



21°

**CONGRESO
INTERNACIONAL CNB
COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA**

INTERCULTURALIDAD • INCLUSIÓN • DESARROLLO SOSTENIBLE

M E D E L L Í N

2023

www.congresocnb.com





21°

CONGRESO
INTERNACIONAL CNB
COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA

INTERCULTURALIDAD • INCLUSIÓN • DESARROLLO SOSTENIBLE

MEDELLÍN

2023

Taller Verificación de Métodos Cualitativos. De la Teoría a la Práctica

Yury Andrea Rodríguez Garzón
Octubre 2023

www.congresocnb.com





21°

CONGRESO
INTERNACIONAL CNB
COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA

INTERCULTURALIDAD • INCLUSIÓN • DESARROLLO SOSTENIBLE

MEDELLÍN

2023



Objetivo General

Proporcionar las herramientas prácticas para realizar
la Verificación de Métodos Analíticos cualitativos

www.congresocnb.com





21°

CONGRESO
INTERNACIONAL CNB
COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA

INTERCULTURALIDAD • INCLUSIÓN • DESARROLLO SOSTENIBLE

MEDELLÍN

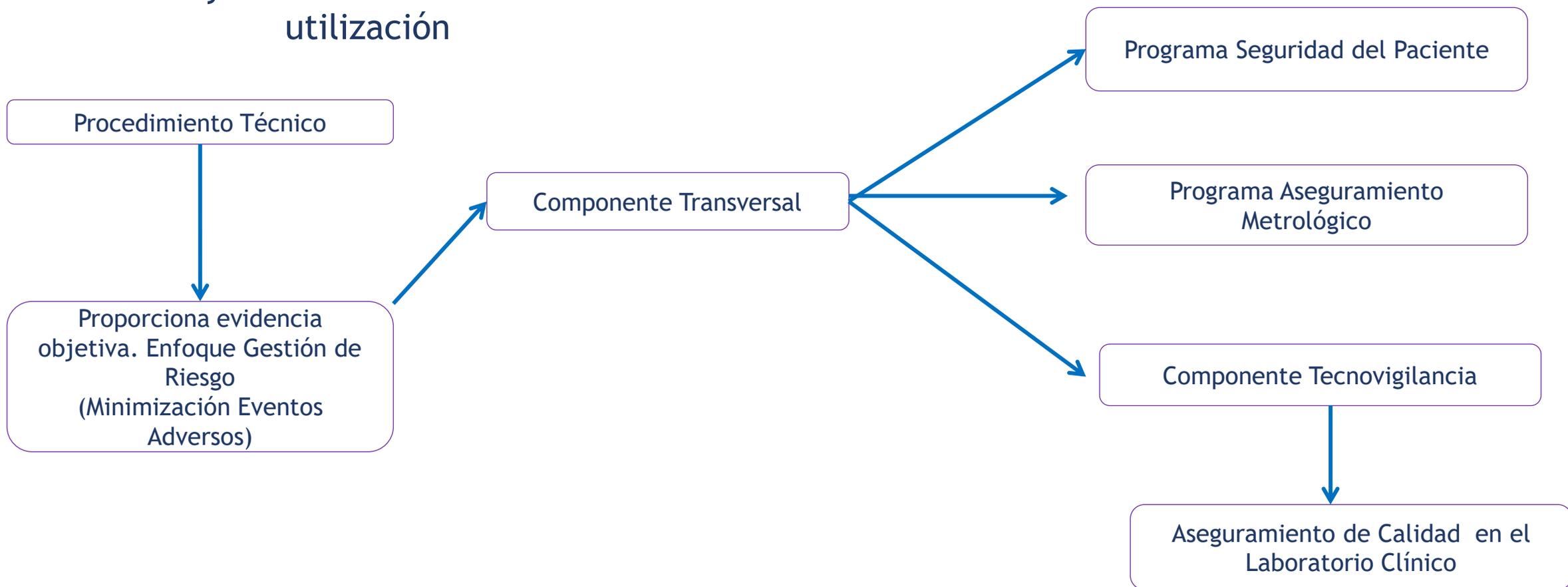
2023

Objetivos Específicos

1. Conceptualizar acerca de la verificación de métodos cualitativos
2. Desarrollar habilidades para ejecutar protocolos de verificación de métodos cualitativos
3. Desarrollar habilidades para la tabulación y análisis de datos cualitativos que permitan emitir un concepto técnico acerca del ejercicio de verificación de métodos cualitativos
4. Proporcionar los aspectos básicos que debe contener un protocolo e informe de verificación de métodos cualitativos



La **Verificación** es un insumo para la gestión integral del recurso tecnológico de cualquier organización, desde su planeación hasta su renovación y el análisis de los efectos en su utilización





21°

**CONGRESO
INTERNACIONAL CNB**
COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA

INTERCULTURALIDAD • INCLUSIÓN • DESARROLLO SOSTENIBLE
MEDELLÍN
2023

- Evaluación de errores
- Comprobar **mediante evidencia objetiva** que un elemento satisface los requerimientos especificados
- Tipos de validación

