

CONTROL DE CALIDAD EN EL LABORATORIO CLINICO

El control de calidad (CC) es un proceso que nunca termina. Desarrolla una mejor atención al paciente, asegurando la exactitud y precisión de los análisis clínicos del laboratorio.

En la actividad diaria, el profesional es responsable no solo de efectuar las prácticas, sino además determinar si los resultados obtenidos son válidos.

Hay un elevado número de variables que producen desviación de los resultados de laboratorio. Los errores que estas variables producen se agrupan básicamente en preanalíticos, analíticos y post analíticos.

El uso de material de control y la evaluación de sus resultados diariamente proporciona una forma de monitorear estas variables, que influyen en la etapa analítica, asegurando los resultados informados.

Un programa de CC efectivo puede ser básicamente diseñado de la siguiente manera:

1. Los materiales de control son de uso rutinario.
2. Los resultados se registran en gráficos y tablas.
3. Los valores aceptables de variación son seleccionados para cada analito.
4. Procedimientos específicos son establecidos cuando un resultado se muestra fuera de control.
5. Es necesaria la participación en programas de control de calidad externos.

Materiales de Control

Los materiales control deben parecerse lo más posible a las muestras de los pacientes, ya que de los resultados obtenidos sobre los controles, se inferirá la fiabilidad de los resultados obtenidos sobre estas. Este es uno de los problemas más importantes ya que los materiales de control, sobre todo los de origen comercial, sufren procesos durante su fabricación que muchas veces tienen un efecto contraproducente sobre las propiedades del material que sirve de base para su producción (efecto matriz).

Para determinaciones bioquímicas pueden utilizarse los siguientes tipos de muestras control:

- a) Comerciales, liofilizadas o líquidas, provenientes de suero humano o animal.
- b) Material de origen humano preferiblemente, para evitar el efecto matriz.
- c) Mezcla de sueros humanos. (Pool de sueros).
- d) Mezcla de sueros de animales.
- e) Materiales comerciales liofilizados para reconstituir o líquidos estabilizados.

Lo ideal es utilizar un suero comercial con elevada confiabilidad, de valores conocidos para cada analito y método de medición. En nuestro medio, es posible acceder a sueros comerciales que presentan valores obtenidos por métodos de referencia, o por métodos de rutina, en laboratorios de referencia. Esto evita el tiempo que se requiere para recolectar material y proceder a establecer los valores medios y el rango de cada analito. Esta opción tiene la desventaja de agregar un costo adicional al laboratorio, aunque no resultan elevados.

Otra opción más económica es preparar un pool de sueros a partir de las muestras que obtenemos todos los días.

No es procedente utilizar calibradores o estándares como material de control.

Operativamente el uso de Material de Control debe seguir las siguientes premisas:

1. Deben ser siempre testeados junto con las muestras de pacientes.
2. La frecuencia de estos controles durante cada jornada de trabajo está relacionada con el volumen de muestras a procesar y los procedimientos utilizados. Por ej, grandes volúmenes de trabajo procesados en autoanalizadores, requieren de la incorporación de un control cada 10 o 20 muestras de pacientes.
3. Controles con valores normales y anormales son preferibles y deben ser testeados juntos.
4. Los valores hallados de cada control son registrados y evaluados antes de decidir si los resultados analíticos pueden ser informados.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO

El control de calidad interno requiere el análisis de una o más muestras control de valores conocidos, utilizadas al mismo tiempo y en paralelo con las muestras de los pacientes.

El conocimiento del valor promedio de esta muestra de control, su desviación estándar (DS) y su coeficiente de variación (CV) permiten al profesional responsable del aseguramiento y CCI del laboratorio clínico, evaluar la precisión del sistema analítico utilizado para las respectivas determinaciones.

Para implantar un CCI se debe cumplir los siguientes aspectos:

- a) elegir la muestra control a utilizar. Establecer el promedio, DS, CV para la muestra control y aplicar los cálculos estadísticos.
- b) Elaborar el gráfico de Levey –Jennings, para cada analito determinado en el laboratorio clínico.
- c) Implantar una rutina de determinaciones de las muestras control de valor y variabilidad conocida. Así como formar y concientizar al personal técnico responsable de la utilización del sistema analítico.

