

Influencia de los programas de evaluación externa de la calidad en la estandarización de las determinaciones enzimáticas

Y. Armendáriz¹, P. Ruigómez², D. Dot², C. Ricós^{1,3}, R. Galimany¹

Resumen

En el programa de evaluación externa de la calidad (bioquímica en suero) organizado por la SEQC se evidenciaron discrepancias entre los resultados obtenidos en dos instrumentos basados en idénticos métodos analíticos, para la determinación de seis magnitudes biológicas. En este trabajo se investigaron sus causas y se plantearon posibles soluciones.

Se seleccionaron dos laboratorios usuarios de cada uno de los instrumentos afectados, centrados en las distribuciones mensuales del programa de la SEQC. Se utilizaron 30 sueros de pacientes para las magnitudes biológicas discordantes: colesterol, creatinina, creatinina cinasa, fosfatasa alcalina (FAL), γ -glutamyltransferasa (GGT) y triglicéridos. Las determinaciones de FAL y GGT se realizaron por duplicado, en dos condiciones de calibración: utilizando el calibrador de rutina y usando un patrón de referencia. Se calcularon las diferencias porcentuales entre ambos instrumentos y se estimó la conmutabilidad entre los sueros de pacientes y los materiales de control interno (Monitrol[®] 1 y 2) y externo (SEQC 1999).

Las discrepancias encontradas para creatinina, creatinina cinasa y triglicéridos fueron de nula trascendencia clínica, las obtenidas para colesterol superaron ligeramente los límites marcados por la variación biológica, y desviaciones del 60% para fosfatasa alcalina y del 30% para γ -glutamyltransferasa obtenidas en la calibración rutinaria se corrigieron al calibrar con un patrón de referencia. La mayoría de los materiales control fueron conmutables para casi todas las magnitudes estudiadas.

Se concluye que las discrepancias entre instrumentos son debidas a la falta de trazabilidad de los calibradores de rutina. Dichas discrepancias se resolverían si los fabricantes de sistemas analíticos utilizaran los patrones de referencia existentes para asignar valores a los calibradores de rutina.

Palabras clave: garantía de la calidad, estandarización, evaluación externa de la calidad.

Introducción

Los programas de evaluación externa de la calidad, también denominados ensayos de intercomparación (*external quality assessment*) o pruebas de aptitud (*proficiency testing*) (1) constituyen una herramienta eficaz para comparar los resultados

Summary

Evidence of discrepancies between the results obtained using two instruments based on identical analytic methods in the determination of six biologic analytes were suspected in the quality assessment program. This work investigates the causes for these discrepancies and suggests possible solutions.

Two laboratories were selected; each used one of the affected instruments and their results were centralized through monthly participation in the SEQC program. The apparently discordant analytes -cholesterol, creatinine, creatine kinase, alkaline phosphatase (ALP), γ -glutamyltransferase (GGT) and triglycerides- were measured in 30 serum samples from patients. ALP and GGT determinations were performed in duplicate using two calibrator conditions: the routine calibrator and a higher-order reference material. The percent differences between the two instruments were calculated and the commutability between the patient sera and the internal (Monitrol[®] 1 and 2) and external control materials (SEQC 1999) was estimated.

The discrepancies encountered for creatinine, creatine kinase and triglycerides were not clinically relevant; those for cholesterol slightly surpassed the limits of biological variation; and desviations of 60% for ALP and 30% for GGT obtained with routine calibration were corrected with the reference calibrator. The majority of control materials were commutable for almost all the magnitudes studied.

We conclude that the disagreement between results from the two instruments is due to an absence of traceability of the routine calibrators. These discrepancies will be resolved when manufacturers of analytic systems use existing higher-order reference materials to assign values to routine calibrators.

Key words: quality assurance, standardization, external quality assessment.

obtenidos por un laboratorio individual con respecto a otros laboratorios del mismo campo profesional y para clasificar la prestación analítica de cada participante. También son útiles para poner de manifiesto similitudes o discrepancias entre métodos analíticos diversos.

