dL y 80.39 mg/dL por lo que la verificación de la veracidad se da por aceptada.

La estimación de la veracidad desde el punto de vista clínico requiere de un requisito de calidad.

32	IV 95%/2 (incertidumbre combinada expandida)	1.61	$=(B28-B29)/2$
33	Requisito: Fuente CLIA: 10%	8.2	$=82*10\%$
34	ESa(c)	4.1	$=B33/2$
35	Sesgo(c)	-0.28	$=B14-B24$

1. Calcular la incertidumbre combinada expandida, IV 95%/2, que es la resta IV superior (Celda 28) menos el IV inferior (Celda B29) entre dos.
2. De ser necesario se convierte TEa a unidades de concentración, multiplicando el VT por el requisito de calidad que es de 10%, para el ejemplo.
3. Calcular el ESa_c, dividiendo TEa (Celda B33) entre dos.

Para determinar si el experimento detecta o no un sesgo clínicamente significativo, se debe comparar el ESa_c, con la incertidumbre combinada expandida; si esta última < ESa_c, se detecta un sesgo clínicamente significativo, si el valor es > ESa_c, no se detecta un sesgo clínicamente significativo.

Para el ejemplo $1.61 < 4.1$, por lo tanto se detecta un sesgo clínicamente significativo. Y se debe evaluar el Sesgo_c.

ESa_c		Incertidumbre combinada expandida (IV 95%/2)
4.1	>	1.61

4. Calcular el sesgo combinado, Sesgo_c, restando la media del laboratorio (Celda B14) menos el VT (Celda B24).

Si el Sesgo_c, es < ESa_c, el sesgo del experimento es clínicamente no significativo, si Sesgo_c > ESa_c, el sesgo es clínicamente significativo.

Para el ejemplo $-0.28 < 4.1$, entonces el sesgo es clínicamente NO significativo, siendo aceptada la verificación de la veracidad, clínica y estadísticamente.

ESa_c		Sesgo_c
4.1	>	-0.28

6.4. Ejemplo de verificación de la incertidumbre

Definición del mensurando: Hemoglobina-colorimétrico (Lauril Sulfato de Sodio, g/dL).

La determinación de la precisión y el sesgo se obtuvieron de acuerdo con la guía CLSI EP15-A3. El ejemplo se obtuvo de la directriz del INACAL.

Número de replicados: 5
Número de días o corridas: 5

Material CCI	Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3	Corrida 4	Corrida 5
Replicado 1	12.3	12.2	12.3	12.4	12.2
Replicado 2	12.4	12.3	12.4	12.3	12.3
Replicado 3	12.5	12.3	12.3	12.5	12.3
Replicado 4	12.3	12.4	12.6	12.4	12.4
Replicado 5	12.4	12.3	12.4	12.3	12.3
Sumatoria	61.9	61.5	62	61.9	61.5
Promedio	12.38	12.3	12.4	12.38	12.3
Varianza	0.007	0.005	0.015	0.007	0.005

1. Emplear el análisis ANOVA con un factor, con la función de Excel, Análisis de varianza de un factor para obtener las siguientes tablas:

RESUMEN				
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Columna 1	5	61.9	12.38	0.007
Columna 2	5	61.5	12.3	0.005
Columna 3	5	62	12.4	0.015
Columna 4	5	61.9	12.38	0.007
Columna 5	5	61.5	12.3	0.005

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.0464	4	0.0116	1.49	0.24	2.87
Dentro de los grupos	0.156	20	0.0078			
Total	0.2024	24				

De acuerdo con la nomenclatura CLSI; El promedio de los cuadrados (MS1) entre corridas es MS_{btw} : 0,0116. El promedio de los cuadrados (MS2) dentro de las corridas es MS_{wth} :0,0078 El número de resultados promedio por corrida (n_0) = 5.