✓ Generar el informe y las recomendaciones

- ✓ Definición de los métodos a verificar.
- ✓ Protocolo (Tiempo, responsables.
- ✓ Materiales, equipos y reactivos
- ✓ Requisitos de la calidad

Ajustar

Planear

Verificar

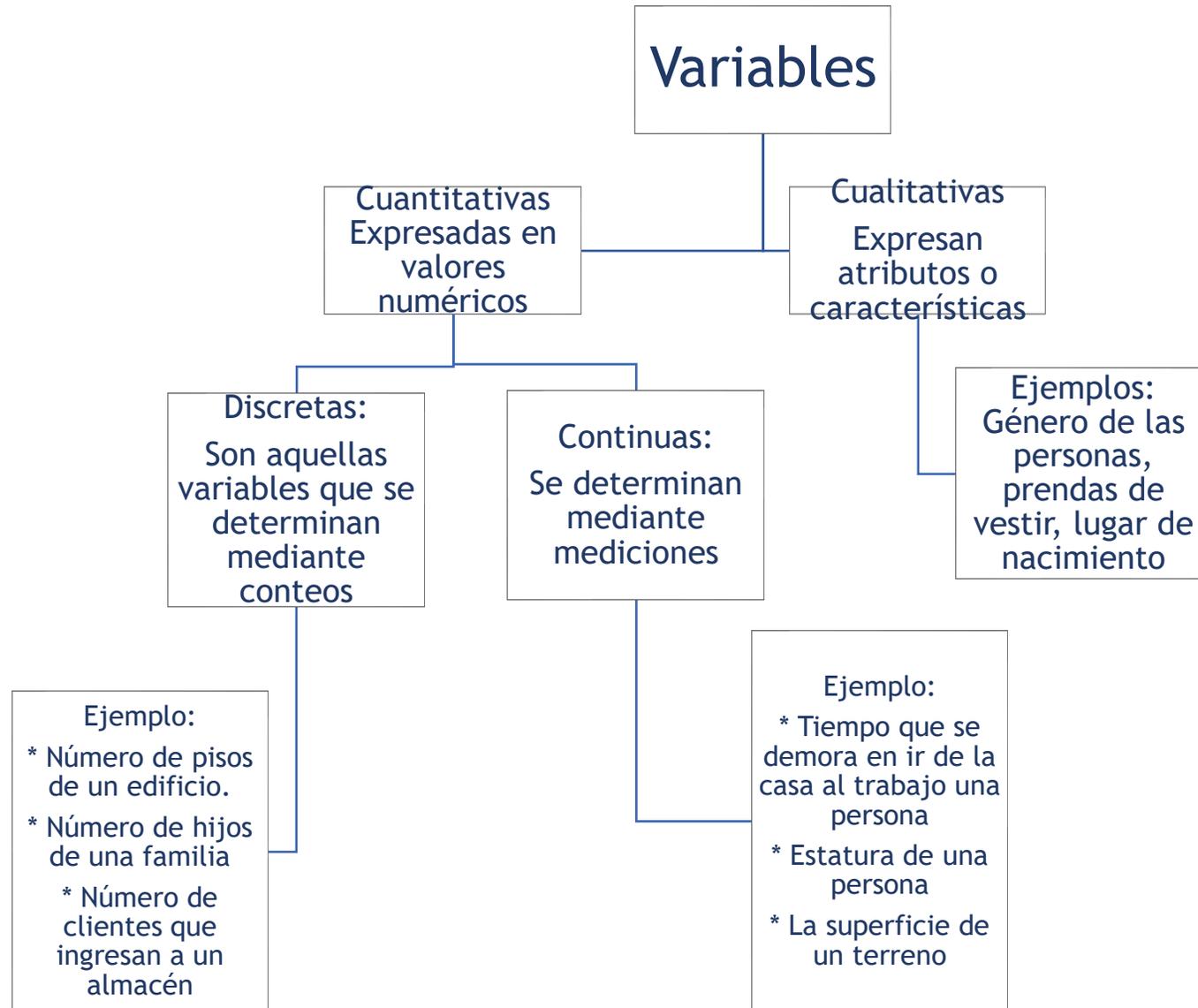
Hacer

- ✓ Análisis de los datos Obtenidos.
- ✓ Inductores Estadísticos

- ✓ Ejecución del protocolo.
- ✓ Aspectos a Evaluar

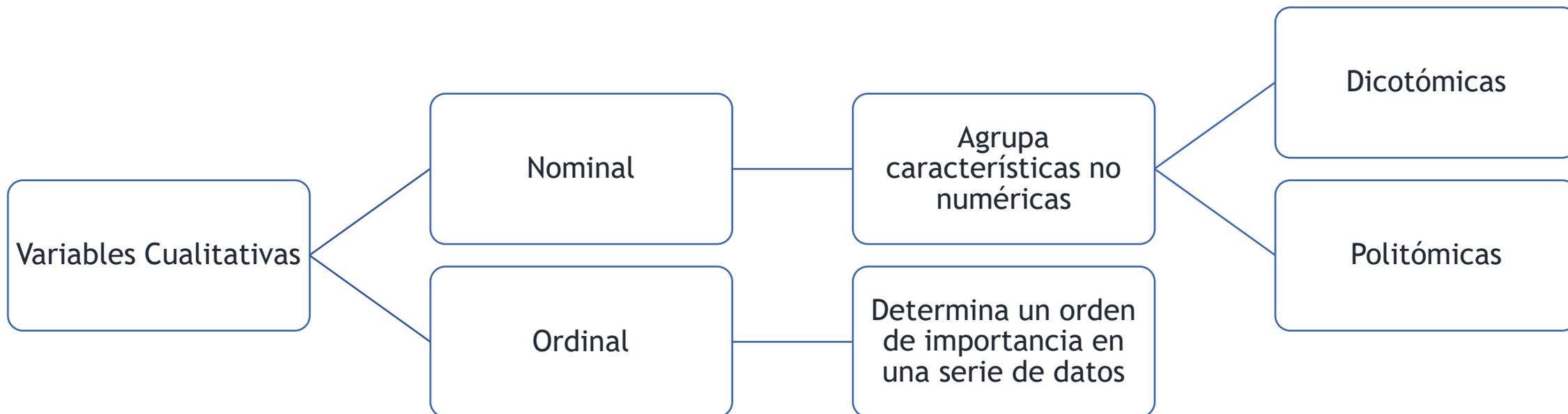


Variables



Adaptado de: Estadística Básica. Bioadviser





Atributos de Validez

Sensibilidad

El porcentaje (fracción numérica multiplicada por 100) de sujetos con la condición objetivo (según lo determinado por los criterios de exactitud diagnóstica) cuyos valores de prueba son positivos

Especificidad

El porcentaje (fracción numérica multiplicada por 100) de sujetos sin la condición objetivo (según lo determinado por los criterios de exactitud diagnóstica) cuyos valores de prueba son negativos;

Atributos de Seguridad

VPP

Probabilidad de tener la **enfermedad**, si el resultado de la prueba diagnóstica es **positivo**

VPN

Probabilidad de no tener la **enfermedad** si el resultado de la prueba diagnóstica es **negativo**.

PREVALENCIA

La frecuencia de una condición de interés expresada como un porcentaje (fracción de números multiplicada por 100) del número total de individuos (aquellos con la condición más aquellos sin la condición de interés) en la población bajo estudio



