

Comparación de tres métodos automatizados para la medida con gran detectabilidad de la proteína C reactiva

B. Barceló, I. Llompart, E. Fuentespina

Resumen

Introducción: El objetivo de este estudio fue realizar una comparación de tres métodos disponibles para la medida de la concentración de la proteína C reactiva mediante procedimientos de gran detectabilidad (hsCRP).

Métodos: Estimamos la sensibilidad metrológica y funcional, la precisión, el error total (ET) y la contaminación por arrastre de los métodos para la medida de la proteína C reactiva en los siguientes analizadores: Dade Behring BNII (método de referencia), Beckman Coulter IMMAGE y Olympus AU2700. Realizamos la comparación entre métodos a partir de las muestras de suero de 50 sujetos aparentemente sanos.

Resultados: La sensibilidad metrológica y funcional de los métodos para hsCRP en el BNII, IMMAGE y AU2700 fueron: 0,157 y 0,164; 0,200 y 0,908; y 0,240 y 3,151 mg/L, respectivamente. El IMMAGE y el AU2700 mostraron un error sistemático constante y un error sistemático proporcional, respectivamente, en relación al método considerado de referencia (BNII). El ET del IMMAGE y OLYMPUS AU2700 fue de 35% y 28%, respectivamente. No observamos contaminación por arrastre en ningún método.

Conclusiones: La determinación de hsCRP en el BNII presenta buenas características metrológicas para la estratificación del riesgo cardiovascular en los tres niveles de riesgo propuestos. El IMMAGE, solo permitiría la estratificación de la población para un alto riesgo y el OLYMPUS AU2700 no sería apto para los fines comentados.

Palabras clave: Proteína C reactiva, Riesgo cardiovascular, Inmunoturbidimetría, Inmunonefelometría, Especificaciones de calidad.

Summary. Comparison of three automated high-sensitivity methods for the measurement of C-reactive protein (hsCRP).

Background: The aim of this study was to perform an analytical comparison of three commercially available methods for the high-sensitivity measurement of C-reactive protein (hsCRP).

Methods: We evaluated the Dade Behring BNII (comparison method), the Beckman Coulter IMMAGE and the Olympus AU2700 methods for analytical and functional sensitivity, imprecision, sample-dependent carry-over and accuracy with samples from 50 apparently healthy blood donors. We also determined the Total Error (TE) of hs-CRP measurements.

Results: The analytical and functional sensitivity of the BNII, IMMAGE and AU2700 methods were 0,157 and 0,164; 0,200 and 0,908; and 0,240 and 3,151 mg/L, respectively. The IMMAGE and the AU2700, with respect to the comparison method, had a constant and proportional systematic bias, respectively. TE for IMMAGE and AU2700 were 35% and 28%, respectively. No sample-dependent carry-over could be demonstrated.

Conclusions: The BNII method has a good performance for cardiovascular risk stratification in the three proposed risk levels. The IMMAGE method is only suitable for screening in high risk populations. Finally, the OLYMPUS AU2700 method is not suitable for this aim.

Key Words: C-reactive protein, risk factors, cerebrovascular accidents, immunoturbidimetry, immunophelometry, analytical specifications.

INTRODUCCIÓN

Los accidentes cardiovasculares (ACV) constituyen la principal causa de muerte en los países desarrollados. Tradicionalmente, el cribado a través de la concentración del colesterol sérico se ha utilizado como una herramienta para identificar individuos con un riesgo incrementado de sufrir un futuro evento cardiovascular. Sin embargo, los procesos arterioscleróticos pueden ocurrir en ausencia de hiperlipemia, por lo que se ha concluido que otros factores de riesgo están implicados en el desarrollo de ACV. Recientemente se ha establecido que la inflamación es un proceso fundamental en la patogénesis de la arteriosclerosis en todas sus etapas, iniciación, crecimiento y complicación de la placa arteriosclerótica, considerándose

una respuesta inflamatoria al daño. Existen factores bien conocidos (1) que promueven los procesos arterioscleróticos como son el hábito tabáquico, la hipertensión, las lipoproteínas arterioscleróticas y la hiperglucemia que junto con marcadores proinflamatorios (moléculas de adhesión, citoquinas, leucocitos, eritrosedimentación, reactantes de fase aguda.....) permiten identificar el riesgo de enfermedad cardiovascular en población sana y monitorizar la efectividad del tratamiento.