2. Estimar la incertidumbre asociada a la media u_x para el nivel 3.

$$U_x = \frac{\sqrt{MS_{bw}}}{n_{total}} = \sqrt{\frac{0.0116}{25}} = 0.022 \text{ g/dL}$$

3. Estimar el componente de la varianza dentro de las corridas (V_w), Nivel 3, dónde $V_w = 0.078$ (varianza de repetibilidad).
4. Estimar el componente de la varianza pura entre corridas (V_B), Nivel 3, dónde:

$MS1 \leq MS2$; entonces $V_B = 0$

$$V_B = \frac{(MS1 - MS2)}{n_0} \quad V_B = \frac{(0,0116 - 0,0078)}{5} = 0.00076$$

5. Estimar el componente asociado a la imprecisión intralaboratorio (S_{WL}).

$$s_{WL} = \sqrt{V_w + V_B}$$

$$S_{WL} = \sqrt{0.0078 + 0.00076} = 0.09 \text{ g/dL}$$

6. Combine componente aleatorio y sistemático (Nivel 3).

$$u_{C(Nivel\ 3)} = \sqrt{(0.09)^2 + (0.022)^2} = 0.09\ g/dL$$

7. Estime incertidumbre expandida unidades (g/dL).

$$U_{(Nivel\ 3)} = 2 * 0.09$$

$$U = 0.18\ g/dL$$

8. Estime incertidumbre expandida en (%).

$$\text{Media}(25\text{réplicas}) = 12.35\text{g/dL}$$

$$U_{(Nivel\ 3)} = \frac{(0.18)}{12.35} * 100 = 1.46\ \%$$

7. ANEXOS

Precisión

Anexo 1. Determinación del factor G, para el cálculo de límites de Grubb.

5 Runs			6 Runs			7 Runs		
N	G	n_0	N	G	n_0	N	G	n_0
23	3.087	4.565	28	3.199	4.643	33	3.286	4.697
24	3.112	4.792	29	3.218	4.828	34	3.301	4.853
25	3.135	5	30	3.236	5	35	3.316	5

G: Factor de Grubb

N: Número de datos recolectados

Anexo 2. Determinación del factor F para el cálculo de UVL utilizando df_R y df_{WL}

Table 7. UVL Factors (F) as a Function of DF and Number of Samples (One to Six) in the Experiment

DF	Number of Samples					
	1	2	3	4	5	6
5	1.49	1.60	1.66	1.71	1.74	1.76
6	1.45	1.55	1.61	1.65	1.67	1.70
7	1.42	1.51	1.56	1.60	1.62	1.65
8	1.39	1.48	1.53	1.56	1.58	1.60
9	1.37	1.45	1.50	1.53	1.55	1.57
10	1.35	1.43	1.47	1.50	1.52	1.54
11	1.34	1.41	1.45	1.48	1.50	1.52
12	1.32	1.39	1.43	1.46	1.48	1.49
13	1.31	1.38	1.42	1.44	1.46	1.47
14	1.30	1.37	1.40	1.42	1.44	1.46
15	1.29	1.35	1.39	1.41	1.43	1.44
16	1.28	1.34	1.38	1.40	1.41	1.43
17	1.27	1.33	1.36	1.39	1.40	1.41
18	1.27	1.32	1.35	1.37	1.39	1.40
19	1.26	1.31	1.34	1.36	1.38	1.39
20	1.25	1.31	1.34	1.36	1.37	1.38
21	1.25	1.30	1.33	1.35	1.36	1.37
22	1.24	1.29	1.32	1.34	1.35	1.36
23	1.24	1.29	1.31	1.33	1.35	1.36
24	1.23	1.28	1.31	1.32	1.34	1.35
25	1.23	1.28	1.30	1.32	1.33	1.34
26	1.22	1.27	1.30	1.31	1.32	1.34
27	1.22	1.26	1.29	1.31	1.32	1.33
28	1.22	1.26	1.28	1.30	1.31	1.32
29	1.21	1.26	1.28	1.30	1.31	1.32
30	1.21	1.25	1.27	1.29	1.30	1.31
31	1.20	1.25	1.27	1.29	1.30	1.31
32	1.20	1.24	1.27	1.28	1.29	1.30
33	1.20	1.24	1.26	1.28	1.29	1.30
34	1.20	1.24	1.26	1.27	1.28	1.29

Abbreviations: DF, degrees of freedom; UVL, upper verification limit.