PROCEDIMIENTO

PREPARACION DE UN POOL DE SUEROS

Trabajar limpiamente reduciendo al mínimo las posibilidades de contaminación bacteriana.

Evitar agregar sustancias de ningún tipo, aunque normalmente es necesario ajustar la concentración de glucosa.

Inconveniente: solo proporciona sin otro tipo de tratamiento, un único nivel de concentración dentro de los valores de referencia para todos los analitos.

Se debe disponer idealmente de un freezer a – 20 °C, y de un suero en cantidad suficiente para fraccionarlo en 100 o más alícuotas.

1- **Guardar** diariamente entre 2 y 8 °C, los sueros sobrantes de pacientes presuntamente sanos.

No incluir sueros hemolizados, lipémicos, ictéricos, de pacientes positivos para HIV, HVB e internados.

2- Lavar muy bien y enjuagar con agua destilada, un **erlenmeyer** de 250 ml.

3- **Calcular el volumen necesario** para tener sueros por 4 meses.

Lo primero es sumar los volúmenes de muestra de cada una de las determinaciones de Química Clínica que realizamos. Supongamos por Ej., que obtenemos un volumen total 500 ul.

Sumar 100 ul para cubrir eventuales repeticiones. (600 ul ≡ 0,6 ml)

Para realizar el Control de Calidad Interno de todas las determinaciones de Química Clínica todos los días hábiles del mes, tendremos:

De lunes a viernes = 5 días por 4 semanas ± 2 = 22 días/mes

$$0.6 \text{ ml/día} \times 22 \text{ días /mes} \times 4 \text{ meses} = 52.8 \text{ ml}$$

Conviene preparar casi el doble del volumen calculado para asegurar no quedarse sin pool de suero.

4- Diariamente, descargar los sueros de días anteriores en este erlenmeyer hasta obtener el volumen que necesitamos (casi dos veces el Vol. calculado). Mantener este erlenmeyer en **freezer a – 20 °C**.

5- **Desfreezar**, colocando el erlenmeyer a temperatura ambiente, **homogeneizar** muy bien por rotación suave durante 3 minutos. Puede utilizarse un vortex.

6- **Filtrar** con gasa cuádruple, a un vaso de precipitados limpio y seco.

7- **Distribuir en alícuotas**, en conos tipo ependorf, con tapa hermética.

El volumen a alicuotar = vol calculado + 100 ul

Tomar una alícuota y definir si es necesario ajustar su concentración. Si así lo fuera, agregar la cantidad de glucosa anhidra necesaria y continuar la agitación durante 30 minutos.

8- **Rotular** fecha de preparación, y freezar la gradilla con los conos.

Dejar estabilizar una semana antes de usar.

El límite de 4 meses se debe al deterioro que se ha observado en la actividad de algunas de las enzimas que dosamos.

BIOSEGURIDAD: Considerar el pool de sueros como potencialmente contagioso, como cualquier muestra que ingresa al laboratorio.

Una vez que disponemos de alícuotas de un mismo suero por al menos por 4 meses, podemos iniciar los procedimientos de Control de Calidad Interno.

DETERMINACION DEL PROMEDIO, DS Y CV

Esto es responsabilidad exclusiva del laboratorista clínico.

Si se usan sueros comerciales, con valores conocidos, validados, sus promedios y su variabilidad informada deben ser confirmadas por el usuario, utilizando los procesos estadísticos, del siguiente modo:

- Determinar en la muestra control cada uno de los parámetros durante un mínimo de 20 días.
- La muestra control debe ser analizada de modo idéntico a las muestras de los pacientes.
- Con esos 20 valores, determinar el promedio, la DS, y el CV.
- Elaborar el grafico de Levey-Jennings y evaluar, siguiendo las reglas establecidas por Westgard.