El organizador del programa distribuye idénticos materiales control a los laboratorios inscritos, quienes realizan una determinación única de cada una de las magnitudes biológicas incluidas en el programa y remiten el resultado al organizador. Éste prepara un informe donde se muestran los datos del labo-

¹Laboratoris Clínic «Vall d'Hebron». Hospital «Vall d'Hebron». Barcelona; ²Servicio Análisis Clínic. Consorci Hospital Creu Roja. l'Hospitalet. Barcelona; ³SEQC, Comité Garantía de la Calidad y Acreditación de Laboratorios.
Recibido: 5-2-02
Aceptado: 8-11-02

ratorio individual comparativamente con los resultados obtenidos por otros laboratorios usuarios del mismo procedimiento analítico (método, instrumento, reactivo y calibrador); además se muestran los resultados obtenidos por el grupo de métodos con idéntico principio analítico y los resultados de todos los participantes agrupados globalmente.

La Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC) empezó a organizar un programa de bioquímica general en suero hace 20 años (2), ofreciendo actualmente hasta 9 programas distintos, con más de 800 laboratorios inscritos. La Sociedad emite una valoración semestral individualizada para cada laboratorio, en la que se indica la idoneidad o no de los resultados obtenidos para cada constituyente, así como una evaluación anual con la puntuación obtenida por el laboratorio, indicativa de su posición con respecto a todos los participantes, considerando la precisión y exactitud de los resultados.

Adicionalmente, el Comité de Garantía de la Calidad y Acreditación de Laboratorios realiza una evaluación anual de todos los programas, que se publica en la revista de la Sociedad (Química Clínica), donde se comparan la participación, precisión, exactitud y evolución de los métodos utilizados por los laboratorios participantes en los programas. Permanentemente mantiene una línea abierta de comunicación con los usuarios, para resolver las dudas que éstos presentan («Boletín Técnico»).

A través de esta línea abierta los usuarios manifiestan la sospecha de discrepancia de resultados entre procedimientos con amplia representación en los programas de intercomparación. Así, en el programa de Bioquímica en suero existen dos procedimientos basados en idéntico método analítico (laboratorios usuarios del analizador Hitachi-747® (Roche) y del analizador Dimension-Rx® (Dade Behring), que obtienen resultados aparentemente discordantes para algunas determinaciones de bioquímica básica.

El motivo de este trabajo fue investigar las causas de las discrepancias mencionadas y plantear posibles soluciones. Para ello se tuvieron en cuenta no solamente aspectos metrológicos, sino también puntos clave de la fase preanalítica de la actividad del laboratorio.

Material y métodos

Se solicitó la participación de dos laboratorios, usuarios de cada uno de los instrumentos mencionados, con resultados centrados en las distribuciones mensuales del programa de Bioquímica en suero.

El estudio se realizó en dos fases diferenciadas según las condiciones de obtención y preparación de las muestras de pacientes.

En la primera fase se trabajó en las condiciones preanalíticas y analíticas rutinarias de cada laboratorio. Se seleccionaron 30 muestras de suero de pacientes con valores normales y patológicos de seis magnitudes biológicas presuntamente discordantes: colesterol, creatinina, creatinina cinasa, fosfatasa alcalina (FAL), γ -glutamyltransferasa (GGT) y triglicéridos.

Los métodos analíticos utilizados fueron:

- Colesterol: enzimático colorimétrico (CHOD/PAP).
- Creatinina: cinético de Jaffé sin desproteinización.
- Creatinina cinasa: recomendado por la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC), la Sociedad Francesa de

Biología Clínica (SFBC), el Comité de Enzimas de la Asociación Escandinava de Química Clínica y la Sociedad Alemana de Química Clínica (DGKC).

– FAL: optimizado de la DGKC.

– GGT: Szasz-Persijn (L- γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida).

– Triglicéridos: enzimático colorimétrico (GPO/PAP) con glicerol fosfatasa y 4-aminoantipirina.

En la segunda fase se seleccionaron 30 muestras de suero de pacientes (normales y patológicos), en un intervalo de tiempo no superior a las 3 horas desde la extracción. Se determinaron sólo dos magnitudes (FAL y GGT) bajo condiciones preanalíticas muy bien estandarizadas:

– Inmediata congelación de las alícuotas a -20°C tras la selección.

– Intercambio de las alícuotas entre los dos laboratorios manteniendo las condiciones de congelación.