Anexo 3. Determinación de los grados de libertad para precisión intralaboratorio con valor ρ .

Table 6. df_{WL} as a Function of the Claims Ratio ($\rho = \sigma_{WL} / \sigma_R$), for Five to Seven Runs, Five Replicates per Run

5 Runs		6 Runs		7 Runs	
ρ	df_{WL}	ρ	df_{WL}	ρ	df_{WL}
2.74	5	3.02	6	3.27	7
2.06	6	2.25	7	2.42	8
1.78	7	1.93	8	2.06	9
1.62	8	1.74	9	1.85	10
1.51	9	1.62	10	1.71	11
1.43	10	1.52	11	1.61	12
1.37	11	1.46	12	1.54	13
1.32	12	1.40	13	1.48	14
1.28	13	1.35	14	1.42	15
1.24	14	1.32	15	1.38	16
1.21	15	1.28	16	1.35	17
1.19	16	1.25	17	1.31	18
1.16	17	1.23	18	1.29	19
1.14	18	1.20	19	1.26	20
1.12	19	1.18	20	1.24	21
1.10	20	1.16	21	1.22	22
1.08	21	1.14	22	1.20	23
1.05	22	1.12	23	1.18	24
1.03	23	1.11	24	1.16	25
1.00	24	1.09	25	1.14	26
		1.07	26	1.13	27
		1.05	27	1.11	28
		1.03	28	1.10	29
		1.00	29	1.08	30
				1.07	31
				1.05	32
				1.03	33
				1.00	34

Abbreviations: σ_R , manufacturer's claim for repeatability; σ_{WL} , manufacturer's claim for within-laboratory imprecision; df_{WL} , degrees of freedom for within-laboratory imprecision.

Linealidad

Anexo 3. Determinación de la distribución t de student para linealidad.

DF	.90	.95	.99
6	1.943	2.447	3.707
7	1.895	2.365	3.500
8	1.860	2.306	3.355
9	1.833	2.262	3.250
10	1.812	2.228	3.169
11	1.794	2.201	3.106
12	1.782	2.179	3.054
13	1.771	2.160	3.012
14	1.761	2.145	2.977
15	1.753	2.132	2.947
16	1.746	2.120	2.921
17	1.740	2.110	2.898
18	1.734	2.101	2.878
19	1.729	2.093	2.861
20	1.725	2.086	2.845
21	1.721	2.080	2.831
22	1.717	2.074	2.819
23	1.714	2.069	2.807
24	1.711	2.064	2.797
25	1.708	2.060	2.787
26	1.706	2.056	2.779
27	1.703	2.052	2.771
28	1.701	2.048	2.763
29	1.699	2.045	2.756
30	1.697	2.042	2.750

Anexo 4. Esquemas de disolución.

S=5 samples

- 1: Low (L)
- 2: 0.75L+0.25H
- 3: 0.50L+0.50H
- 4: 0.25L+0.75H
- 5: High (H)

S=6 samples

- 1: Low (L)
- 2: 0.8L+0.2H
- 3: 0.6L+0.4H
- 4: 0.4L+0.6H
- 5: 0.2L+0.8H
- 6: High (H)

S=7 samples

- 1: Low (L)
- 2: 0.833L+0.167H
- 3: 0.667L+0.333H
- 4: 0.500L+0.500H
- 5: 0.333L+0.667H
- 6: 0.167L+0.833H
- 7: High (H)

S=8 samples

- 1: Low (L)
- 2: 0.857L+0.143H
- 3: 0.714L+0.286H
- 4: 0.571L+0.429H
- 5: 0.429L+0.571H
- 6: 0.286L+0.714H
- 7: 0.143L+0.857H
- 8: High (H)