En una comparación entre diferentes marcadores de inflamación, la proteína C reactiva (PCR) superaba los demás, por su larga vida media, independencia respecto a la edad y el sexo, larga estabilidad y por la disponibilidad de un amplio número de métodos diagnósticos disponibles (2). Inicialmente los métodos de medida de la PCR fueron diseñados para identificar procesos infecciosos e inflamatorios, presentando un límite de detección de 3-8 mg/L. Si tenemos en cuenta que actualmente se postula que existe un riesgo moderado de ACV

Laboratorio El Carmen. Servicio Análisis Clínicos. Hospital Universitario Son Dureta. Palma de Mallorca.

Tabla I. Resumen de las características de los métodos de la proteína C reactiva (hsCRP)

Fabricante	Reactivo	Metodología ^a	Analizador	Linealidad propuesta por el fabricante, ^c mg/L	Límite de detección ^b mg/L	Límite de cuantificación ^b mg/L
Dade Behring	N High Sensitive CRP	IN	BNII	0.175-11	0,157	0,164
Beckman Coulter	CRP High sensitive	IT	IMMAGE	0.200-60	0,200	0,908
Olympus	CRP (latex) sensitive application	IT	AU2700	0.500-20	0,240	3,151

^a IN, Inmunonefelometría, IT, Inmunoturbidimetría

^b Los límites de detección y cuantificación han sido calculados como se describe en el apartado de *Material y Métodos*

^c Intervalo de medida a la dilución inicial

para valores de 1-3 mg/L y un alto riesgo para valores superiores, los métodos tradicionalmente utilizados carecen de una adecuada sensibilidad metrológica para evaluar el riesgo cardiovascular. De acuerdo con esta limitación, se han desarrollado procedimientos para medir la concentración en suero de proteína C reactiva con gran detectabilidad y reproducibilidad que permiten utilizar la proteína C-reactiva como un marcador de riesgo de enfermedad cardiovascular (3).

El objetivo del siguiente estudio fue realizar una comparación de tres métodos disponibles comercialmente para la medida con gran detectabilidad de la PCR (hsCRP).

MATERIAL Y MÉTODOS

Obtención de especímenes

Los especímenes de sangre se obtuvieron por punción venosa tras ayuno de 12 horas en sujetos aparentemente sanos. La sangre se dejó durante 30-60 minutos hasta la formación del coágulo y posteriormente se centrifugó a 2500 g durante 10 minutos a temperatura ambiente. Los sueros obtenidos para los estudios de comparación entre métodos se analizaron inmediatamente después de la llegada al laboratorio, mientras que los sueros para los estudios de precisión se congelaron a -20°C hasta el momento de su procesamiento en la misma serie analítica.

Métodos analíticos

Todas las medidas se llevaron a cabo utilizando los equipos proporcionados por Dade Behring (Marburg, Alemania), Beckman Coulter (San Diego, Estados Unidos de América) y Olympus (Lismeehan, Irlanda). La realización de dichas medidas se llevo a cabo de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes utilizando reactivos específicos para cada uno de ellos.

EL IMMAGE hsCRP (Beckman Coulter) presenta un método inmunoturbidimétrico cinético con lectura NIPIA (*Near-infrared particle immunoassay*) y un láser diodo a 940 nm (4,5). Utiliza un anticuerpo policlonal contra la proteína C-reactiva unido a partículas de látex y realiza una dilución 1:36 para valores hasta 80 mg/L y 1:216 para concentraciones mayores. Para mejorar la sensibilidad metrológica, el tamaño de la partícula de látex está incrementada en tres o cuatro veces. Los calibradores del equipo tienen trazabilidad frente al material de referencia certificado CRM 470 (6).

El principio de medida de hsCRP en el OLYMPUS AU2700 es la inmunoturbidimetría a punto final (7,8). Existen tres apli-

caciones disponibles (normal, sensible y ultrasensible) con el fin de obtener un intervalo de medida de 0,05 a 170 mg/L. Los calibradores del equipo tienen trazabilidad frente al material de referencia certificado CRM 470 (6).

Método de Referencia

El método para la determinación de hsCRP en el BNII (Dade Behring) se consideró de referencia en base a previos estudios clínicos y analíticos (9,10,11). Su principio de medida es la inmunonefelometría a punto final y utiliza un anticuerpo monoclonal unido a partículas de poliestireno (12). La cantidad de luz dispersada entre los 10 y 360 segundos con un láser de 840 nm es directamente proporcional al tamaño del complejo antígeno-anticuerpo y refleja la concentración de hsCRP presente en la muestra a estudio. El BNII realiza una dilución 1:400 para medir concentraciones entre 3,5 y 210 mg/L, una dilución 1:20 para concentraciones inferiores a 3,5 mg/L y una dilución 1:2000 para conseguir concentraciones mayores, asegurando un intervalo de trabajo de 0,17 a 1050 mg/L. Los calibradores del equipo tienen trazabilidad frente al material de referencia certificado CRM 470 (6).