Cálculos:

$$\text{Promedio } (\bar{X}) = 1980/20 = 99 \text{ mg/100 ml}$$

$$\text{Desviación estándar } DS = \sqrt{\sum (Xi - \bar{X})^2 / N - 1}$$

$$CV = DS / \bar{X} \times 100$$

\bar{X} = Promedio

Xi = Valores encontrados

DS = Desviación Estándar

CV = Coeficiente de Variación

N = Número de determinaciones

N-1 = Grados de libertad

ELABORACION DE LOS GRAFICOS DE CONTROL

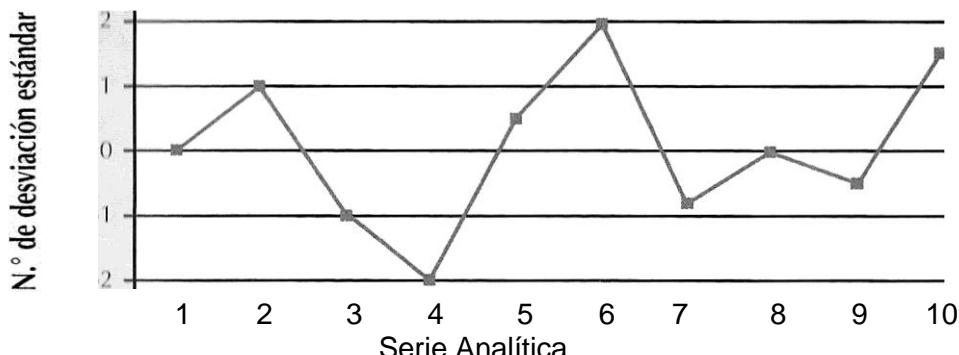
Levey-Jennings: se realiza en papel cuadriculado, para cada analito examinado. Este gráfico es utilizado solamente para valores numéricos, debe ser interpretado por el personal asignado antes de validar los resultados diarios, de cada serie de exámenes.

Construir de la siguiente manera:

- Seleccionar una hoja de papel cuadriculado. Rotular con la determinación del analito, nombre y número de lote del material de control, unidades de medida, promedio y DS y la identificación del instrumento.
- Preparar la escala del eje X: tiempo o serie analítica. Crear una escala para acomodar 30 días o series analíticas, si es el caso de una serie analítica diaria. Colocar el título.
- Preparar la escala del eje Y: valores obtenidos con los controles, ajustar la escala para el rango apropiado de concentraciones. Para crear una escala adecuada, se tienen que graficar valores en el rango. Colocar título: concentración, por Ej.
- Marcar las líneas de valor promedio y las correspondientes a los siguientes niveles por encima y por debajo del valor promedio: $+3s$, $+2s$, $+1s$ y $-1s$, $-2s$, $-3s$.
- Trazar la gráfica uniendo con una línea los valores obtenidos con el material de control cada día o cada serie analítica.

Cuando el procedimiento analítico muestra buena precisión y error sistemático nulo o despreciable, se espera que los valores obtenidos en el material de control se encuentren entre los límites de $\pm 2s$, distribuyéndose en forma normal, lo que implica una distribución simétrica con una probabilidad del 95%. Esto quiere decir que una determinación de cada 20, en promedio, caerá fuera de estos límites.

Ver figura 1.



Ventaja: es posible evaluar visualmente, luego de graficar cada punto, las prestaciones del procedimiento analítico.

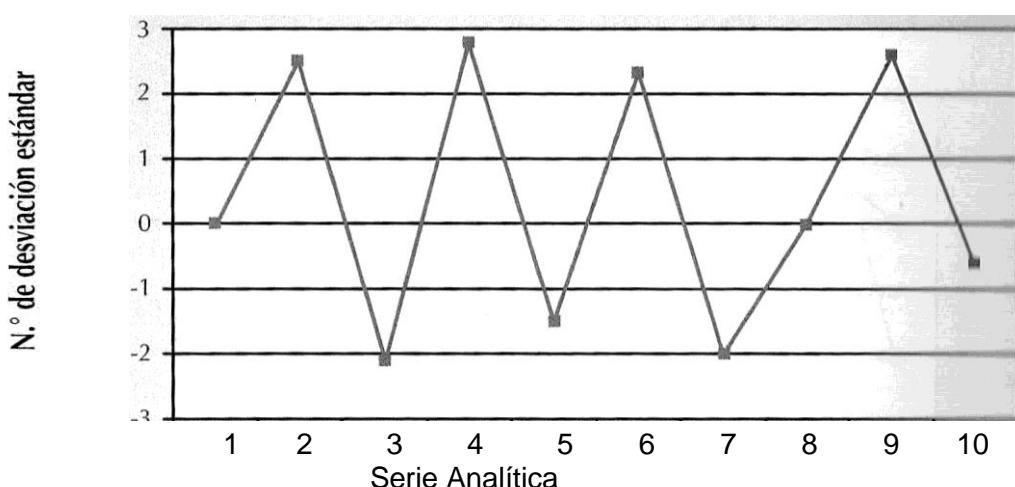
La interpretación de los Gráficos de Control está basada en los trabajos de Shewhart, Levey-Jennings, modificados por Henry y Segalove y en la aplicación de las reglas múltiples de Westgard.

