



# 20° CONGRESO INTERNACIONAL

**CNB COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA**

Sostenibilidad, Globalización y Responsabilidad en el Diagnóstico.

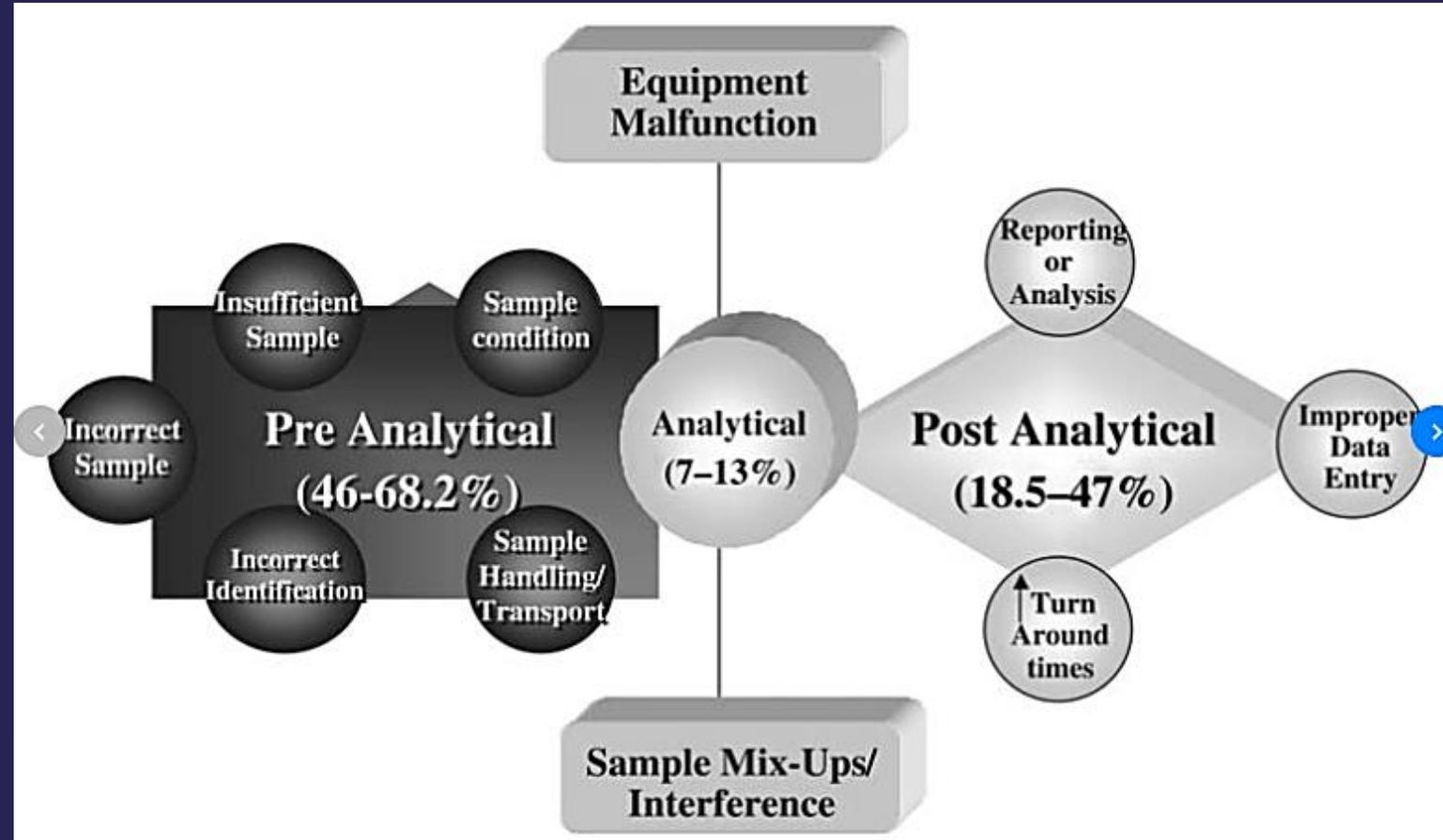
**Bucaramanga**



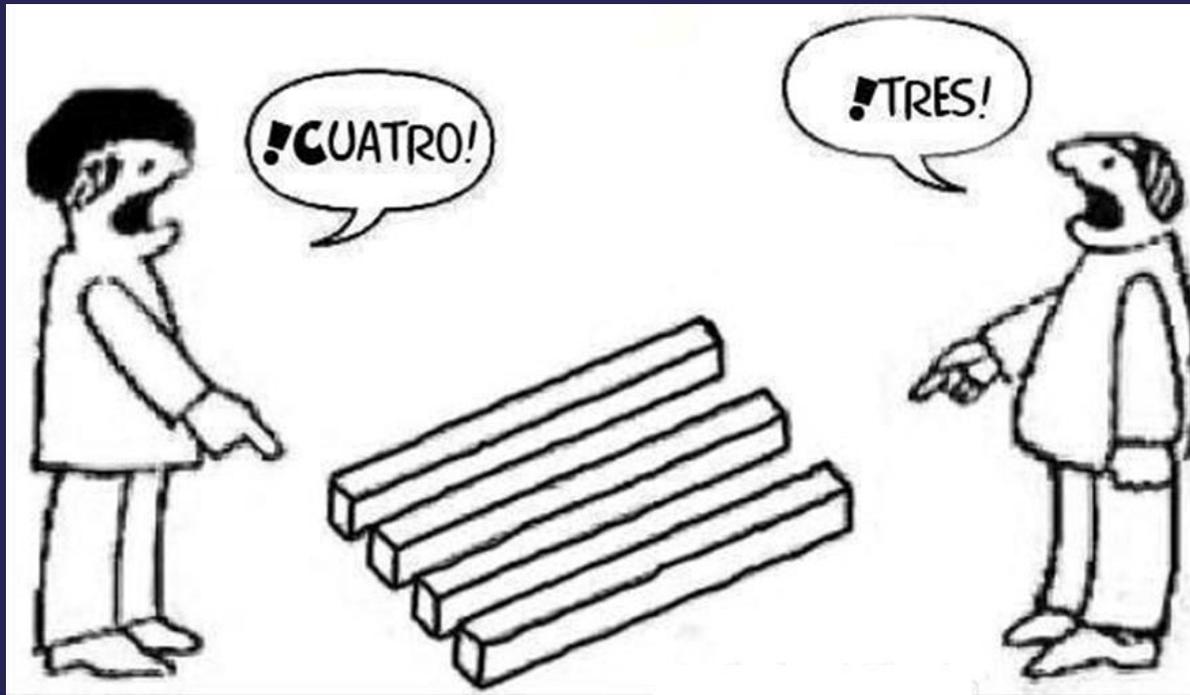
# ¿Cómo analizar las herramientas estadísticas en la validación o verificación de métodos analíticos?