Falso negativo (FN)



Resultado negativo de una prueba en un individuo que presenta la condición de interés (determinada por un criterio diagnóstico preciso).

Falso positivo (FP)



Resultado positivo de una prueba en un individuo que no presenta la condición de interés (determinada por un criterio diagnóstico preciso).

Verdadero negativo (VN)



Resultado negativo de una prueba en un individuo el cual no presenta la condición de interés (determinada por un criterio diagnóstico preciso)

Resultado positivo de una prueba en un individuo el cual presenta la condición de interés (determinada por un criterio diagnóstico preciso).

Verdadero positivo (VP)



Exactitud como Concordancia con la Clasificación Clínica

Método Estándar de Referencia:

- Sensibilidad (Se)
- Especificidad (Sp)

Método Comparador:

- Porcentaje de Acuerdo Positivo (PPA)
- Porcentaje de Acuerdo Negativo (PNA)

Relevancia Clínica (Concordancia Clínica)



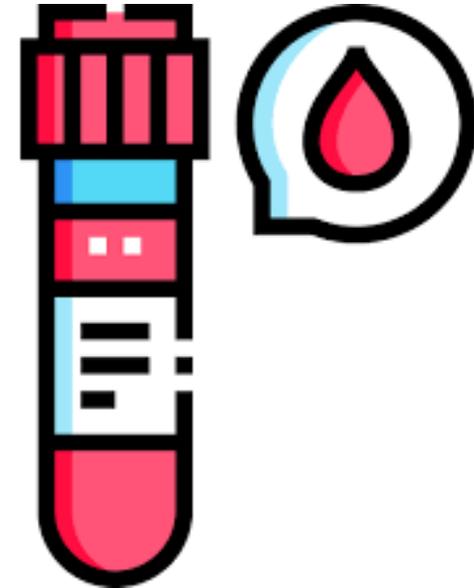
Muestras a Emplear

Características:

- Criterio de exactitud diagnóstica
- Matriz Conmutable
- Distintos niveles de reactividad

Se pueden emplear:

- Muestras de pacientes
- Pooles de muestras de pacientes
- Paneles de Referencia
- Muestras de PT
- Muestras Suplementadas