– Análisis inmediato tras la descongelación.

Las determinaciones de FAL y GGT se realizaron por duplicado, en dos condiciones de calibración:

– Calibrador de rutina (*Calibrator for Automated Systems*, Roche y Verificador de Enzimas, Dade-Behring), recomendado por el fabricante del instrumento.

– Material de referencia (CRM 371 para fosfatasa alcalina y CRM 319 para γ -glutamyltransferasa), preparado por la «Oficina Comunitaria de Referencia» (BCR).

Se calculó la regresión lineal de Passing-Bablok (r =coeficiente de correlación, a =ordenada en el origen, b =pendiente) entre ambos instrumentos en las dos condiciones de calibración, y se calcularon las diferencias porcentuales entre Dimension RxL con respecto a Hitachi 747 en ambas condiciones de calibración.

Se estimó la conmutabilidad entre los sueros de pacientes y los materiales control distribuidos por la SEQC en el año 1999, así como la de los controles suministrados por el distribuidor de Dimension-RxL (Monitrol® 1 lotes 153/154 y Monitrol® 2 lotes 253/254), siguiendo el protocolo descrito por Ricós, Minchinela y cols. (3-6). Este protocolo consiste en aplicar la regresión de Passing-Bablok entre los resultados de las muestras de suero obtenidos en Dimension-RxL e Hitachi-747 (método de comparación) y calcular la amplitud del intervalo de confianza (riesgo $\alpha < 0,05$); si el resultado analítico de un material control, proyectado sobre la recta de regresión, queda incluido dentro del intervalo de confianza se considera a dicho material control conmutable con el suero humano.

Resultados

En la figura 1 se representan gráficamente los resultados obtenidos al determinar las seis magnitudes biológicas en los analizadores Dimension-RxL e Hitachi-747, en la primera fase del estudio. En la tabla I se muestran los cálculos de regresión estadística. No se observan discrepancias para colesterol, creatina, creatinina cinasa y triglicéridos entre los dos sistemas analíticos. Sin embargo, los resultados para FAL son considerablemente inferiores y los de GGT son muy superiores en Dimension-RxL respecto a Hitachi-747. También se puede observar la pobre correlación entre ambos instrumentos obtenida en la determinación de GGT (figura 1).

En la tabla II se muestran las regresiones obtenidas en la segunda fase, al determinar FAL y GGT en los dos instrumentos,