Errores en el Laboratorio:  
 Gestión del riesgo y el evento adverso



## EL ÉXITO ESTÁ EN FUNDAMENTAR EL PUNTO DE VISTA



- Para que se debe hacer una verificación?
- Que n debo Usar en la Verificación?
- Debo Verificar todas las pruebas?
- Verifico el Método, el equipo, el reactivo?
- Se puede retrospectiva?
- Como se si cumple o no, la verificación?

Continuación de la resolución: "Por la cual se definen los procedimientos y condiciones de inscripción de los prestadores de servicios de salud y de habilitación de los servicios de salud y se adopta el Manual de Inscripción de Prestadores y Habilitación de Servicios de Salud"

### Estándar de procesos prioritarios

*Modalidades intramural, extramural unidad móvil, jornada de salud, telemedicina - prestador remitidor.*

16. Cumple con los criterios que le sean aplicables de todos los servicios y adicionalmente cuenta con la siguiente información documentada:

16.1. Programa de control de calidad interno y externo, que contemple las pruebas realizadas.

→ 16.2. Validación secundaria o verificación.

16.3. Análisis de los reportes del control de calidad y toma de medidas preventivas y correctivas.

16.4. Toma, identificación, transporte, conservación, embalaje y remisión de las muestras, cuando aplique.

16.5. Entrega de resultados.

16.6. Supervisión de la toma de muestras cuando sea realizada por los auxiliares, cuando aplique.

16.7. Limpieza y desinfección del material que se utilice en el procesamiento de las muestras, cuando aplique.

16.8. Control de calidad de las "pruebas en el punto de atención del paciente - (point of care testing -POCT)", cuando aplique.

**Validación:** Cuando los requisitos especificados son adecuados para su uso previsto

**Verificación o validación secundaria:** Aportación de evidencia objetiva de que un ítem dado satisface los requisitos especificados.

- Los procedimientos analíticos validados utilizados sin modificación deben estar sujetos a verificación independiente por el laboratorio antes de ser introducidos en la utilización habitual.
- El laboratorio debe obtener información del fabricante o persona que desarrolló el método para confirmar las características del desempeño del procedimiento.
- La verificación independiente hecha por el laboratorio debe confirmar, mediante la obtención de evidencia objetiva (en forma de características del desempeño) que se han cumplido las especificaciones declaradas del desempeño para el procedimiento analítico.
- El laboratorio debe documentar el procedimiento utilizado para la verificación y registrar los resultados obtenidos. El personal con la autoridad apropiada debe revisar los resultados de la verificación y registrar la revisión.

**NORMA TÉCNICA NTC-ISO/IEC  
COLOMBIANA 17025**

2017-12-06

REQUISITOS GENERALES PARA LA  
COMPETENCIA DE LOS LABORATORIOS DE  
ENSAYO Y CALIBRACIÓN

**NORMA TÉCNICA NTC-ISO  
COLOMBIANA 15189**

2014-05-21

LABORATORIOS CLÍNICOS.  
REQUISITOS GENERALES PARA LA CALIDAD Y  
LA COMPETENCIA

## Fases del proceso de verificación de métodos analíticos



**NOTA** El término "método", se puede considerar como sinónimo del término "procedimiento de medición", tal como se define en la Guía ISO/IEC 99.

Evidencia objetiva del cumplimiento de los requisitos del fabricante

## PLANEAR

- Familiarización: Método de Garantía de la Calidad, niveles de detección, tipo de Matriz.
- Que se verifica.
- Cuando hacer la verificación.
- Se establece el **protocolo** de verificación.
  - ✓ precisión y veracidad o exactitud.
  - ✓ Evaluación de interferencias, rango reportable, límites de detección o cuantificación e incertidumbre?
- Alistamiento del muestreo.
- Se establece los tiempos de cada proceso.



- Especificaciones de desempeño para Error Total, para Error Aleatorio y Error Sistemático.
- Definir los experimentos para estimar los errores analíticos.
  - ✓ Repetibilidad.
  - ✓ Precisión Intermedia.
  - ✓ Veracidad.
  
  - ✓ LoD / LoQ
  - ✓ Linealidad
  - ✓ Arrastre
- Diseño experimental según el protocolo

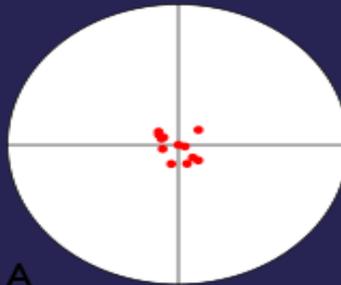


PLANEAR

**EXACTITUD:  
PRECISIÓN Y  
VERACIDAD**

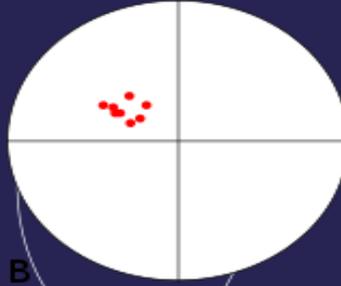


CLSI C24-A4: Control Estadístico de la Calidad para Procedimientos de Medición Cuantitativos: Principios y Definiciones



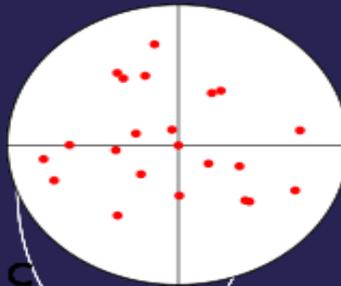
A

**EXACTITUD: PRECISIÓN Y VERACIDAD**



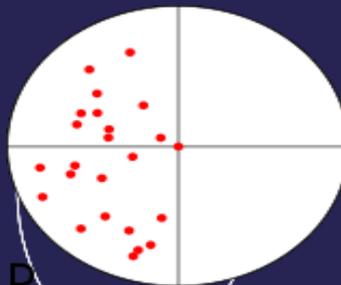
B

**Pierde Veracidad – Precisión**



C

**Veracidad – Pierde Precisión**



D

**Pierde Veracidad –  
Pierde Precisión**

# 20° CONGRESO INTERNACIONAL

CNB COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA

Sostenibilidad, Globalización y Responsabilidad en el Diagnóstico.