S=9 samples

- 1: Low (L)
- 2: 0.875L+0.125H
- 3: 0.750L+0.250H
- 4: 0.625L+0.375H
- 5: 0.500L+0.500H
- 6: 0.375L+0.625H
- 7: 0.250L+0.750H
- 8: 0.125L+0.875H
- 9: High (H)

S=10 samples

- 1: Low (L)
- 2: 0.889L+0.111H
- 3: 0.778L+0.222H
- 4: 0.667L+0.333H
- 5: 0.556L+0.444H
- 6: 0.444H+0.556H
- 7: 0.333L+0.667H
- 8: 0.222L+0.778H
- 9: 0.111L+0.889H
- 10: High (H)

S=11 samples

- 1: Low (L)
- 2: 0.9L+0.1H
- 3: 0.8L+0.2H
- 4: 0.7L+0.3H
- 5: 0.6L+0.4H
- 6: 0.5L+0.5H
- 7: 0.4H+0.6H
- 8: 0.3L+0.7H
- 9: 0.2L+0.8H
- 10: 0.1L+0.9H
- 11: High (H)

Veracidad

Anexo 5. Determinación los grados de libertad combinados df_c .

Table 15A. df_c for the Combined Standard Error of the Mean and TV as a Function of the Ratio of the Standard Error of the Reference Material to the Standard Error of the Mean ($\tau = se_{RM}/se_{\bar{x}}$), for Five Runs, With Five Replicates per Run, and $N_{RM} = 10, 20, 50, 100,$ and ≥ 200 Laboratories. NOTE: Table 15A is intended for use in Scenarios B (PT) and C (peer group QC) in Section 3.3, when the user's experiment involves five runs.

10 Laboratories		20 Laboratories		50 Laboratories		100 Laboratories		200 Laboratories	
τ	df_c	τ	df_c	τ	df_c	τ	df_c	τ	df_c
0.000	4	0.000	4	0.000	4	0.000	4	0.000	4
0.349	5	0.346	5	0.344	5	0.344	5	0.344	5
0.490	6	0.481	6	0.477	6	0.475	6	0.475	6
0.600	7	0.582	7	0.573	7	0.571	7	0.569	7
0.698	8	0.666	8	0.652	8	0.647	8	0.646	8
0.791	9	0.739	9	0.718	9	0.713	9	0.710	9
0.886	10	0.806	10	0.778	10	0.770	10	0.766	10
0.991	11	0.869	11	0.831	11	0.821	11	0.816	11
1.126	12	0.929	12	0.880	12	0.867	12	0.861	12
1.500	13	0.987	13	0.925	13	0.910	13	0.903	13
2.175	12	1.045	14	0.968	14	0.949	14	0.941	14
2.832	11	1.104	15	1.008	15	0.987	15	0.977	15
4.149	10	1.164	16	1.047	16	1.022	16	1.010	16
		1.227	17	1.084	17	1.055	17	1.042	17
		1.295	18	1.119	18	1.086	18	1.072	18
		1.369	19	1.154	19	1.117	19	1.101	19
		1.455	20	1.188	20	1.146	20	1.128	20
		1.561	21	1.221	21	1.174	21	1.154	21
		1.711	22	1.253	22	1.201	22	1.179	22
		2.179	23	1.285	23	1.227	23	1.203	23
		3.121	22	1.317	24	1.252	24	1.227	24
		4.070	21	1.348	25	1.277	25	1.249	25
		5.990	20	1.379	26	1.301	26	1.271	26
				1.410	27	1.325	27	1.292	27
				1.441	28	1.348	28	1.313	28
				1.472	29	1.370	29	1.333	29
				1.503	30	1.393	30	1.352	30
				1.850	40	1.598	40	1.527	40
				3.500	53	1.985	60	1.808	60
						4.975	103	2.528	120
								7.053	203
infinity	9	infinity	19	infinity	49	infinity	99	infinity	199

Abbreviations: df_c , combined degrees of freedom; PT, proficiency testing; QC, quality control; TV, target value.