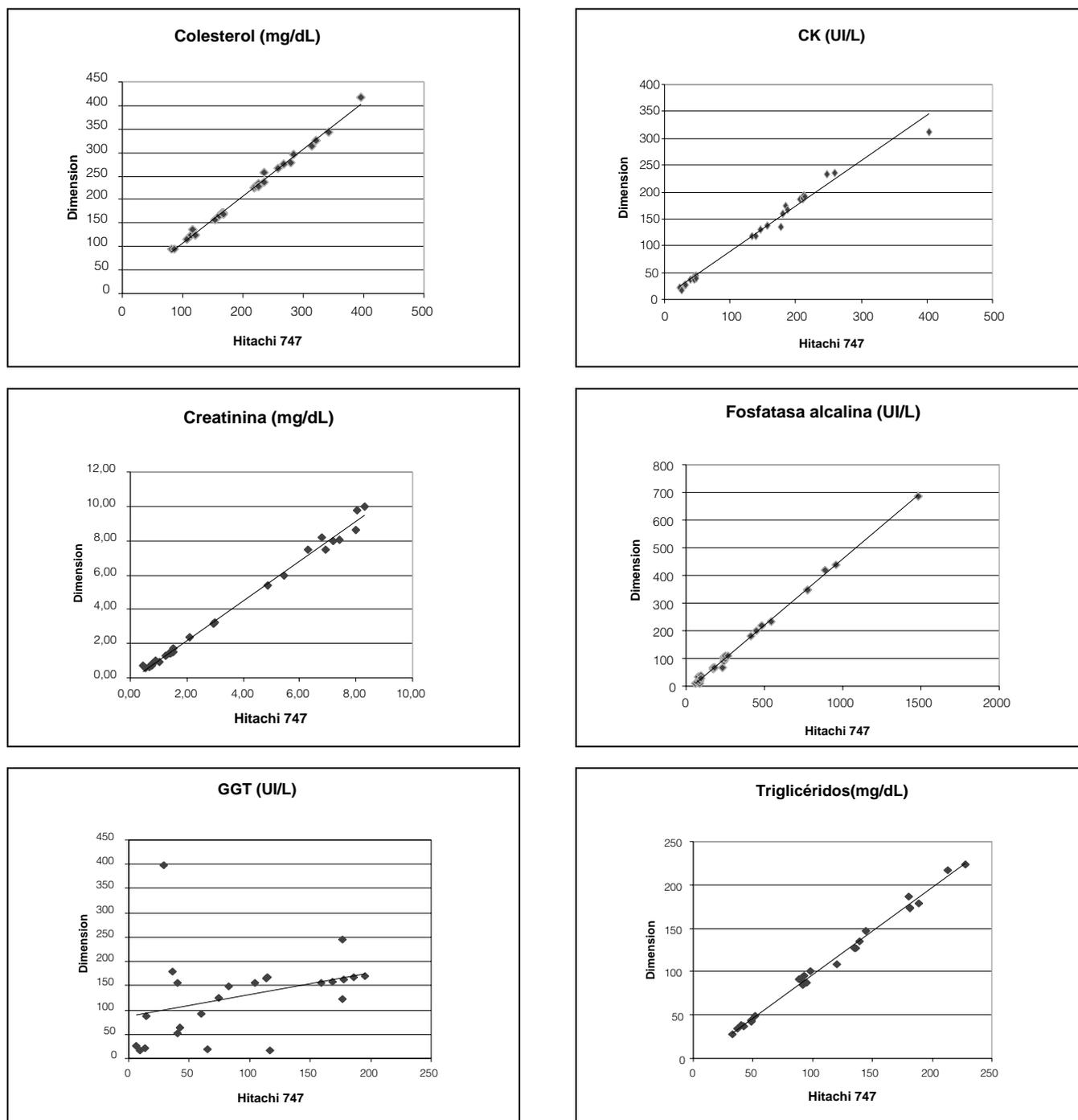


Figura 1. Regresión entre Hitachi-747 y Dimension

Tabla I. Regresión entre Hitachi-747 y Dimension

Magnitud Biológica	r	b	a
Colesterol	0,99	0,99	8,92
CK	0,92	0,91	-3,08
Creatinina	0,94	1,12	-0,09
FAL	0,97	0,46	-3,8
GGT	0,99	1,3	5,3
Triglicéridos	0,52	0,98	-3,42

utilizando el calibrador de rutina y el material de referencia. Existe una diferencia proporcional (pendientes distintas de 1) entre ambos instrumentos, que se corrige al calibrar ambos con el patrón de referencia. También se reduce la diferencia constante (ordenada en el origen) al utilizar este calibrador. En la figura 2 se representan gráficamente los resultados obtenidos para GGT. Se observa como ha mejorado considerablemente la correlación con respecto a la primera fase, al estandarizar las condiciones preanalíticas de los dos laboratorios que realizaron el estudio. En la figura 3 se representan gráficamente las desviaciones porcentuales (DP,%) de los resultados obtenidos en Dimension- RxL con respecto a Hitachi-747, utilizando el calibrador de rutina (símbolo cuadrado) y el material de referencia (símbolo triángulo), al determinar FAL y GGT, respecti-

Tabla II. Regresión entre Hitachi-747 y Dimension en dos condiciones de calibración

Magnitud biológica	Calibrador de rutina	Material de referencia
Fosfatasa alcalina	r = 0,986 b = 0,46 (0,448 – 0,481) a = -3,8 (-9,33 – 0,13)	r = 0,986 b = 0,98 (0,954 – 1,025) a = -2,4 (-6,024 – 0,025)
γ -glutamyl transferasa	r = 0,997 b = 1,3 (1,287 – 1,324) a = 5,3 (4,346 – 7,853)	r = 0,996 b = 0,92 (0,902 – 0,930) a = 3,774 (2,728 – 5,175)

vamente. Con el calibrador de rutina existe una desviación negativa del 60% para FAL y una desviación positiva del 30% para GGT, que se corrigen perfectamente al calibrar ambos con un material de referencia.