INTERPRETACION DE LOS GRAFICOS DE CONTROL

Los resultados de CCI identificados como fuera de control deben ser evaluados por el responsable del CC, quien deberá tomar las medidas necesarias para identificar el problema.

Mientras tanto, los resultados de las muestras de los pacientes no deben ser validadas hasta que dicha no conformidad sea corregida aplicando las acciones correctivas adecuadas.

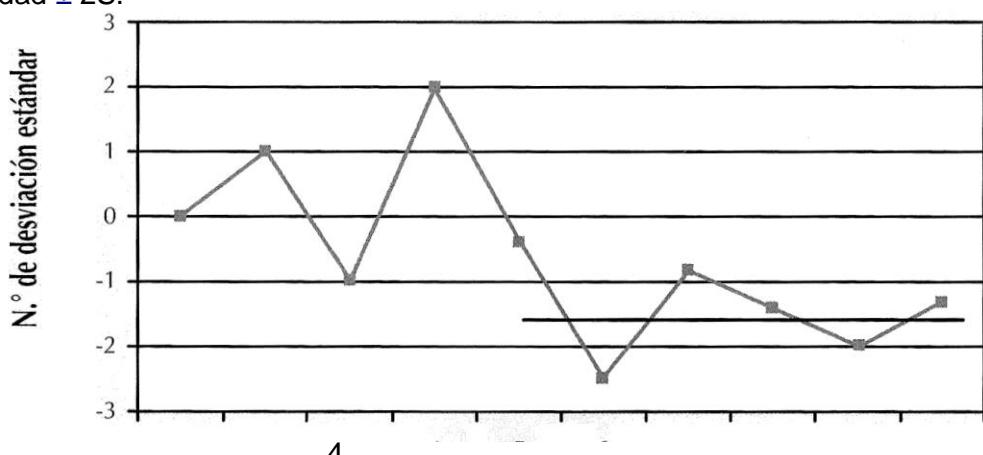
PERDIDA DE PRECISION: cuando ocurre, el valor real de la DS es mayor que la utilizada para construir el G de C. Por lo tanto los valores hallados se distribuirán igualmente en forma normal pero la frecuencia de ellos que exceden los límites de $\pm 2S$ es mayor del 5 %, es decir habrá mayor cantidad de alarmas en el sistema de CC.



Se puede deber a:

- Aumento de la imprecisión en el pipeteado de controles y muestras.
- Mala homogeneización de los controles.
- Materiales auxiliares sucios o en malas condiciones.
- Método de poca sensibilidad.
- Variación de temperatura
- Imprecisión fotométrica aumentada.
- Variaciones de voltaje.