Número de Muestras

Para las pruebas EUA, la FDA recomendó inicialmente un mínimo de 30 muestras positivas y 30 negativas y, además, declaró que éstas podían ser muestras "artificiales" en las que las muestras de los pacientes podían ser enriquecidas con una muestra o un control altamente inactivo. Posteriormente, la FDA actualizó sus guías para requerir 30 muestras de pacientes con enfermedad y 75 muestras de pacientes sin enfermedad. La EP12 recomienda recoger un mínimo de 50 muestras de pacientes positivas y 50 negativas en condiciones normales (métodos no EUA). Estas recomendaciones son para los fabricantes. Los estudios de verificación de laboratorio suelen incluir aproximadamente la mitad de estas cifras, es decir, de 15 a 25 muestras de pacientes con enfermedad y de 25 a 35 de pacientes sin enfermedad.

Tomado del Libro. Validación y verificación básica del método. J, Westgard. Versión español. 1Ed



Número de Muestras (simuladores) Se, Sp

Número de muestras totales	Límite Inferior IC (95%)	Distribución +/-	Recomendación
25	75.8%	12/13	CLSI EP12 A2*ejemplo documentado
40	86.7%	15/25	Westgard
50	86.7%	25/25	Journal of Clinical Microbiology
60	88.7%	30 /30	FDA - INACAL
100	92.9%	50 /50	CLSI EP12 A3



Porcentaje de Concordancia

Porcentaje de concordancia: Es la primera aproximación a la concordancia entre observadores.

Requisito CLIA >80%

Resultado Esperado (Método Referencia)	Resultado Obtenido (Método a Verificar)
Positivo	Positivo
Positivo	Positivo
Negativo	Negativo
Negativo	Negativo
Positivo	Positivo
Negativo	Negativo
Positivo	Positivo
Negativo	Negativo
Negativo	Negativo
Positivo	Positivo



Taller Número 1: Porcentaje Global de Concordancia

Id Muestra	Método Comparador	Método a Verificar	Id. Muestra	Método Comparador	Método a Verificar
1	Positivo	Positivo	11	Negativo	Positivo
2	Negativo	Negativo	12	Positivo	Positivo
3	Positivo	Positivo	13	Positivo	Positivo
4	Negativo	Negativo	14	Positivo	Positivo
5	Positivo	Negativo	15	Negativo	Negativo
6	Positivo	Positivo	16	Negativo	Negativo
7	Positivo	Positivo	17	Negativo	Negativo
8	Negativo	Negativo	18	Positivo	Positivo
9	Negativo	Negativo	19	Negativo	Negativo
10	Negativo	Negativo	20	Positivo	Positivo



Tabla de Contingencia 2 x 2

Tabla de contingencia	Método comparativo		
Método candidato (Prueba)	<i>Positivo</i>	<i>Negativo</i>	<i>Total</i>
<i>Positivo</i>	a	b	a+b
<i>Negativo</i>	c	d	c+d
<i>Total</i>	a+c	b+d	n

a = Número de resultados en los que ambas pruebas son positivas (también llamados Verdaderos Positivos, TP por sus siglas en inglés)