Bucaramanga

## HACER, VERIFICAR y ACTUAR

Tabulación de datos

Análisis de la información

Análisis estadístico

Concepto de cumplimiento

Ejecución del protocolo



**Precisión** Bucaramanga



20 r  
20 R

**Precisión y Veracidad**



5x5

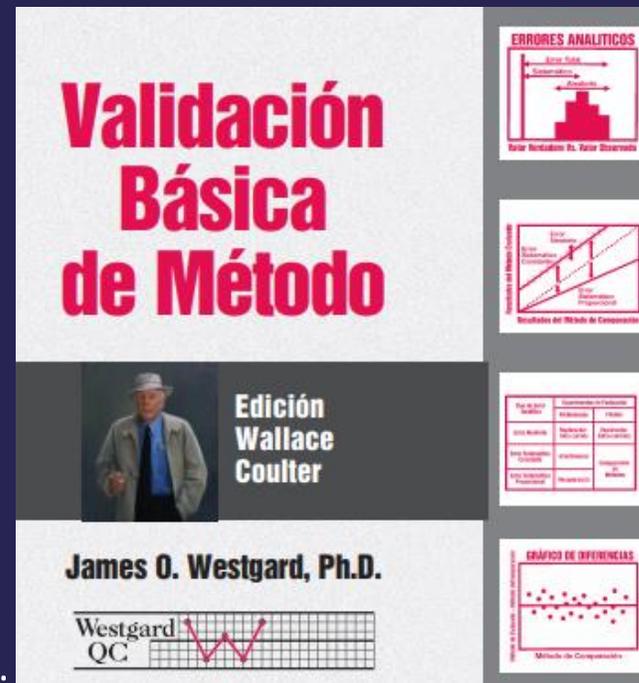
Wilson Ahumada C.

**Protocolos**

**Veracidad**



40Mx



20 r    10 r  
20 R    10 R  
40Mx    20Mx



**CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS**

- Límite de detección: 0,23 mg/dL = 0,0126 mmol/L
- Límite de linealidad: 500 mg/dL = 27,5 mmol/L. Cuando se obtengan valores superiores, diluir la muestra 1/4 con agua destilada y repetir la medición.
- Repetibilidad (intraserie):

Concentración media	CV	n
88 mg/dL = 4,84 mmol/L	1,2 %	20
326 mg/dL = 17,93 mmol/L	0,9 %	20

- Reproducibilidad (interserie):

Concentración media	CV	n
88 mg/dL = 4,84 mmol/L	2,7 %	25
326 mg/dL = 17,93 mmol/L	1,9 %	25

- Sensibilidad: 4 mA·dL/mg = 0,22 mA·L/mmol
- Veracidad: Los resultados obtenidos con estos reactivos no muestran diferencias sistemáticas significativas al ser comparados con reactivos de referencia (Nota 2). Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.
- Interferencias: la hemoglobina (> 3 g/L), la lipemia (triglicéridos >1,25 g/L) y la bilirrubina (10 mg/dL) interfieren.. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir<sup>4</sup>.

Estos datos han sido obtenidos utilizando un analizador. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o realizar el procedimiento manualmente.

Interpretación de Insertos y no morir en el intento

**Características del desempeño<sup>12</sup>**

**Exactitud** . En dos muestras con concentraciones de glucosa iguales a 78 y 150 mg/dL se añadieron cantidades diferentes del analito, obteniéndose en el método de punto final recuperaciones entre el 98 y 99%. El error sistemático proporcional medio obtenido en un valor de 120 mg/dL fue igual a 1,8 mg/dL ó 1,5%.

**Especificidad** . El método propuesto fue comparado con un método similar utilizando 40 muestras con valores situados entre 44 y 606 mg/dL medidas en duplicada. La comparación resultó en la ecuación de regresión  $y = 0,9637x + 2,8$  y un coeficiente de correlación (r) igual a 0,999. El error sistemático total (constante y proporcional) verificado en el nivel de decisión (120 mg/dL) es igual a 1,58 mg/dL o 1,32%. El error total en el mismo nivel de decisión es 4,32%. Como las muestras fueron seleccionadas aleatoriamente en pacientes de ambulatorio y hospitalizados, se puede inferir que el método tiene una especificidad metodológica adecuada y cumple con los requisitos especificados por la American Diabetes Association (ADA)<sup>5</sup>.

**GLUCOSA**  
 Instrucciones de Uso

**Repetitividad - imprecisión intra-ensayo**

	N	Media	DE	CV (%)
Muestra 1	80	47	0,60	1,25
Muestra 2	80	129	1,86	1,08
Muestra 3	80	194	2,81	0,62

**Reproducibilidad - imprecisión total**

	N	Media	DE	CV (%)
Muestra 1	80	47	1,04	2,19
Muestra 2	80	129	1,47	1,82
Muestra 3	80	194	1,88	1,66

## GLUCOSA MR

Método enzimático colorimétrico

PUNTO FINAL

### CARACTERISTICAS ANALITICAS

- **Limite detección:** 0,63 mg/dL
- **Linealidad.** Hasta 500 mg/dL
- **Precisión**

mg/dL	Intraserial		Interserial	
Media	113,3	279,5	113,3	279,5
DE	1,71	2,71	2,76	3,61
CV%	1,5	0,97	2,44	1,29
N	10	10	10	10

- **Sensibilidad.** 3,5 mA/ mg/dL glucosa.
- **Correlación.** Este ensayo (y) fue comparado con un método comercial similar (x). Los resultados fueron los siguientes:  
 $N = 65$      $r = 0,99$      $y = 1,03x - 0,75$

Las características analíticas han sido generadas usando un instrumento automático. Los resultados pueden variar según el instrumento utilizado.

## Glicemia enzimática

Método enzimático para la determinación de glucosa en suero o plasma

### PERFORMANCE

**a) Reproducibilidad:** procesando replicados de las mismas muestras en 10 días diferentes, se obtuvo lo siguiente:

Nivel	D.S.	C.V.
1,00 g/l	± 0,022 g/l	2,37 %
2,00 g/l	± 0,030 g/l	1,50 %

**b) Recuperación:** agregando cantidades conocidas de glucosa a distintos sueros, se obtuvo una recuperación entre 99 y 101%.