8. Referencias

- Arellano, M. (2008). Sistema de Gestión de Calidad para el Laboratorio Clínico de Urgencias del Hospital “Dr. Rafael Lucio” CEMEV. Tesis de Maestría. Universidad de Veracruz. México. pp. 10-29.
- Baptista, HA., et al. (2009). Validación y verificación de métodos de laboratorio aplicados al Banco de Sangre. Rev. Mex Med Tran; (2) 1, pp. 20-29.
- Barraza, F. et al. (2019). Conceptos generales en bioestadística y epidemiología clínica: error aleatorio y error sistemático. Medwave;19(7): e7687.
- Becerra, L. (2010). Verificación del desempeño de instrumento UniCel Dxl 800 para pruebas de Diagnóstico en el Laboratorio Clínico. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. pp. 17-27.
- Bignardi, G. (2017). Validation and verification of automated urine particle analyzers. J Clin Pathol. Pp. 70:94–101. doi:10.1136/jclinpath-2016-203958.
- Bignone, C., et al. (2019) Evaluación del comportamiento en términos de error total y 6 Sigma y estimación de la incertidumbre de medida de 16 magnitudes de bioquímica clínica. Rev. Lab. Clin; 12 (2); 69-7
- Camisón, C., Cruz, S & González, T. (2006). Gestión de la Calidad: conceptos, enfoques, modelos y sistemas. Pearson educación. Madrid.
- Castro, A. & Contreras, R. (2019). Desempeño de los procedimientos de colesterol y triglicéridos en el laboratorio Darío Moral. Tesis de licenciatura. Universidad de Guayaquil. pp. 7-63.
- Chesher, D. (2008). El uso e interpretación de los límites de concordancia en los estudios de comparación de métodos. Revista americana de nutrición clínica, 87(4), 1121S-1122S.
- Consultoría de Calidad Analítica. (2018). Establecimiento y verificación de la Precisión de métodos analíticos. [Imagen]. Recuperado de: <https://www.facebook.com/photo/?fbid=534582973669971&set=pb.100057693195772.-2207520000>.
- CLSI document EP06-A. (2003). Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline, 23(16).

- CLSI document EP06-A. (2003). The polynomial regression analysis. [Imagen]. Recuperado de: Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. p. 16.
- CLSI document EP29-A. (2012). Express Measurement Uncertainty in Lab Medicine. pp.84- 329.
- Cortes, P. (2012). ISO 15189. Resumen proceso de acreditación. [Diagrama]. Recuperado de: Resumen proceso acreditación umayor 2012 (slideshare.net).
- Del Campillo, S., De Elías, R., Kiener, G., Kiener, O., y Barzón, S. (2017). Especificaciones de calidad en base a error total: ¿Cuál es la mejor elección? Acta Bioquím. Clin. Latinoam; 51 (2); 227-358.
- Diario Oficial de la Federación. Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-007-SSA3-2017. Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos.
- Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana-NOM-007-SSA3-2011, Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos.
- Douglas, C. (2008). Evaluating Assay Precision. Clin. Biochem. Rev; (29) 1; 1-4.
- Entidad Mexicana de Acreditación (*ema*). (2008). Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico. revisión 00.
- Entidad Mexicana de Acreditación (*ema*). (2020). Manual de procedimientos. Evaluación Y Acreditación de Laboratorios con base en La Norma NMX-EC-15189- IMNC-2015/ ISO 15189:2012.
- Entidad Mexicana de Acreditación. Folleto: ¿Acreditación o certificación de laboratorios clínicos? México. Entidad Mexicana de Acreditación, A.C. https://www.ema.org.mx/portal_v3/index.php/folleto-acreditacion-o-certificacion-de-laboratorios-clinicos
- Eurachem (2014). B. Magnusson and U. Örnemark (eds.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2nd ed. ISBN 978-91-87461-59-0. Disponible en: www.eurachem.org.