En la tabla III se muestra la conmutabilidad entre sueros de pacientes y materiales control. Los cuatro lotes de Monitrol y los cuatro controles distribuidos por la SEQC fueron «no conmutables» con el suero humano para FAL y conmutables para GGT. La mayoría de los lotes de Monitrol y algunos lotes de la SEQC fueron conmutables para colesterol, creatina cinasa y creatinina.

Discusión

El objetivo final de un programa de evaluación externa de la calidad es asesorar al laboratorio individual y también comparar métodos analíticos para mejorar la calidad de las prestaciones del laboratorio clínico. La evaluación del laboratorio individual requiere la comparación entre laboratorios «homogéneos» (mismo principio analítico y mismo método). Si se compara el laboratorio individual con otros laboratorios que usan también el mismo instrumento (asumiendo que al mismo tiempo usarán idéntico reactivo y calibrador) la homogeneidad del grupo es perfecta, pero la potencia estadística de la comparación puede ser pobre si el número de laboratorios es pequeño. Agrupar (asignar el mismo código) a instrumentos distintos basados en el mismo método es lógico, puesto que todos los instrumentos deberían producir idénticos resultados y, además, aumenta el número de laboratorios por lo que se incrementa la potencia estadística de la comparación. La SEQC habitualmente se decanta por esta opción. Sin embargo, si la «homogeneidad» se pierde, los usuarios que están en minoría en un determinado código de método obtienen resultados desviados con respecto a su método de comparación.

Este estudio, en su primera fase, revela que sólo existen discrepancias entre los dos instrumentos comparados para dos (FAL con pendiente de 0,46 y GGT con pendiente de 1,3 y poca correlación) de las seis magnitudes de las que se habían recibido quejas por parte de los laboratorios inscritos al programa. Para las restantes cuatro magnitudes está justificado adjudicar a los dos instrumentos el mismo código de método.

En la primera fase del estudio, los valores de GGT no fueron sistemáticamente superiores en Dimension-RxL respecto a Hitachi-747, sino que presentaron una distribución errática. En la segunda fase se estandarizaron las condiciones preanalíticas y, entonces, la correlación mejoró notablemente. Este hallazgo resalta la importancia de la fase preanalítica en la calidad de los resultados.

Para explicar las discrepancias encontradas en las determinaciones de FAL y GGT, se investigó la trazabilidad de los ca-