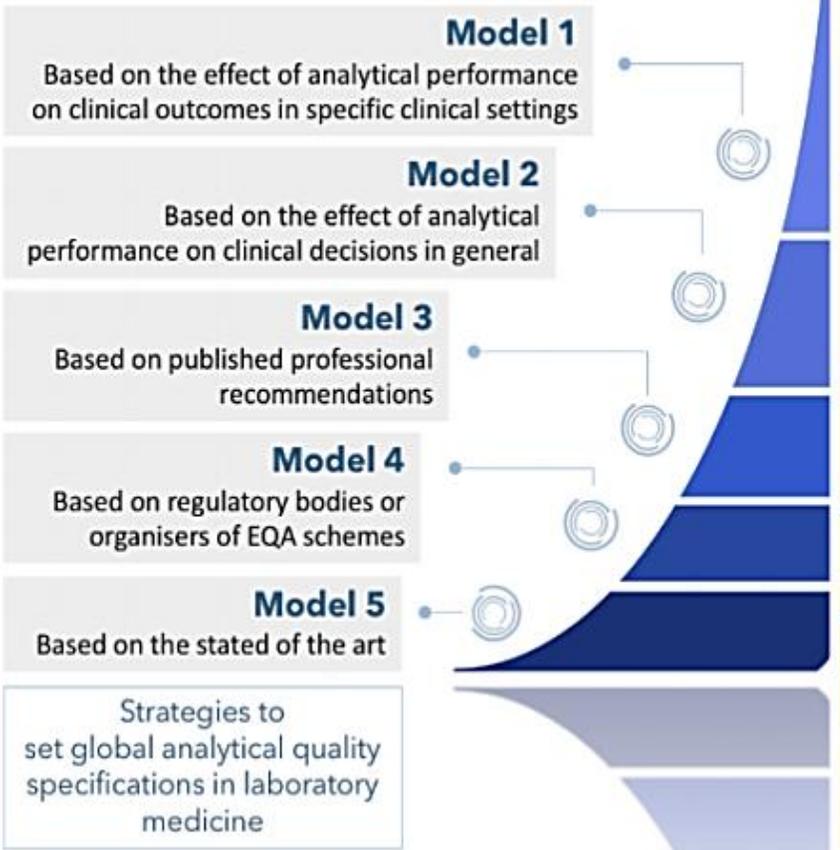
**c) Linealidad:** la reacción es lineal hasta 4,5 g/l. Para valores superiores, diluir 1/2 la solución coloreada final con el Reactivo de Trabajo y repetir la lectura multiplicando el resultado final por dos.

**d) Exactitud:** empleando el método de la hexoquinasa como referencia, se observa que la correlación estadística entre ambos métodos es excelente ( $r = 0,99$ ).

**e) Sensibilidad:** el mínimo límite de detección es 0,0054 g/l y la sensibilidad analítica es de 0,042 g/l.

# METAS DE CALIDAD

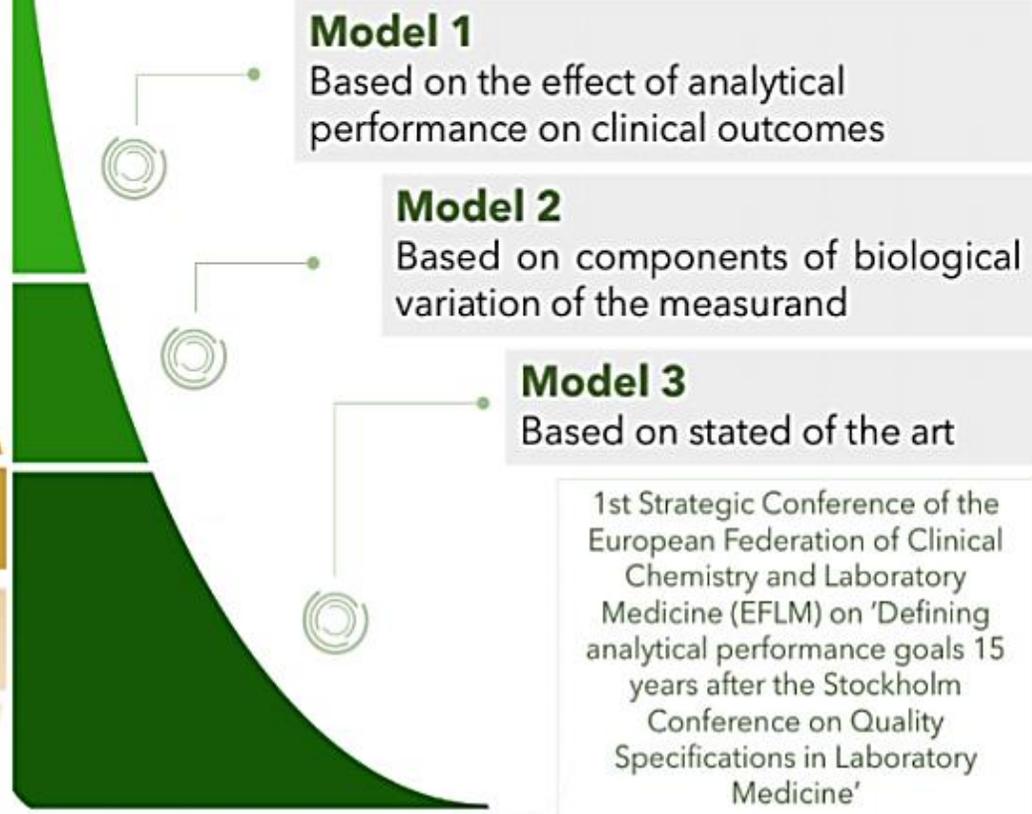
## The Stockholm Conference Hierarchy 1999



## The Milan Conference Hierarchy 2014

**Current Recommendation**

The hierarchy established by Stockholm Conference was simplified



Especificaciones de calidad máximas permitidas

Inserto Glucosa

**Repetitividad - imprecisión intra-ensayo**

	N	Media	DE	CV (%)
Muestra 1	80	47	0,60	1,25
Muestra 2	80	129	1,86	1,08
Muestra 3	80	194	2,81	0,62