- Fernández, C y Mazziotta, D. (2005). Gestión de la Calidad en el Laboratorio Clínico. Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Fernández, C y Mazziotta, D. (2005). Esquema genérico de un organigrama. [Esquema]. Imagen recuperada de: Gestión de la Calidad en el Laboratorio Clínico. Gestión de la Calidad en el Laboratorio Clínico. Buenos Aires: Médica Panamericana. p.56.
- Fraiz, F. (2003). Organización funcional de los laboratorios de análisis clínicos. Rev. Diagn. Biol [online]. 2003, 52(1);40-45. ISSN 0034-7973.
- Gilmour, S. (2018). Modelos Lineales y Análisis de Regresión. 5CCM242A/6CCM242B Departamento de Matemáticas King's College. Londres. pp. 3-14.
- Gimenez, J., et al. (2019). Verificación del Intervalo de Medición De Un Método Diazo para dosar Bilirrubina Sérica en un Hospital Público Polivalente De La Provincia De Córdoba. Publicación on-line del Colegio de Bioquímicos de la Provincia de Córdoba; (ISSN: 2344-9926). pp. 1-5.
- Gordillo, I. (2016). Verificación del equipo ADVIA Centaur para la determinación cuantitativa de la proteína HRP-2/neu en el Instituto Nacional de Cancerología (tesina para obtener la especialidad en bioquímica clínica). Universidad Nacional Autónoma de México. pp. 13-23.
- Guglielmone, R., et al. (2011). Verificación de métodos en un laboratorio acreditado y planificación del control de calidad interno. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires; 45 (2); 335-347.
- Hsieh, E., & Liu, J. (2008). On Statistical Evaluation of the Linearity in Assay Validation. Journal of Biopharmaceutical Statistics, 18(4); 677–690.
<https://scholar.princeton.edu/sites/default/files/bstewart/files/lecture5handout.pdf>
- Instituto Nacional de Calidad (INACAL). (2018). Directriz para la verificación de los procedimientos de análisis cuantitativos en los laboratorios clínicos. Perú. Encontrado en:
[https://www.inacal.gob.pe/repositorioaps/data/1/1/4/jer/documentosespecificos/files/DA-acr-21D ok DirectrizVerificación clínicos con firma mejorado.pdf](https://www.inacal.gob.pe/repositorioaps/data/1/1/4/jer/documentosespecificos/files/DA-acr-21D%20ok%20DirectrizVerificaci%C3%B3n%20cl%C3%ADnicos%20con%20firma%20mejorado.pdf)

- Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER). (2013). Manual de organización específico del departamento de laboratorios clínicos. Secretaría de Salud. pp. 6-57.
- JCGM. (2008). Evaluación de datos de medición Guía para la Expresión de la Incertidumbre de Medida. Gobierno de España. Centro Español de Metrología. pp. 4-42.
- Joaquín, A. (2016). Correlación lineal y Regresión lineal simple., disponible en 4.0 International. GitHub, Inc. pp. 13-82. Recuperado de: https://www.cienciadedatos.net/documentos/24_correlacion_y_regresion_lineal.
- Ledesma, V. et al. (2017). Análisis de errores en las fases de procesos del Laboratorio de Patología Clínica del Benemérito Antiguo Hospital Civil «Fray Antonio Alcalde». Rev. Latinoam Patol Clin Med Lab 2017; 64 (4); 163-168.
- León, S. (2002). Legislación sanitaria aplicada al laboratorio clínico... hacia un sistema de calidad. Salud en Tabasco. Secretaría de Salud del Estado de Tabasco. 8(3);1405-2091.
- León, S. (2002). Legislación sanitaria aplicada al laboratorio clínico... hacia un sistema de calidad. Salud en Tabasco Secretaría de Salud del Estado de Tabasco; (8) 3; 142-145.
- Ley de Infraestructura de la Calidad. 01-07-2020. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Gobierno de México.
- López, S. (2000). Acreditación y Certificación de laboratorios clínicos: Situación actual y perspectivas Bioquímica.25 (2); 43-44.
- Minitab. (2022). ¿Qué es el error estándar del coeficiente? Soporte de Minitab. Minitab Statical Software. Recuperado de: Minitab.com.
- Morales, J & Gutiérrez, M. (2019). Desempeño Analítico de un procedimiento de Ensayo de Glucosa en Suero. Tesis de licenciatura. Universidad de Guayaquil. Ecuador. pp. 13-54.
- Narasimhachar, S, et al. (2017). EP15-A3 Based Precision and Trueness Verification of VITROS HbA1C Immunoassay. Ind J Clin Biochem. 34; 89–94.