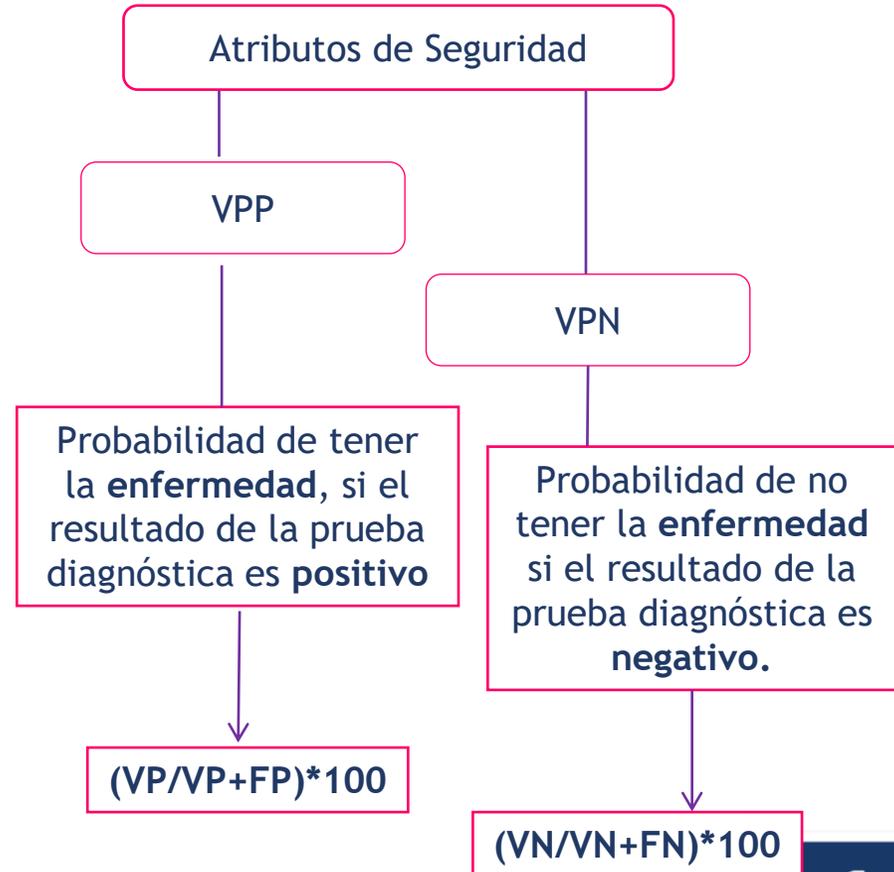
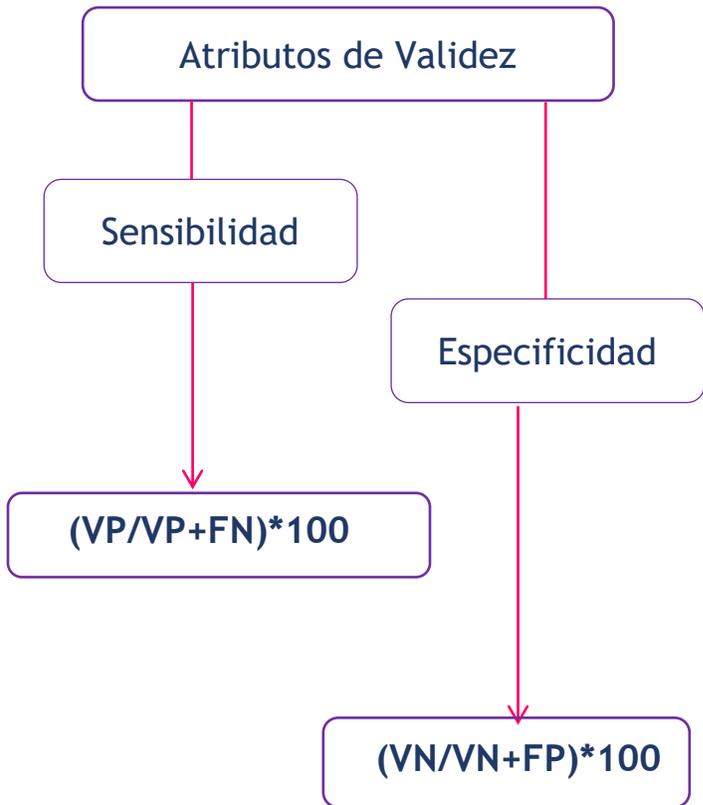
b = Número de resultados en los que el método candidato es positivo, pero el comparativo es negativo (también conocidos como Falsos Positivos, FP).

c = Número de resultados en los que el método candidato es negativo, pero el comparativo es positivo (conocidos como Falsos Negativos, FN)

d = Número de resultados en los que ambos métodos son negativos (Verdaderos Negativos, TN por sus siglas en inglés).



		Método de Referencia		
		Positivo	Negativo	TOTAL
Método a Verificar	Positivo	VP	FP	VP + FP
	Negativo	FN	VN	FN+VN
	TOTAL	VP + FN	FP + VN	VP+FN+FP+VN



		Método de Referencia		
		Positivo	Negativo	TOTAL
Método a Verificar	Positivo	VP	FP	VP + FP
	Negativo	FN	VN	FN+VN
	TOTAL	VP + FN	FP + VN	VP+FN+FP+VN



Concordancia Observada (POA)	$((VP+VN)/ ((VP+VN+FP+FN)*100))$
%Acuerdo Positivo (PPA)	$VP/(VP+FN)*100$
% Acuerdo Negativo (PNA)	$VN/(FP+VN)*100$

$PPA = [a/(a+c)]*100$
 $PNA = [d/(b+d)]*100$
 $POA = [(a+d)/n]*100$

Tabla de contingencia	Método comparativo		
Método candidato (Prueba)	Positivo	Negativo	Total
Positivo	a	b	a+b
Negativo	c	d	c+d
Total	a+c	b+d	n

¿Qué pasa con el grado de acuerdo?