**Reproducibilidad - imprecisión total**

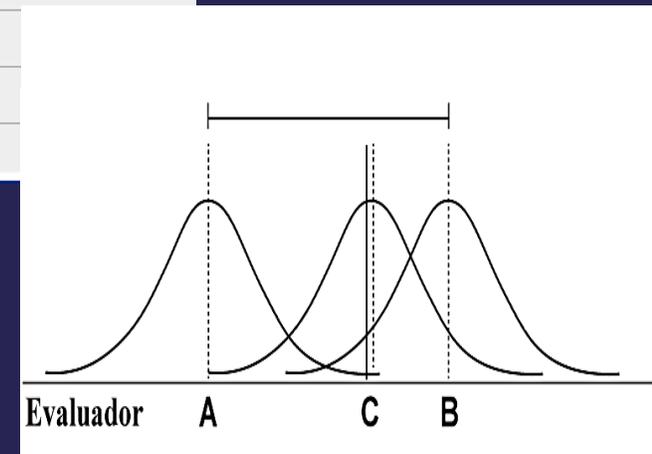
	N	Media	DE	CV (%)
Muestra 1	80	47	1,04	2,19
Muestra 2	80	129	1,47	1,82
Muestra 3	80	194	1,88	1,66

**Abbreviation Source**

1 CLIA	CLIA '88, CLIA
2 WLSH	Wisconsin State Laboratory of Hygiene
3 NYS	Wadsworth Center of the New York State Department of Health
4 CAP	College of American Pathologists (CAP)
5 BV	2004 update of the Spanish Society of Clinical Chemistry and Molecular Pathology (SEQ Variation).
6 AAB	American Association of Bioanalysts (AAB)
7 RCPA	The Royal College of Pathologists of Australasia and the Australasian Clinical Biochemis
8 CFX	Canadian Fixed limits from the College of Physicians and Surgeons of Saskatchewan

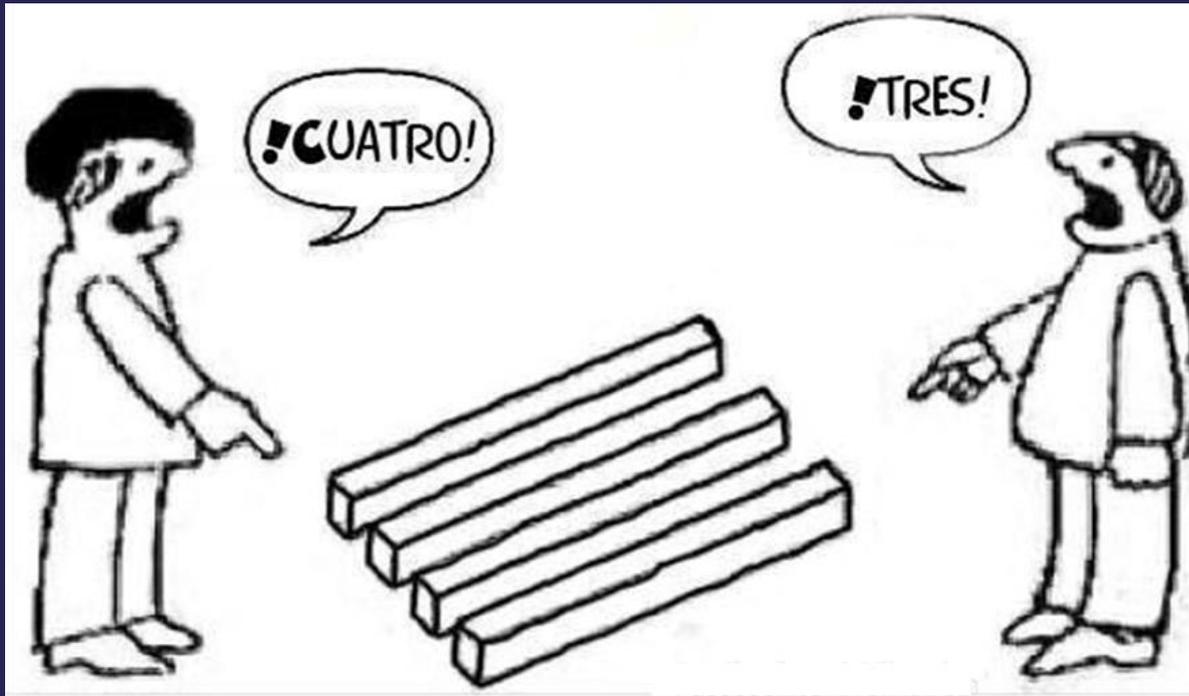
**Glucose**

Analyte	Method	Limit	Source
Glucose		+/- 6 mg/dL or +/- 10% (greater)	1 CLIA, 2 WLSH, 3 NYS, 6 AAB
Glucose	Radiometer 725	10% or 6 mg/dL (greater)	4 CAP
Glucose	AU640	10% or 6 mg/dL (greater)	4 CAP
Glucose		6.3%	5 BV
Glucose		0.5 mmol/L, 10%	7 RCPA



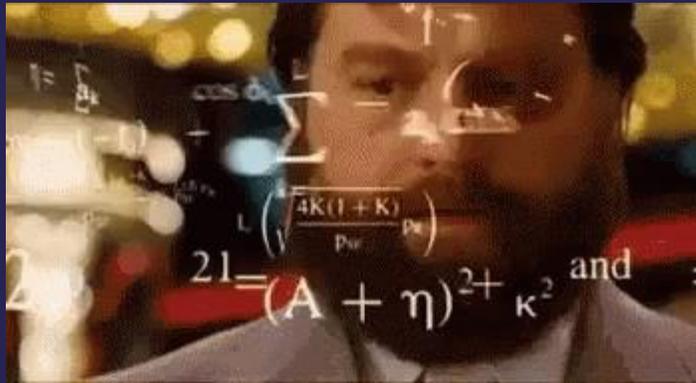
# validación y verificación de métodos analíticos

EL ÉXITO ESTÁ EN FUNDAMENTAR EL PUNTO DE VISTA



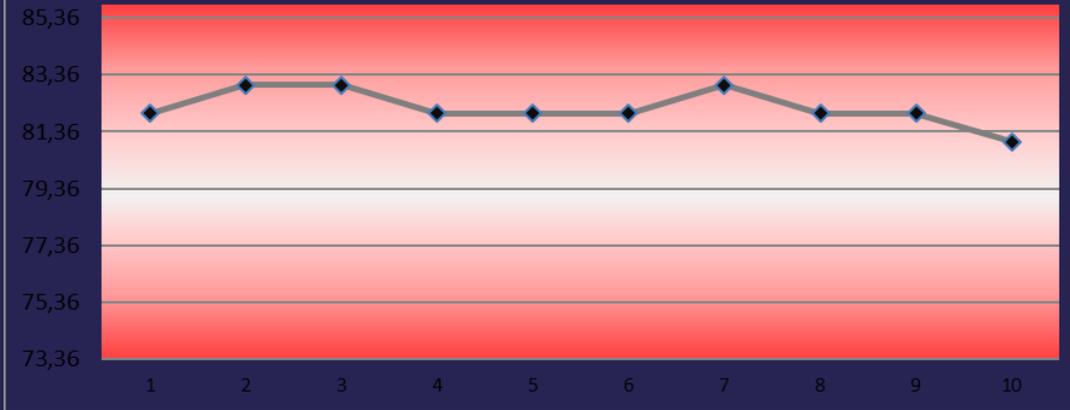
- Para que se debe hacer una verificación?
- Que n debo Usar en la Verificación?
- Debo Verificar todas las pruebas?
- Verifico el Método, el equipo, el reactivo?
- Se puede retrospectiva?
- Como se si cumple o no, la verificación?