La información de los tres métodos de medida se resume en la tabla I.

Límite de detección y cuantificación

El límite de detección de cada método, se definió como la concentración más baja capaz de diferenciarse de cero ($\bar{x} \pm 2s$) (13, 14) utilizando el calibrador de cero y repitiéndose la medida 20 veces.

El límite de cuantificación (sensibilidad funcional) de cada método, se definió como la concentración de PCR más baja que permitiese asegurar una imprecisión total inferior a un 10% (15).

Precisión

Para realizar los estudios de precisión preparamos una mezcla de suero a partir de muestras de sangre de pacientes recibidos en el laboratorio. Tras procesar la mezcla 10 veces en el BNII se obtuvo una concentración final de 7,633 mg/L (mezcla A). La mezcla original se diluyó con solución de NaCl 9g/L hasta conseguir las siguientes concentraciones: 4,370 (mezcla B); 2,903 (mezcla C); 0,669 (mezcla D) y 0,178 (mezcla F) mg/L, respectivamente.

La imprecisión intraserial (CV_w) se obtuvo midiendo una muestra de cada mezcla 20 veces en una serie y por los tres métodos. La imprecisión interserial (CV_b) se obtuvo midiendo

Tabla II. Resumen del estudio de precisión

Mezcla	hs-CRP BNII				hs-CRP IMAGE				hs-CRP OLYMPUS AU2700			
	\bar{X} mg/L	CV _T %	CV _B %	CV _W %	\bar{X} mg/L	CV _T %	CV _B %	CV _W %	\bar{X} mg/L	CV _T %	CV _B %	CV _W %
A	7,353	11,103	9,863	5,099	7,884	10,011	8,041	5,964	8,223	9,570	7,769	5,588
B	3,978	6,474	4,374	4,773	4,431	12,128	8,979	8,153	4,482	2,199	0,811	2,043
C	2,601	8,533	6,100	5,967	3,128	14,661	10,678	10,047	3,151	5,262	2,141	4,807
D	0,610	5,209	3,964	3,379	0,908	8,439	7,349	4,147	0,852	10,254	6,986	7,506
E	0,376	6,267	5,404	3,173	0,536	18,496	17,994	4,281	0,550	14,814	6,005	13,542
F	0,164	5,967	4,780	3,800	0,241	28,604	13,224	11,942	0,253	30,971	20,363	23,335

CV_T, Coeficiente de variación total, CV_B, Coeficiente de variación interserial, CV_W, Coeficiente de variación intraserial.

una muestra de cada mezcla por duplicado durante 10 días consecutivos y por los tres métodos.

La imprecisión analítica total (CV_T) se calculó mediante la siguiente ecuación: $(CV_w^2 + CV_b^2)^{1/2}$. Se eligió un 10% como límite de imprecisión para una concentración de 0,2 mg/L (15).

Durante el periodo experimental, se procesó un material de control proporcionado por el fabricante de cada método con una concentración de 0,24 mg/L en el BNII, 0,83 mg/L en el IMAGE y 0,20 mg/L en el OLYMPUS 2700, para validar cada serie analítica. Durante la evaluación de los métodos se utilizó el mismo lote de reactivo.

Comparación entre métodos

El estudio de la comparación entre métodos se llevó a cabo comparando los resultados de 50 muestras procedentes de 50 sujetos al procesarlos por los tres métodos en 10 series analíticas, considerando el BNII el método de referencia. El intervalo de concentraciones de PCR fue de 0,2 a 7 mg/L.

La diferencia entre el IMAGE y el OLYMPUS AU2700 respecto al BNII se calculó y se expresó como la media de la diferencia (error sistemático, E_s) y se consideró un 10% como límite de error sistemático (15). El grado de concordancia entre los métodos de medida se valoró mediante el análisis de Bland-Altman (16) y la regresión ortogonal de Deming (17) después de verificar la homocedasticidad de los datos (18) en el intervalo de valores considerado. Además los datos se analizaron mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov y tras comprobar la distribución normal de los datos se realizó la prueba T para datos apareados. La exclusión de datos aberrantes se llevó a cabo por el método de las tres desviaciones estándar. Finalmente, se consideró una $P < 0,05$, como estadísticamente significativa.