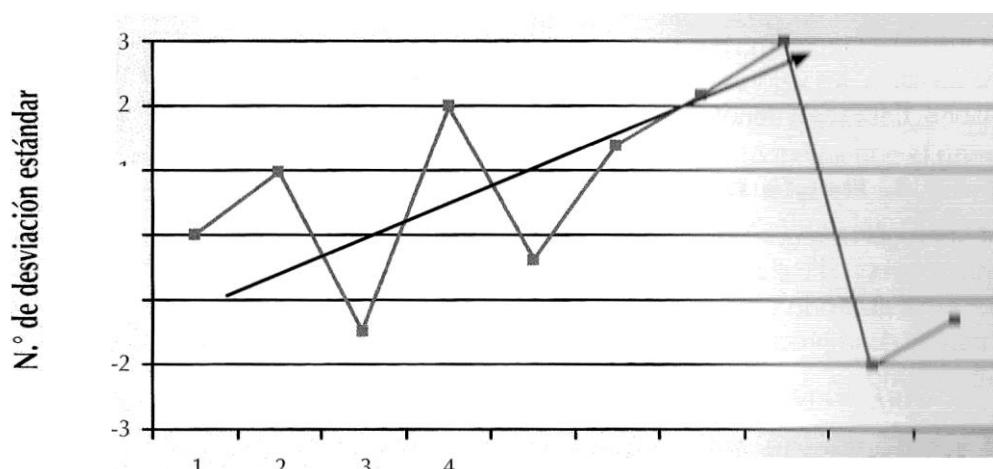
AUMENTO DE ERROR SISTEMATICO: La aparición de error sistemático se visualiza como una distribución de más de 5 valores de control consecutivos que muestran un promedio grupal distinto del promedio establecido en la gráfica al construirla. Esto es así, aún cuando dicha distribución este dentro de los límites de aceptabilidad $\pm 2S$.



Este efecto puede deberse a varias causas:

- a) Reactivos mal preparados
- b) Temperaturas de los baños termostatizados no controladas.
- c) Tiempos de lecturas incorrectos.
- d) Lecturas en longitudes de onda erróneas.
- e) Cambio inadvertido de sueros controles.
- f) Deterioro de los reactivos o calibradores.
- g) Deterioro de los controles.

TENDENCIAS: Cuando más de 6 valores de control se alejan progresivamente de la región de aceptabilidad hacia uno de los lados del promedio, se denomina tendencia.



Causas:

- a) Deterioro de calibrador
- b) Evaporación del solvente del calibrador
- c) Deterioro de los reactivos
- d) Problemas en la fuente de luz del espectrofotómetro

REGLAS MULTIPLES DE WESTGARD INTERPRETACION

Ayudan a detectar e interpretar las no conformidades encontradas en la evaluación de los resultados del CCI, habitualmente con la utilización de un mínimo de 2 sueros control por serie analítica. Indican la existencia de un error aleatorio o sistemático en el sistema analítico utilizado. Estos errores ocurren teniendo en cuenta que, estadísticamente, cerca del 5% de los resultados pueden estar fuera de la zona de $\pm 2S$ pero dentro de $\pm 3S$.

Regla 1 2S

Esta regla inicia el análisis de los resultados de los controles siguiendo el protocolo de Westgard. La regla dice que una observación del control excedió los límites de $\pm 2S$. Como esta posibilidad es del 5%, la señal se considera una alarma y se debe seguir el análisis para verificar si se debe a la aparición de errores excesivos o ha ocurrido por causas puramente estadísticas.

Regla 1 3S

Si el valor del suero control además de violar la regla 1 2S, sobrepasa el límite de 3S, se considera que ha habido un error tal que no se pueden informar los resultados de los pacientes. El fundamento de esta decisión es que dentro de los límites de $\pm 3S$ están contenidos el 99,7% de los valores posibles y pese a que existe una baja probabilidad estadística de que un valor caiga fuera de los 3S, desde el punto de vista del laboratorio se considera dicha posibilidad como nula. Por lo tanto, el hecho de tener un valor fuera de $\pm 3S$, es causa de rechazo.

La violación de esta regla induce a buscar errores sistemáticos.

Regla 2 2S

Cuando en un mismo control en días sucesivos o en ambos controles en la misma serie analítica, los valores exceden el mismo límite de 2S, se debe rechazar la serie analítica. Implica que existe error sistemático.

Regla R 4S

Cuando la diferencia entre los valores de los 2 controles diarios excede el valor máximo de 4S, entonces se está en presencia de un aumento de error aleatorio y la serie analítica debe ser rechazada. Se deberá buscar entre las causas de imprecisión pertinentes, de acuerdo al sistema analítico utilizado en el laboratorio.

Regla R 4 1S

Cuando 4 determinaciones sucesivas del control exceden el mismo nivel de 1S pero siempre dentro de la región aceptable $\pm 2S$, se está en presencia de error sistemático.