## Solución Actual de las verificaciones

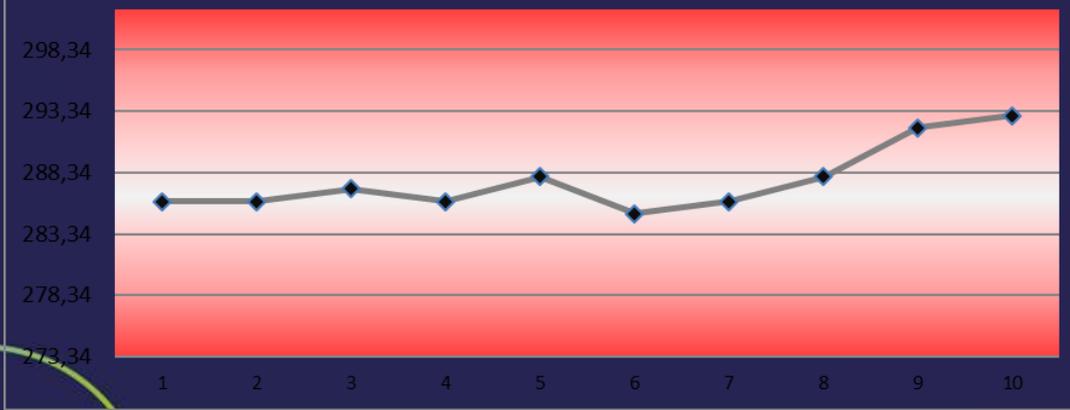


# Métodos Cuantitativos: Evaluar la precisión

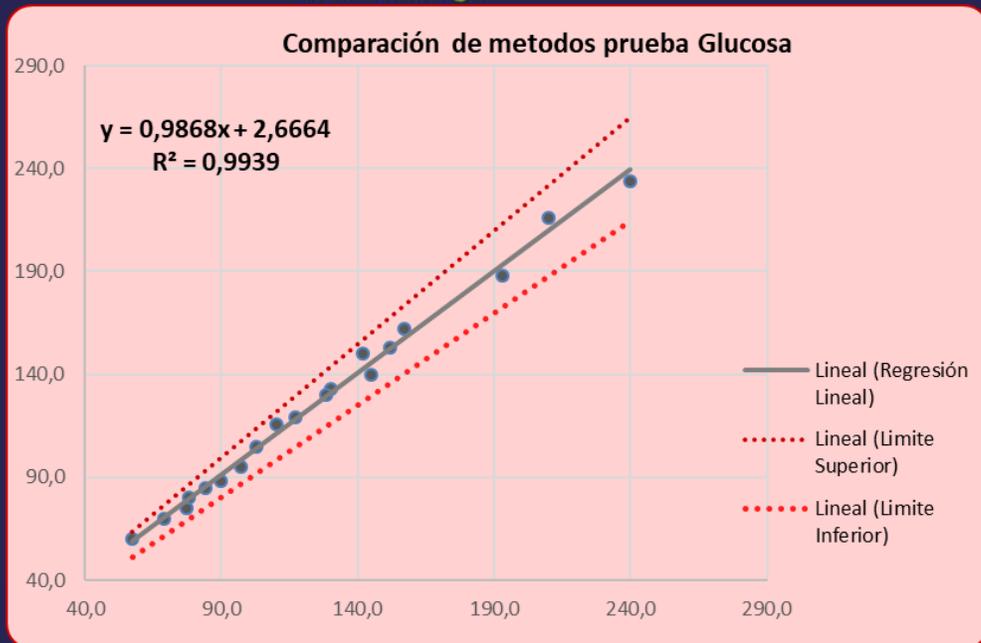
Nivel 1 Test de repetibilidad Glucosa



Nivel 2 Test de repetibilidad Glucosa



TEST DE REPETIBILIDAD				
FECHA DE MONTAJE	MENSURANDO	# de repeticiones	RESULTADO QC	
			NIVEL 1	NIVEL 2
24-ago-21	GLUCOSA	1	82,0	286,0
		2	83,0	286,0
		3	83,0	287,0
		4	82,0	286,0
		5	82,0	288,0
		6	82,0	285,0
		7	83,0	286,0
		8	82,0	288,0
		9	82,0	292,0
		10	81,0	293,0
<b>Datos del Estudio</b>				
<b>MEDIA</b>			82,20	287,70
<b>Desviación estándar (DS)</b>			0,63	2,71
<b>Coefficiente de variación (%)</b>			<b>0,77</b>	<b>0,94</b>
<b>Datos de Inserto</b>				
<b>MEDIA</b>			79,60	287,50
<b>Límite inferior</b>			73,36	273,34
<b>Límite superior</b>			85,84	301,66
<b>Error Total Máximo Permitido por Variabilidad Biológica Nivel mínimo</b>			10,44	
<b>25% del Error Total Máximo Permitido</b>			2,6	
<b>Concepto de Cumplimiento</b>			<b>CUMPLE</b>	



110mg  
 $Y = 0,9868 * 110) + 2,666$   
 $Y = 111,20 \text{mg/dl}$

Wilson Ahumada C.