- Nichols, J. (2009). Verification of method performance for clinical laboratories. *Adv Clin Chem.* 2009; 47:121-37. Doi: 10.1016/s0065-2423(09)47005-7. PMID: 19634779.
- Oficina de Acreditación Guatemala. OGA-GEC-016 “Política de la Selección y Validación de Métodos de Ensayo”. No. de revisión 02. pp. 7-29.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2016). Manual: Sistema de gestión de la calidad en el laboratorio (LQMS). ISBN 978 92 4 354827 2. pp. 9-197
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2016). [Imagen]. Descripción general del sistema de gestión de la calidad. Recuperado de:
<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/252631/9789243548272-spa.pdf>
p.11.
- Pasquel, M. (2018). La acreditación en Latinoamérica con la norma 15189 para los laboratorios clínicos. *Rev. Lab. Clin* 11(1);1-5.
- Pasquel, M. (2018). Porcentaje de laboratorios acreditados por país vs. número total de laboratorios del país. [Gráfica]. Recuperado de:
<https://doi.org/10.1016/j.labcli.2017.09.001>. p. 4.
- Pereira, P. (2016). Uncertainty of Measurement in Medical Laboratories. In (Ed.), *New Trends and Developments in Metrology*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/62437>
- Pum, J. (2019). A practical guide to validation and verification of analytical methods in the clinical laboratory. *Advances in Clinical Chemistry*. *Adv Clin Chem*; 90:215-281. Doi: 10.1016/bs.acc.2019.01.006. Epub. PMID: 31122610.
- Quintana, S. (2015). Experiencia en la acreditación de laboratorios clínicos y bancos de sangre en México. *26(4)*; 264-269.
- Ramírez, N. (2016). Evaluación de parámetros de Verificación de Glucosa, Colesterol y triglicéridos. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Querétaro. México. pp. 8-62.
- Rivera, J. (2013). 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 (tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México. 10-31.

- Rodríguez, M. (2016). Evaluación de los parámetros de Verificación del método de Química Seca para el Análisis de Ácido Úrico, Urea, y Creatinina en Suero Sanguíneo. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Querétaro. México. pp. 5-40.
- Rodríguez, Y. (2021). Sesión 1: ¿Cuál es el objetivo de un estudio de validación del método? Instituto de Estandarización en el Laboratorio clínico del Perú: <https://www.ielcdelperu.com/>
- Romero, A. (2020). Desempeño Analítico de un Autoanalizador Hematológico en un Hospital del Minsa-Perú en el 2019. Tesis en licenciatura. Universidad Nacional Federico Villareal. Lima, Perú. pp. 20-55.
- Salazar, S., Ruiz, A., Salazar, J. (2019). Incremento en la medición sigma por la implementación de estrategias en inmunoquímica del Laboratorio Médico Echavarría. Rev. Mex. Patol. Clin. Med. Lab; 66 (1): 46-52; 46-47.
- Servicio de Acreditación Ecuatoriano (SAE). (2022). CR GA07 R02. Criterios Generales para la acreditación de laboratorios clínicos según la norma ISO15189:2012. pp. 7-20
- Servicio Andaluz de Salud (SAS). (2009). Manual de obtención y manejo de muestras para el laboratorio clínico. Consejería de Salud. Junta de Andalucía. Sevilla. pp. 9-15.
- Sierra., et al. (2008). Acreditación de laboratorios clínicos ISO 15189:2003. 33 (3); 109-114.
- Stewart, B. (2016). Simple Linear Regression. Princeton. pp-36 98. Recuperado de: https://scholar.princeton.edu/sites/default/files/bstewart/files/lecture5_slides_2020.pdf
- Suasnavas, Carla. (2018). Validación del método ECLIA para cuantificación de tiroglobulina en solución de lavado de aguja de aspirado de punción ganglionar cervical en pacientes con cáncer de tiroides tipo papilar del Hospital Oncológico SOLCA, Núcleo-Quito, durante el periodo agosto-septiembre 2018. Tesis de licenciatura. Pontificia Universidad Católica de Ecuador. Quito. pp. 74-107.