Especificación de calidad

La especificación de calidad (EC) escogida fue de un 30% para un valor crítico de 0,2 mg/L, en función de su capacidad de estratificar el riesgo de sufrir una enfermedad cardiovascular, cerebro vascular o vascular periférica. Dicha EC se obtuvo a partir de las especificaciones de calidad para imprecisión e inexactitud (15) definidas en los anteriores apartados a partir de la ecuación: $EC = [E_s (\%) + 1,96 (CV_T)]$ (19, 20). De acuerdo con la declaración de consenso de la reunión celebrada en Estocolmo 24-26 de abril de 1999 para establecer especificaciones globales de la calidad en el laboratorio clínico (21), dicha especificación de calidad debería considerarse de nivel 5 o lo que es lo mismo obtenida a partir de objetivos de prestación analítica basados en el estado del arte utilizando datos

obtenidos de las publicaciones actuales sobre metodología. Se han elegido estas EC debido a la alta variabilidad biológica de la PCR (22), que origina unas especificaciones de calidad menos exigentes según las fórmulas de Fraser CG y cols.

Error Total

El error total (ET) de los métodos evaluados en este estudio respecto al método considerado de referencia se determinó mediante la ecuación: $ET = [E_s (\%) + 1,96 (CV_T)]$, que utiliza el porcentaje de la media de la diferencia de los valores obtenidos en el apartado de comparación de métodos y el CV_T del estudio de imprecisión.

Considerando los resultados de los CV_T de los dos métodos, utilizamos los valores de CV_T del nivel de concentración que definía el límite de cuantificación. Finalmente, el ET obtenido se comparó con la EC.

Contaminación por arrastre

El estudio de contaminación por arrastre entre muestras se realizó en los tres analizadores. Se procesaron tres alícuotas (A₁, A₂ y A₃) procedentes de una mezcla de sueros con una concentración alta de hsCRP ($\approx 83,820$ mg/L) seguidas de tres alícuotas (B₁, B₂ y B₃) de otra mezcla de sueros con concentraciones bajas de hsCRP ($\approx 0,217$ mg/L), repitiendo esta secuencia 5 veces. La contaminación por arrastre se calculó de acuerdo al método propuesto por Haeckel (23).

RESULTADOS

Los límites de detección de los tres métodos evaluados fueron del mismo orden que los establecidos por los fabricantes (tabla I). Los resultados del estudio de precisión se resumen en la tabla II. Solo el analizador BNII demostró una imprecisión $< 10\%$ a una concentración de 0,2 mg/L, que es la especificación de calidad escogida (15), mientras que los analizadores IMAGE y OLYMPUS AU2700 consiguieron unos CV_T de 28,60% y 30,97%, respectivamente a esta concentración. Las tablas III y IV resumen la estadística del estudio de comparación entre métodos. La figura 1 muestra la recta de regresión de Deming y los resultados del análisis de Bland-Altman para los diferentes métodos.

El ET de la hsCRP en el analizador IMAGE fue de 35%, mientras que en el OLYMPUS AU2700 fue de un 28%. Estos porcentajes se han obtenido a concentraciones propias de sus sensibilidades funcionales, que en el caso del analizador IMAGE es de 0,908 mg/L y en el analizador OLYMPUS AU2700 es de 3,151 mg/L.