COMPARACION DE METODOS PARA LA PRUEBA GLUCOSA				
ID DE MUESTRAS	DATOS DEL DM A VERIFICAR	DATOS DEL DM DE REF	Dif mg/dl	Dif %
	RESULTADO (Y)	RESULTADO (X)		
12345	95,0	97,0	-2,0	-2,06%
12346	140,0	145,0	-5,0	-3,45%
12347	85,0	84,0	1,0	1,19%
12348	116,0	110,0	6,0	5,45%
12349	105,0	103,0	2,0	1,94%
12350	70,0	69,0	1,0	1,45%
12351	153,0	152,0	1,0	0,66%
12352	234,0	240,0	-6,0	-2,50%
12353	133,0	130,0	3,0	2,31%
12354	119,0	117,0	2,0	1,71%
12355	216,0	210,0	6,0	2,86%
12356	150,0	142,0	8,0	5,63%
12357	75,0	77,0	-2,0	-2,60%
12358	130,0	128,4	1,6	1,25%
12359	88,0	90,0	-2,0	-2,22%
12360	162,0	157,0	5,0	3,18%
12361	60,0	57,3	2,7	4,71%
12362	188,0	193,0	-5,0	-2,59%
12363	80,0	78,0	2,0	2,56%
INDICADORES	RESULTADOS		METAS DE CALIDAD	CRITERIO DE CUMPLIMIENTO
PENDIENTE	0,987		09 a 1,1	CUMPLE
INTERCEPTO	2,666		0 o maximo dos veces el LoD	CUMPLE
COEFICIENTE DE CORRELACIÓN	0,997		Mayor de 0,97	CUMPLE
ERROR TOTAL MAXIMO PERMITIDO POR VARIABILIDAD BIOLÓGICA				10,44

## Problemática Actual en la Verificación

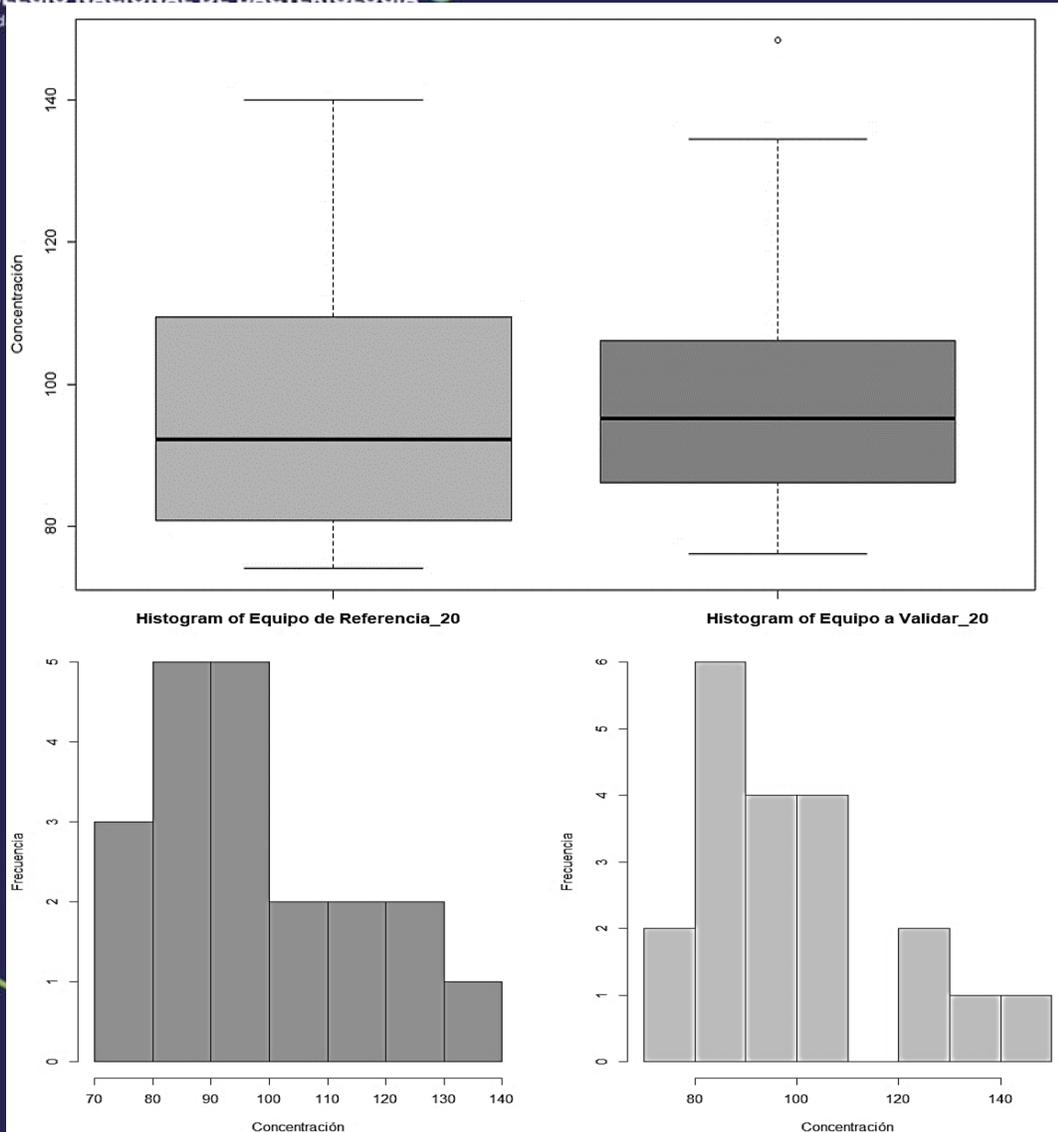
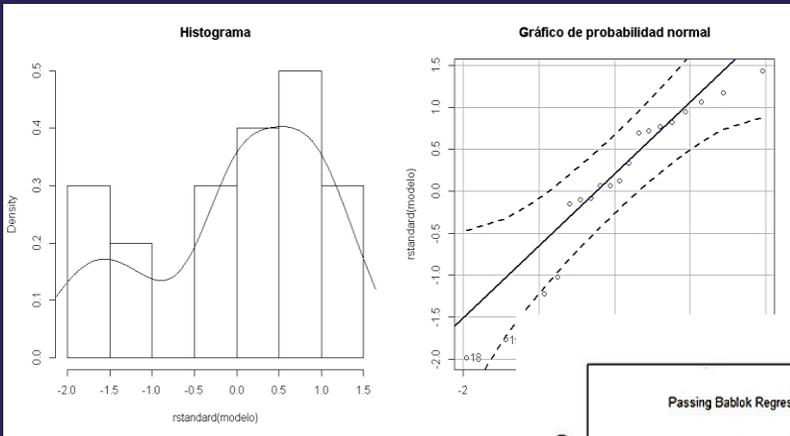


Diagrama de Caja y bigotes e Histograma

ID de paciente	Equipo de Comparacion_20	Equipo a Validar_20
1	81,36	88,40
2	78,70	81,10
3	78,20	86,20
4	91,19	93,50
5	94,62	96,70
6	97,54	100,90
7	100,10	103,20
8	105,40	102,60
9	113,51	109,00
10	118,45	125,90
11	128,83	134,50
12	125,32	123,70
13	139,97	148,30
14	74,11	77,20
15	81,36	76,20
16	80,20	84,50
17	80,18	86,20
18	93,20	86,90
19	91,20	97,50
20	85,89	92,40