- Tapia, C, Vegas, C & Rojas C. (2015). Implementación Del Laboratorio Clínico Moderno. *Rev. Med. Clin. Condes.* 26(6). pp. 794-801.
- Taverniers, I, Van Bockstaele, E & De Loose, M. (2004). Trends in the Analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *23 (8);* 535-551.
- Terrés-Speziale, AM. (2007). Relevancia médica en ISO 15189: 2003. *Rev. Mex Patol Clin Med Lab.* 54 (2); 59-71.
- Theodorsson, E. (2012). Validation and verification of measurement methods in clinical chemistry. *Bioanalysis.*; 4(3); 305-320.
- Toledo, A. (2016). Evaluación De Las Guías EP10-A2 Y EP15-A2 de la CLSI para Verificar el Desempeño Analítico de Métodos Cuantitativos. Tesis de maestría. Universidad de Guayaquil. Ecuador. pp. 17-40.
- Torres, N. et al. (2007). Aseguramiento de la calidad en la etapa analítica en química clínica. *vista Archivo Médico de Camagüey,* 11(6).
- Villagómez, J. (2015). Verificación Del Desempeño Analítico de la Precisión y Veracidad de varios Analitos de Química Clínica en el Laboratorio Clínico e Histopatológico Sucre de la Ciudad De Riobamba. Tesis de licenciatura. Ecuador. pp. 54-60.
- Vocabulario Internacional de Metrología. (2008). Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados (VIM). *JCGM 200:2008.* pp. 20-41.
- Westgard, J. (2003). Internal quality control: planning and implementation strategies. *Ann Clin Biochem* 2003 40; 593. Doi: 10.1258/000456303770367199.
- Westgard, J. (2013). Validación básica de método. Westgard QC Inc., USA. pp. 20.303.
- Westgard, J. (2013). Caja de Herramientas Básicas para la Validación de Métodos. [Imagen]. Validación básica de método. Recuperado de: <https://gmigliarino.com/Resources/WHCF/Digital-SBMV-8-14.pdf>. p. 79
- Westgard, J. (2013). Error aleatorio. [Imagen]. Validación básica de método. Recuperado de: <https://gmigliarino.com/Resources/WHCF/Digital-SBMV-8-14.pdf>. p. 31,

- Westgard, J. (2013). Error sistemático. [Imagen]. Validación básica de método. Recuperado de: <https://gmigliarino.com/Resources/WHCF/Digital-SBMV-8-14.pdf>. p. 32.
- Westgard, J. (2013). Error total. [Imagen]. Validación básica de método. Recuperado de: <https://gmigliarino.com/Resources/WHCF/Digital-SBMV-8-14.pdf>. p. 33.
- Westgard, J. (2013). Sesgo. [Imagen]. Validación básica de método. Recuperado de: <https://gmigliarino.com/Resources/WHCF/Digital-SBMV-8-14.pdf>. p. 273.
- Westgard, J. (2014). Sistemas de Gestión de la Calidad para el Laboratorio Clínico. QC Westgard, Inc. pp. 16-177.
- Westgard, J. (2014). Esquema que define de forma simple el objetivo de la evaluación de un procedimiento de medida. [Esquema]. Recuperado de: Sistemas de Gestión de la Calidad para el Laboratorio Clínico. QC Westgard, Inc. p. 98.
- Westgard, J. (2013). Prácticas Básicas de Control de Calidad. 4a ed., Westgard QC Inc., USA. pp. 11-303.
- Zamora, A. (2011). Verificación de la imprecisión empleando dos protocolos. Rev. Mex Patol Clin, 58(4); 180-185.