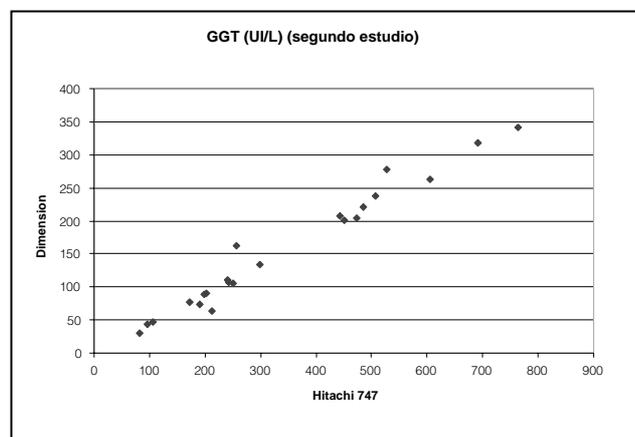


Figura 2. Regresión entre Hitachi-747 y Dimension. Calibrador de rutina

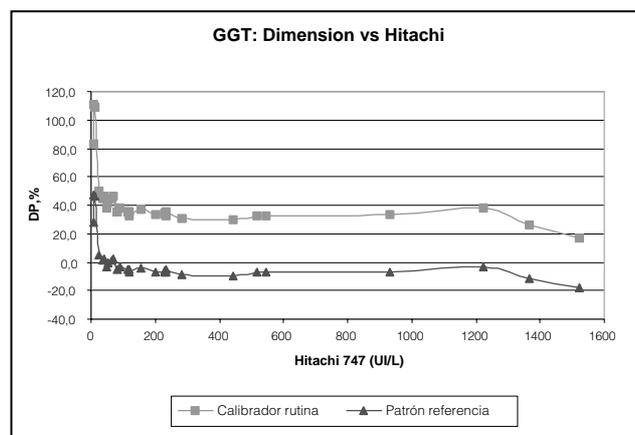
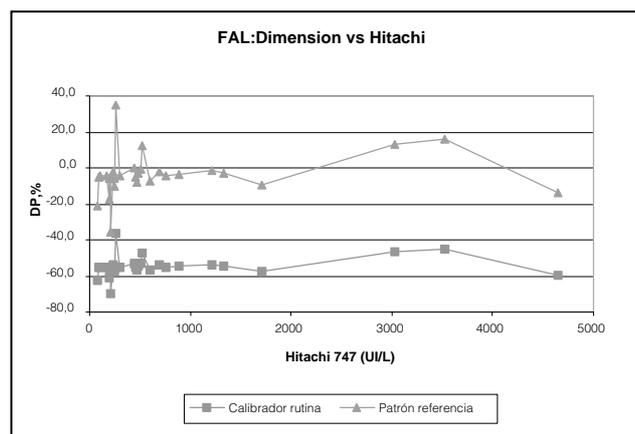


Figura 3. Diferencias porcentuales entre Hitachi y Dimension en las dos condiciones de calibración

libradores de rutina a patrones internacionales. Ninguno de ellos tenía valor asignado mediante el uso de un material o un método de referencia (7,8), y sin embargo para las dos enzimas

Tabla III. Conmutabilidad entre materiales control (Monitrol, SEQC) y suero de pacientes

Magnitud Biológica		Monitrol				SEQC			
Nº Lote		153	253	154	254	1	2	3	4
Colesterol	x	193	155	187	413	114	165	221	264
	y'	199	162	184	374	132	172	241	289
	IC _{sup}	211	172	205	385	131	183	239	283
	IC _{inf}	187	151	182	362	112	161	214	255
	C	C	C	C	C	NC	C	NC	NC
CK	x	129	410	133	413	39	142	195	315
	y'	115	371	118	374	36	127	175	286
	IC _{sup}	120	381	124	385	34	137	182	283
	IC _{inf}	109	359	112	363	26	121	168	273
	C	C	C	C	C	NC	C	C	NC
Creatinina	x	1,2	5,5	1,2	5,4	0,7	1,4	2,6	7,4
	y'	1,2	6,0	1,3	6,0	0,7	1,5	2,8	8,8
	IC _{sup}	1,3	6,3	1,4	6,3	0,8	1,6	2,9	8,6
	IC _{inf}	1,1	5,8	1,2	5,7	0,6	1,4	2,6	7,9
	C	C	C	C	C	C	C	C	NC
FAL	x	195	882	182	739	90	175	242	445
	y'	75	455	79	369	32	85	108	215
	IC _{sup}	21	421	74	350	29	71	104	204
	IC _{inf}	13	393	63	326	20	60	91	108
	C	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
GGT	x	24	70	27	69	40	76	119	203
	y'	38	104	42	102	61	113	174	294
	IC _{sup}	10	70	13	69	92	159	239	394
	IC _{inf}	62	147	67	146	31	78	134	245
	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Triglicéridos	x	88	181	101	156	48	93	137	184
	y'	83	173	96	153	43	87	130	176
	IC _{sup}	76	185	94	154	61	95	140	189
	IC _{inf}	91	163	79	139	39	91	122	165
	C	C	C	C	C	C	C	C	C

x = resultados obtenidos con el instrumento de comparación (Hitachi-747)

y' = resultados obtenidos con el instrumento a estudiar (expresada la recta como $y' = a + bx$)

IC_{sup} = valor superior del intervalo de confianza del 95% de la regresión

IC_{inf} = valor inferior del intervalo de confianza del 95% de la regresión

C = conmutable

NC = no conmutable

existen patrones internacionales preparados por el BCR (9,11). En base a los trabajos de Moss (12,13), en la segunda fase se analizaron las muestras por duplicado para poder recalcular los resultados simulando la calibración con el patrón de referencia.

Utilizando el calibrador de rutina, los resultados de FAL son del orden de la mitad en Dimension-RxL que en Hitachi-747. Con el patrón internacional se corrigen hasta diferencias de un 5%. Se observan, no obstante, algunos resultados distribuidos aleatoriamente, pero el hecho de que corresponden a valores comprendidos dentro del intervalo de referencia, nos hace pensar que esta distribución aleatoria no tiene trascendencia clínica.