- Dos pruebas podrían estar de acuerdo y ambas estarían equivocadas.
- Dos pruebas podrían coincidir bien, pero ambas tienen poca sensibilidad y especificidad.
- Cuando dos pruebas no están de acuerdo, eso no significa que la nueva prueba es incorrecta y el método comparativo es correcto.
- En algunas situaciones, el acuerdo general puede ser bueno cuando el porcentaje de acuerdo positivo o negativo es muy bajo



Cálculos de límites de confianza del PPA

$$Q1 = 2a + (1.96)^2$$

$$Q2 = 1.96 * [(1.96)^2 + 4a * c / (a+c)]^{1/2}$$

$$Q3 = 2(a+c) + 7.68$$

$$\text{PPA límite bajo} = 100 * (Q1 - Q2) / Q3$$

$$\text{PPA límite alto} = 100 * (Q1 + Q2) / Q3$$

Luego, cálculos similares para el PNA

$$Q4 = 2d + (1.96)^2$$

$$Q5 = 1.96 * [(1.96)^2 + 4bd / (b+d)]^{1/2}$$

$$Q6 = 2(b+d) + 7.68$$

$$\text{PNA límite bajo} = 100 * (Q4 - Q5) / Q6$$

$$\text{PNA límite alto} = 100 * (Q4 + Q5) / Q6$$

Finalmente, cálculos similares para el POA.

$$Q7 = 2(a+d) + (1.96)^2$$

$$Q8 = 1.96 * [(1.96)^2 + 4(a+d)(b+c) / n]^{1/2}$$

$$Q9 = 2n + 7.68$$

$$\text{POA límite bajo} = 100 * (Q7 - Q8) / Q9$$

$$\text{POA límite alto} = 100 * (Q7 + Q8) / Q9$$

Tabla de contingencia	Método comparativo		
Método candidato (Prueba)	Positivo	Negativo	Total
Positivo	a	b	a+b
Negativo	c	d	c+d
Total	a+c	b+d	n



Interpretación

- **Las especificaciones obtenidas deben ser comparables a las que obtuvo el fabricante al momento de validar su procedimiento de medida y que ha publicado en el inserto.**
- **Las especificaciones obtenidas deben ser iguales o superiores al valor del límite inferior del intervalo de verificación del 95 % de la especificación de desempeño declarada por el fabricante.**
- **Muchas veces los fabricantes declaran la especificación y el límite inferior del intervalo de confianza del 95 %.**
- **Esos valores son suficientes para llevar a cabo el protocolo ya que el límite superior no es necesario.**



Sensibilidad Diagnóstica

Sensibilidad Diagnóstica
Estimada

\geq

Límite inferior del IC95% de la
especificación del fabricante

**Verificación
Aceptada**

Sensibilidad Diagnóstica
Estimada

$<$

Límite inferior del IC95% de la
especificación del fabricante

**Verificación
Rechazada**

Especificidad Diagnóstica

Especificidad Diagnóstica
Estimada

\geq

Límite inferior del IC95% de la
especificación del fabricante

**Verificación
Aceptada**

Especificidad Diagnóstica
Estimada

$<$

Límite inferior del IC95% de la
especificación del fabricante

**Verificación
Rechazada**



VPP - VPN

IgG:

Sensibilidad: 90.0%

Especificidad: 97.33%

IgM:

Sensibilidad: 77.0%

Especificidad: 95.73%

PREVALENCIA 5%

Población		1000
Sanos		950
Enfermos		50
IgG	VPP	63.93
	VPN	99.46
IgM	VPP	48.69
	VPN	98.75

PREVALENCIA 10%

Población		1000
Sanos		900
Enfermos		100
IgG	VPP	78.93
	VPN	98.87
IgM	VPP	66.71
	VPN	97.40

PREVALENCIA 40%

Población		1000
Sanos		600
Enfermos		400
IgG	VPP	95.74
	VPN	93.59
IgM	VPP	92.32
	VPN	86.19



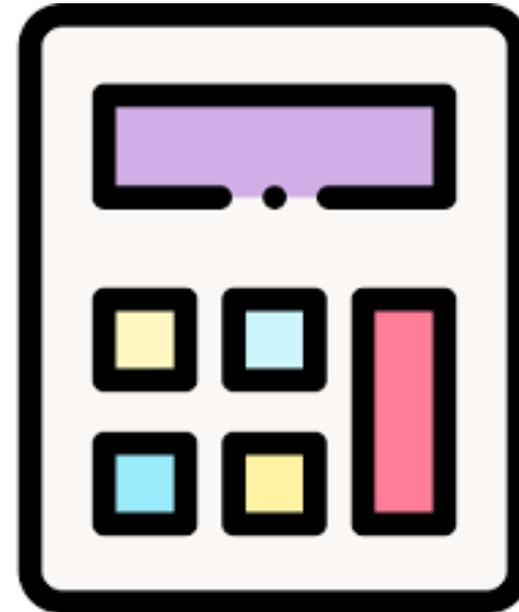
Ejercicio

- Verdaderos Positivos: 285
- Verdaderos Negativos: 222
- Falsos Positivos: 15
- Falsos Negativos: 14

Teniendo en cuenta los anteriores datos, estimar:

1. Porcentaje de Acuerdo Positivo
 2. Porcentaje de Acuerdo Negativo
 3. Porcentaje de Concordancia General
 4. Intervalos de Confianza al 95%
 5. Valor Predictivo Positivo
 6. Valor Predictivo Negativo
- Prevalencia: 20%