Dependiendo del criterio del operador, el incumplimiento de esta regla puede conducir a rechazar la serie analítica o a generar acciones de mantenimiento sin llegar al rechazo de la serie, ya que todos los puntos se encuentran en la región de aceptación. No obstante, hay que tener en cuenta que ese error sistemático en un determinado nivel de concentración puede ser despreciable pero en otro, ya sea más bajo o más alto, puede adquirir dimensiones que lo hagan inaceptable.

Regla 10 X medio

Esta regla se viola cuando 10 o más determinaciones de un mismo nivel de control se ubican de un mismo lado del promedio. Esto indica que el promedio real de estas determinaciones es distinto al promedio establecido en el momento de elaborar las cartas de control. Aquí se deben evaluar las causas de error sistemático. No obstante, como los 10 valores observados están dentro de la zona de aceptabilidad, se debe aplicar el mismo criterio que para la regla 4 1S.

CONTROL DE CALIDAD EXTERNO

Comprende 4 procedimientos:

- 1- Calcular para cada proceso analítico: el Error Sistemático (ES), el Desvío Relativo Porcentual (DRP), el Error Aleatorio interensayo (EA i.e.) y el Error Analítico Total (ET).
- 2- Aplicar un Criterio de aceptación de nuestros Errores analíticos: ES, EA y ET.
- 3- Ejecutar acciones correctivas cuando se superen los Criterios de aceptación.
- 4- Realizar acciones preventivas, para minimizar los errores detectados.

1- Calcular:

1.1- ERROR SISTEMATICO

Pueden calcularse dos E.S:

a) E.S. a partir de una sola medición realizada con la muestra recibida en el Programa de Control de Calidad Externo. Se asume aquí como Valor verdadero, al Valor de Consenso = promedio de los resultados informados por todos los laboratorios intervenientes en el Programa, que utilizaron igual muestra y método.

$$E.S. = \frac{(V_h - V_c)}{V_c} \times 100\%$$

V_h = Valor hallado en nuestro laboratorio
 V_c = Valor de consenso

b) E.S. Interensayo, a partir del promedio de 20 mediciones de un mismo pool de suero comercial, donde su fabricante informa un valor verdadero para cada analito y método. También informa el C.V. interensayo aceptable para cada analito y método, lo que posibilita valorar nuestro nivel de imprecisión interensayo.

$$E.S. (\text{ie}) = \frac{(\text{Valor promedio} - \text{Valor verdadero})}{\text{Valor verdadero}} \times 100\%$$

Cuando este E.S., se expresa como porcentaje, se denomina DESVIO RELATIVO PORCENTUAL (D.R.P.).

$$D.R.P. = \frac{(V_m - V_v)}{V_v} \times 100\%$$

1.2- ERROR ALEATORIO interensayo: E.A. ie = 2 x C.V.ie

Coeficiente de Variación interensayo C.V.ie = $\frac{DS_{ie}}{\text{media}} \times 100\%$

1.3- ERROR TOTAL (Interensayo) E.T.ie = D.R.P. + E.A.ie

2- Aplicar un CRITERIO DE ACEPTACION O RECHAZO del error analítico: para aceptar o rechazar nuestro ES, EA o ET, se pueden aplicar uno de los cuatro criterios siguientes.

Criterios de aceptación de errores analíticos:

2.1- Utilizar los valores de DRPA fijados por el Programa de Control de Calidad Externo en el que está inscripto el laboratorio. Es el Criterio mas utilizado en nuestro país.

2.2- Utilizar un Error total máximo aceptable fijo, según el tipo de determinación.

2.3- Utilizar los Criterios de Tonks.

2.4- Utilizar los Criterios de Aspen. Es el Criterio menos utilizado.

2.1- DESVIO RELATIVO PORCENTUAL ACEPTABLE de un Programa de Control de Calidad Externo
Por ejemplo, el Programa de Evaluación Externa de la Calidad (PEEC) establece,
para glucemia, por método glucosa oxidasa-peroxidasa-trinder, un DRPA = 8%,
para uremia por método ureasa- hipoclorito de Na- salicilato, un DRPA = 10%
para calcemia por método azul de metiltimol, DRPA = 5%

Debe compararse el DRP calculado con el DRPA definido para cada determinación en el Programa de Control de Calidad Externo. Si el DRP hallado es superior al DRPA, deben revisarse todas las fuentes de variabilidad analítica, en especial las de errores sistemáticos, con el objetivo de corregirlos o disminuirlos lo suficiente para obtener un DRP menor al DRPA.