## Problemática Actual en la verificación

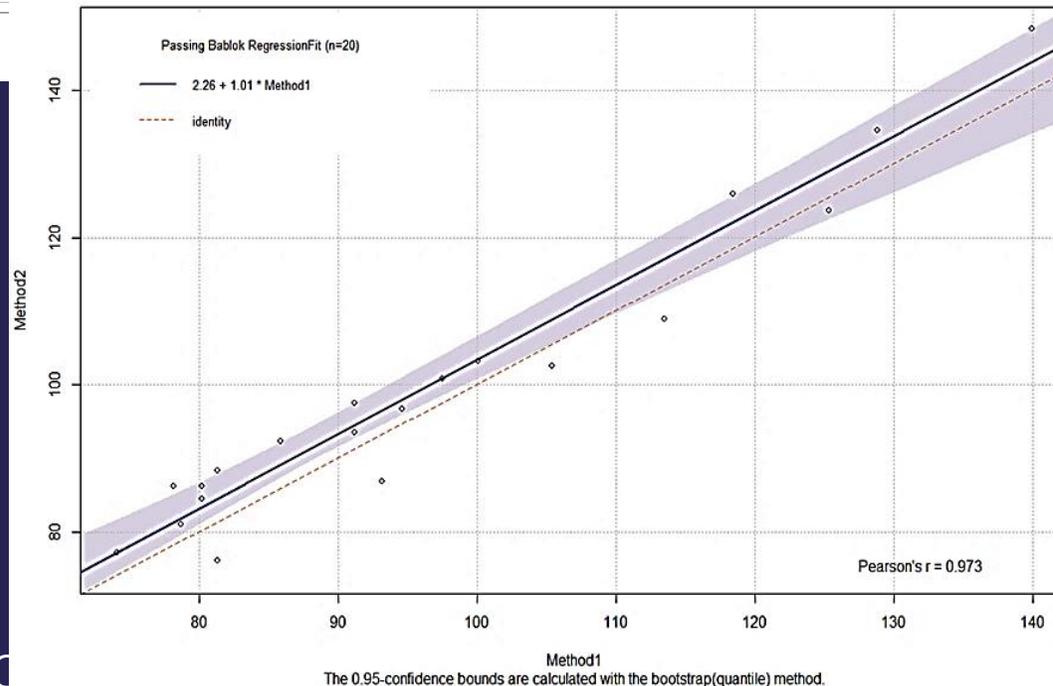
ID de paciente	Equipo de Comparacion_20	Equipo a Validar_20
1	81,36	88,40
2	78,70	81,10
3	78,20	86,20
4	91,19	93,50
5	94,62	96,70
6	97,54	100,90
7	100,10	103,20
8	105,40	102,60
9	113,51	109,00
10	118,45	125,90
11	128,83	134,50
12	125,32	123,70
13	139,97	148,30
14	74,11	77,20
15	81,36	76,20
16	80,20	84,50
17	80,18	86,20
18	93,20	86,90
19	91,20	97,50
20	85,89	92,40



Gráficos de normalidad de residuos

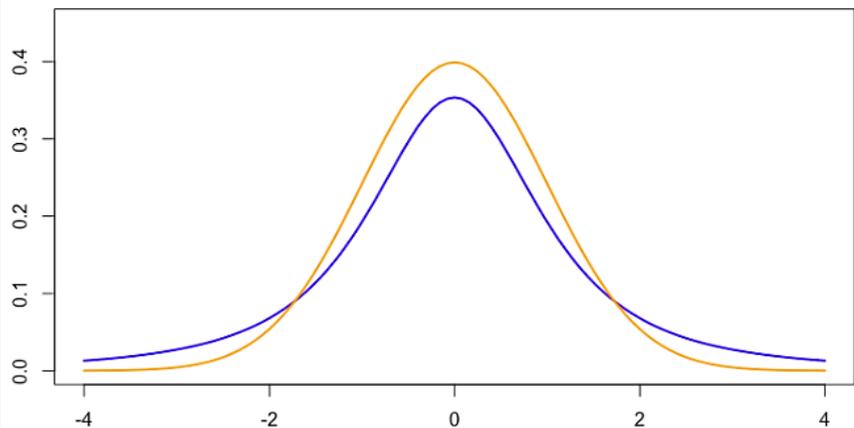
## Regresión de Passing-Bablok

Passing Bablok Regression Fit



- Regresión Lineal simple
- Regresión de Deming
- Regresión de Passing-Bablok
- Grafico de bland altman
- Analsis: T Pareada
- Etc, etc

Distribución t de Student (azul) y distribución Normal estándar N(0,1) (naranja)



## t de Student

Equipo a Verificar XXXX	Criterio Clinico Equipo a Verificar	Método de Referencia XXXX	Criterio Clinico Equipo Ref	Diferencias/ Residuos
1,54	Normal	1,4	Normal	-0,140
1,61	Normal	1,7	Normal	0,120
3,22	Normal	2,8	Normal	-0,420
4,13	Normal	3,9	Normal	-0,230
5,48	Patologico	4,8	Normal	-0,680
<b>3,196</b>	<b>Promedio</b>	<b>2,926</b>	<b>Promedio</b>	<b>-0,270</b>
<b>1,684</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>1,435</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>0,300</b>

## Evaluación de la exactitud

Promedio de las diferencias	-0,27
Desviación Estándar de las Diferencias	0,30
N	5,00
Raíz de N	2,24
DE diferencias / Raíz de N	0,13

$$t = \frac{\bar{D}}{S_D / \sqrt{n}}$$

T Calculado: ((Promedio de las Diferencias / (DE diferencias/ raíz N))	<b>2,01</b>
T Crítico	2,132
Criterio de cumplimiento	<b>CUMPLE</b>

## DESARROLLO DEL INFORME

1. Título
2. Objetivos (Generales y Específicos)
3. Alcance
4. Materiales Usados (Equipos, reactivos, materiales de referencia)
5. Marco Teórico (Especificaciones de Manufactura)
6. Muestras (Acondicionamiento, trazabilidad, garantizar condiciones para la validación)
7. Metodología (Duración del estudio, parámetros evaluados, protocolo de validación)
8. Resultados y Análisis de los Resultados.
9. Conclusiones y Concepto.
10. Bibliografía.