<http://tools.westgard.com/two-by-two-contingency.shtml>



2x2 Contingency Calculator

Comparative Method

Candidate Method (test)	Positive	Negative	Total
Positive	<input type="text" value="285"/>	<input type="text" value="15"/>	300
Negative	<input type="text" value="14"/>	<input type="text" value="222"/>	236
Total	299	237	536

Summary statistics

	Percent	Lo Limit	Hi Limit
Positive Agreement PPA	95.3%	92.3%	97.2%
Negative Agreement PNA	93.7%	89.8%	96.1%
Overall Agreement POA	94.6%	92.3%	96.2%
Prevalence	<input type="text" value="20"/>		<input type="button" value="Calculate"/>
Predictive Value Positive	79.1%	69.3%	86.2%
Predictive Value Negative	98.8%	97.9%	99.3%



Índice Kappa

- Son estudios preparados para evaluar el criterio de diferentes observadores o evaluadores en términos de evaluaciones cualitativas.
- El índice kappa relaciona el acuerdo que exhiben los observadores.
- Es deseable que un índice de concordancia tenga en cuenta el hecho y que, de algún modo, indique el grado de acuerdo que existe por encima del esperado por azar. En este sentido, el índice más usado es el propuesto por Cohen y denominado índice kappa (k) que se define como:

$$K = \frac{P_{\text{Observada}} - P_{\text{Esperada}}}{1 - P_{\text{Esperada}}}$$



$$P_o = \frac{a+d}{N}$$

$$P_e = \frac{f_1 \cdot c_1 + f_2 \cdot c_2}{n^2}$$

P observada

Proporción de unidades en las cuales los evaluadores coinciden = proporción en la que los evaluadores concuerdan en resultados buenos + proporción en la que los evaluadores concuerdan en resultados malos

P Esperada

Proporción de acuerdos esperados por oportunidad = (proporción el evaluador A dijo bueno * proporción en que le evaluador B dijo bueno) + (proporción el evaluador A dijo malo * proporción en que le evaluador B dijo malo)



Índice Kappa	Grado de Concordancia
< 0,0	Sin Acuerdo
0,00 - 0,20	Insignificante
0,21 - 0,40	Bajo
0,41 - 0,60	Moderado
0,61 - 0,80	Bueno
0,81 - 1,0	Muy Bueno

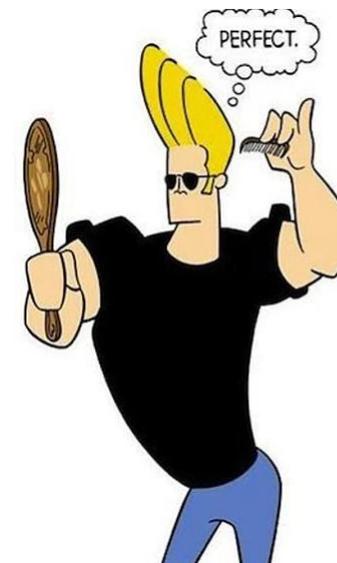


Tabla de Contingencia

		Método de Referencia		
		Positivo	Negativo	TOTAL
Método a Verificar	Positivo	VP	FP	VP + FP
	Negativo	FN	VN	FN+VN
	TOTAL	VP + FN	FP + VN	VP+FN+FP+VN

- Verdadero Positivo (VP)
- Falso Negativo (FN)
- Falso Positivo (FP)
- Verdadero Negativo (VN)
- VP + FN
- FP + VN
- VP + FN
- FN + VN
- n: VP +FN + VN +FP



ANALISIS DE CONCORDANCIA ENTRE LOS METODOS A vs B

		Método de Referencia		
		Positivo	Negativo	Total
Método a Verificar	Positivo	30	0	30
	Negativo	0	75	75
	Total	30	75	105

KAPPA INDICE		
Probabilidad Observada	<i>P_o</i>	1,00
Probabilidad Esperada	<i>P_e</i>	0,59
Indice Kappa	<i>K</i>	1,00
Grado de Concordancia	Muy Bueno	

ANALISIS DE CONCORDANCIA ENTRE LOS METODOS A vs B

		Método de Referencia		
		Reactivo	No Reactivo	Total
Método a Verificar	Reactivo	30	6	36
	No Reactivo	4	40	44
	Total	34	46	80

KAPPA INDICE		
Probabilidad Observada	<i>P_o</i>	0,88
Probabilidad Esperada	<i>P_e</i>	0,51
Indice Kappa	<i>K</i>	0,75
Grado de Concordancia	Bueno	



Ejercicio

- Verdaderos Positivos: 285
- Verdaderos Negativos: 222
- Falsos Positivos: 15
- Falsos Negativos: 14

Teniendo en cuenta los anteriores datos, estimar:

1. Índice Kappa
2. Grado de Concordancia



<https://www.samiuc.es/estadisticas-variables-binarias/medidas-de-concordancia/kappa-de-cohen/>