2.2- ERROR TOTAL MAXIMO ACEPTABLE FIJO, según tipo de determinación

- Para todos los analitos donde se determina una concentración, se toma como límite admisible un Error Total Máximo = 10%

- Para las actividades enzimáticas, un ETM = 20%

- Para los iones, un ETM = 5%

2.3- ETM calculado según los CRITERIOS DE TONKS

Tiene en cuenta la variabilidad biológica interindividuo, que afecta directamente al Intervalo de Referencia del analito, en la muestra donde se realiza la medición.

ETM = $\frac{I.R. \times 0.25}{\text{valor medio del I.R.}}$

Por ej., si para glucemia utilizamos el I.R. = 70 a 110 mg/dl

ETM = $\frac{(110 - 70) \text{ mg/dl} \times 0.25}{90 \text{ mg/dl}} = 11\%$

y para calcemia el I.R. = 8 a 10 mg/dl

ETM = $\frac{2 \text{ mg/dl} \times 0.25}{9 \text{ mg/dl}} = 5.5\%$

2.4- ETM calculado según los CRITERIOS DE ASPEN

Tiene en cuenta, las variabilidades biológicas intra e interindividuo. Asume un Error Sistemático = 0, lo cual es una limitación importante.

$(C.V. \text{ biológica})^2 = [(C.V. \text{ intra})^2 + (C.V. \text{ inter})^2] \frac{1}{2}$

C.V. aleatorio = C.V. biológica x 0.5

ETM = Error Aleatorio total = 2 x C.V. Aleatorio

3- EJECUTAR ACCIONES CORRECTIVAS

Si se obtiene un Error analítico superior al ETM usado como Criterio de aceptación, deben investigarse todas las fuentes de variabilidad analítica, sistemáticas y aleatorias.

Deben realizarse modificaciones en el procedimiento y/o en la calibración y/o en el funcionamiento del instrumental, etc. para disminuir estas fuentes de variabilidad, y repetir todo el ensayo. Sólo una vez obtenido un valor que cumpla con los Criterios de aceptación, se puede validar todo el ensayo. No olvidar que con este Control de Calidad Externo, alcanzamos una validación parcial de nuestras mediciones.

LA VALIDACION ANALITICA TOTAL SE LOGRA AL OBTENER VALORES ACEPTABLES EN LOS CONTROLES DE CALIDAD INTERNO Y EXTERNO. RECIEN ENTONCES LOGRAMOS UNA ALTA CONFIABILIDAD EN NUESTRAS MEDICIONES.

EJERCICIOS DE APLICACION

- 1- Listar fuentes de variabilidad analítica, clasificadas en fuentes de error sistemático y fuentes de error aleatorio.
- 2- Calcular media, DS y CV a partir de 20 mediciones de glucemia.
- 3- Construir la carta de control o gráfica de Levy-Jennings.
- 4- Practicar la detección de errores aleatorios y sistemáticos, aplicando las Reglas de Westgard.
- 5- En un Programa de Control de Calidad Externo, se obtiene para el dosaje de Na por método de ión selectivo, Na = 147 meq/l. La media de los 1412 laboratorios intervenientes = 149.67 meq/l. El Programa de CC Externo informa como DRPA = 2%
Calcule DRP e indique si es aceptable para las normas de este Programa. Si Ud. ya determinó que en su laboratorio, al medir Na, su CV interensayo = 2.5%, calcule el Error Total e indique si es aceptable, aplicando como Criterio de aceptación un ETM = 5%
- 6- Calcular el EMT para uremia, IR: 20 - 40 mg/dl y para Na, IR: 135 - 145 meq/l, según el Criterio de Tonks.
- 7- Presentar dos ejemplos de error aleatorio y dos de error sistemático, y proponer acciones correctivas para cada ejemplo de error detectado.
- 8- Proponer acciones de prevención para evitar que el error detectado se reitere.

BIBLIOGRAFIA

Gestión de la Calidad en el Laboratorio Clínico. C. Fernández Espina. Ed. Panamericana.