Los resultados de GGT con el calibrador de rutina son alrededor de un 30% superiores en Dimension-RxL con respecto a Hitach-747. Igual que en el caso anterior, descienden hasta una discrepancia de un 4% al calibrar con el patrón internacional. Únicamente para valores inferiores a 15 UI/L se mantienen las discrepancias que tampoco creemos tengan ninguna relevancia clínica.

Estos hallazgos ponen de manifiesto la necesidad de que los fabricantes de sistemas analíticos utilicen los patrones existen-

tes para asignar valores a los calibradores de rutina, que son utilizados por los laboratorios asistenciales.

La no conmutabilidad de los materiales control no impide que se ponga de manifiesto las discrepancias que realmente existen cuando se determinan sueros de pacientes por los procedimientos analíticos que hemos comparado.

En conclusión, existen discrepancias entre instrumentos que se resolverían si los fabricantes de sistemas analíticos utilizaran los patrones existentes para asignar valores a los calibradores de rutina. Mientras esto no suceda, el programa de la SEQC debería codificar por instrumento, con lo cual minimizaría también las discrepancias debidas a la no conmutabilidad de los materiales control.

Correspondencia:
Carmen Ricós
Laboratori Clínic «Vall d'Hebron»
Hospital «Vall d'Hebron» (edificio
Hospital General)
Pº Vall d'Hebron, 119
08036 Barcelona
e-mail: cricos@hg.vhebron.es

Bibliografía

1. Libeer JC, Baadenhuijsen H, Fraser CG, Hyltoft Petersen P *et al.* Characterization and classification of external quality assessment schemes (EQA) according to objectives such as evaluation of method and participant bias and standard deviation. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996; 34: 665-378.
2. Ramón F, Alsina MJ, Cortés F, Cava F *et al.* Programas de Evaluación Externa de la Calidad de Bioquímica de la sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. *Quim Clin* 2001; 20: 93-218.
3. Ricós C, Juvany R, Alvarez V, Jiménez CV *et al.* Conmutabilidad entre materiales estabilizados y suero humano para la determinación de la concentración de creatinina. *Quim Clin* 1995; 14: 350-356.
4. Minchinela J, Perich C, Juvany R, Jiménez CV *et al.* Conmutabilidad entre materiales estabilizados y suero humano para la determinación de la concentración de colesterol, glucosa, urato y urea. *Quim Clin* 1995; 14: 357-363.
5. Ricós C, Juvany R, Alvarez V, Jiménez CV *et al.* Commutability between stabilized materials and fresh human serum to improve laboratory performance. *Clin Chim Acta* 1997; 268: 225-238.
6. Ricós C, Juvany R, Jiménez CV, Perich C *et al.* Procedure for studying commutability validated by biological variation. *Clin Chim Acta* 1997; 268: 77-83.
7. Dybkaer R. Reference materials: a main element in a coherent reference measurement system. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1991; 29: 241-246.
8. Buttner J, Cooper R, Siekmann L. Reference methods in clinical chemistry. Objectives, trends, problems. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1991; 29: 221-279.
9. Schielle F, Muller J, Colinet E, Siest G. Production and certification of an enzyme reference material for γ -glutamyltransferase (CRM 319). Part 1: Preparation and characterization. *Clin Chem* 1987; 33: 1971-1977.
10. Schielle F, Muller J, Colinet E, Siest G. Production and certification of an enzyme reference material for γ -glutamyltransferase (CRM 319). Part 2: Certification campaign. *Clin Chem* 1987; 33: 1976-1982.
11. Schielle F, Muller J, Colinet E, Siest G. Certification of an enzyme reference material for alkaline phosphatase (CRM 371). *Clin Biochem* 1991; 24: 159-168.
12. Moss DW. The place of reference materials in clinical enzymology. *Clin Chim Acta* 1988; 173: 1-8
13. Moss DW. Enzyme reference materials: their place in diagnostic enzymology. *JIFCC* 1994;6:6-9. Traducción al español en *Quim Clin* 1994; 13: 261-264.