Taller Número 2: Índice Kappa y Concordancia

COMPARACIÓN DE MÉTODOS PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA DE ÁCIDOS NUCLEICOS VIRALES SARS CoV 2

Numero de Muestra	Comparador: RT PCR Resultado	A Verificar: Prueba isotérmica rápida Resultado
1	Negativo	Negativo
2	Positivo	Positivo
3	Positivo	Positivo
4	Positivo	Positivo
5	Positivo	Positivo
6	Positivo	Positivo
7	Negativo	Negativo
8	Negativo	Negativo
9	Negativo	Negativo
10	Negativo	Negativo
11	Negativo	Negativo
12	Positivo	Positivo
13	Negativo	Negativo
14	Positivo	Positivo
15	Positivo	Positivo
16	Positivo	Positivo
17	Positivo	Positivo

Id Laboratorio	Comparador: Cromatografía de Flujo Lateral para Detección de Antígeno Resultado	A Verificar: Prueba isotérmica rápida Resultado
18	Positivo	Positivo
19	Positivo	Positivo
20	Positivo	Positivo

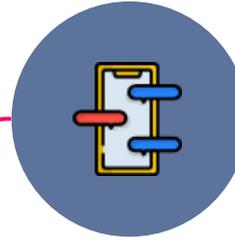


Seis Sigma - Definiciones

Seis Sigma es una metodología para la mejora de los procesos, la cual se basa en realizar análisis estadísticos con el fin de poder reducir o solucionar la causa raíz de un problema

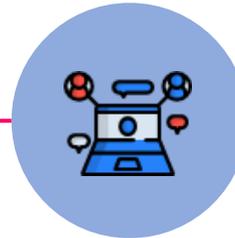


Seis Sigma - Definiciones



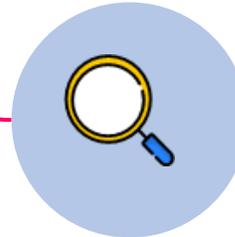
Meta Única

Cero errores en un proceso, es decir 3,4 defectos por millón de oportunidades



Métrica

- Línea base para cualquier medición es siempre un millón.
- DPMO Defectos por Millón de Oportunidades



Reducción de la variación

Máxima precisión. Meta de imprecisión es la sexta parte de la tolerancia admisible



Taller Número 3: Seis Sigma

Empleando las herramientas estadísticas brindadas en clase y con los siguientes datos halle:

1. Porcentaje de Concordancia (global y por acuerdos positivos y negativos)
2. Sigmametría
3. DPMO
4. Realice el análisis de los resultados obtenidos

Id Muestra	Método Comparador	Método a Verificar	Fecha	Método Comparador	Método a Verificar
1	Positivo	Positivo	25	Positivo	Positivo
2	Negativo	Negativo	26	Negativo	Negativo
3	Positivo	Positivo	27	Positivo	Positivo
4	Negativo	Negativo	28	Negativo	Negativo
5	Positivo	Positivo	29	Positivo	Positivo
6	Negativo	Negativo	30	Negativo	Negativo
7	Positivo	Negativo	31	Positivo	Positivo
8	Negativo	Negativo	32	Negativo	Positivo
9	Positivo	Positivo	33	Positivo	Positivo
10	Negativo	Negativo	34	Negativo	Negativo
11	Positivo	Positivo	35	Positivo	Positivo
12	Negativo	Positivo	36	Negativo	Negativo
13	Positivo	Positivo	37	Positivo	Positivo
14	Negativo	Negativo	38	Negativo	Negativo
15	Positivo	Positivo	39	Positivo	Positivo
16	Negativo	Negativo	40	Negativo	Negativo
17	Positivo	Positivo	41	Positivo	Positivo
18	Negativo	Negativo	42	Negativo	Negativo
19	Positivo	Positivo	43	Positivo	Positivo
20	Negativo	Negativo	44	Negativo	Negativo
21	Positivo	Positivo	45	Positivo	Positivo
22	Negativo	Negativo	46	Negativo	Positivo
23	Positivo	Positivo	47	Positivo	Positivo
24	Negativo	Negativo	48	Negativo	Negativo



Taller Número 3: Seis Sigma

Clasificación	No. de muestras	No. Resultados concordantes	No. Resultados no concordantes	% No concordantes	% Concordantes	DPMO	Sigma
Positivo	24	23	1	4.2%	95.8%	41.667	3,3
Negativo	24	21	3	12.5%	87.5%	125.000	2,7

Concordancia Total: 92%

<https://www.westgard.com/six-sigma-calculators.htm>



Kahoot!

<https://create.kahoot.it/details/9c754304-e086-47c2-9f3c-afdd21279bb4>

Índice Kappa y VMA Cualitativos

www.congresocnb.com





www.congresocnb.com



@congreso.cnb



21°

**CONGRESO
INTERNACIONAL CNB**
COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA

INTERCULTURALIDAD • INCLUSIÓN • DESARROLLO SOSTENIBLE

MEDELLÍN

2023

¡Gracias!

www.congresocnb.com