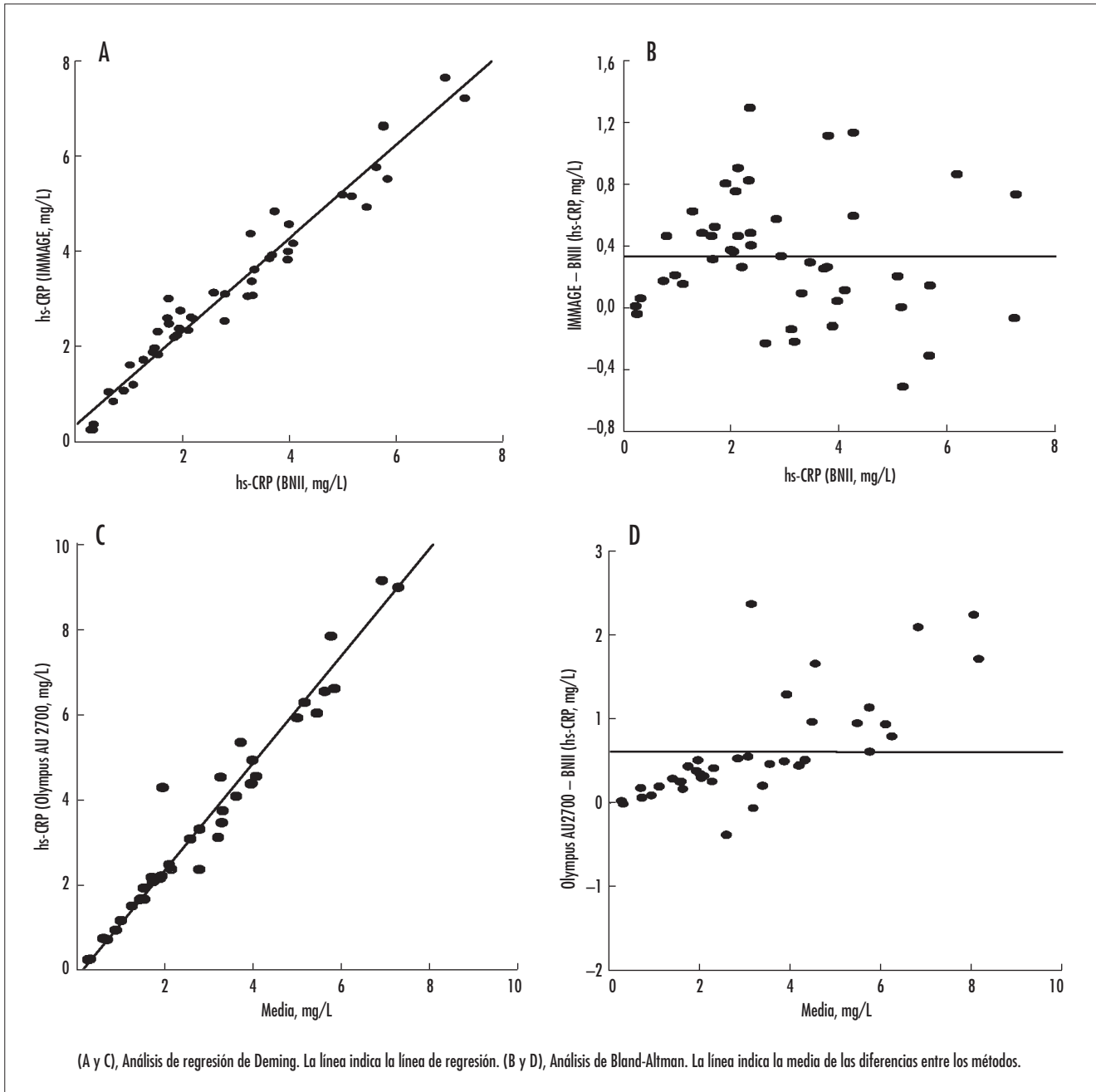


Figura 1 Comparación de métodos con muestras de suero de pacientes.

Tabla III. Resultados de hs-CRP (mg/L) obtenidos de pacientes por los 3 métodos

	n	Media (\bar{X})	s	Max	Min	K-S
BNII	50	2,822	1,794	7,280	0,257	n.s.
IMMAGE	50	3,157	1,758	7,640	0,263	n.s.
OLYMPUS	50	3,554	2,303	9,158	0,284	n.s.

DE: Desviación estándar. K-S: Prueba de Kolmogorov-Smirnov.
n.s.: sin significación estadística ($\alpha=0,05$); Max: Valor máximo, Min: Valor mínimo

No se observó contaminación por arrastre en los tres métodos evaluados.

DISCUSIÓN

Dos de los tres métodos evaluados consiguieron límites de detección igual o menor a 0,2 mg/L (tabla I) pero solo el BNII consiguió la especificación de calidad para la precisión a este nivel de concentración. Por lo tanto, la sensibilidad funcional de la hsCRP en el IMMAGE y OLYMPUS AU2700 es mayor: 0,908 mg/L y 3,151 mg/L, respectivamente. Estos resultados están en concordancia con otros trabajos publicados (15, 24). Cuando se evalúan resultados aislados de hsCRP en la práctica clínica debe considerarse el hecho de que la variabilidad bio-

Tabla IV. Resultados del estudio de comparación entre métodos

	IMAGE vs BNII ^a	OLYMPUS AU2700 vs BNII ^a
N	50	50
Análisis de regresión de Deming		
Pendiente(IC95%)	0,965 (0,890 a 1,039)	1,263 (1,185 a 1,342)
Ordenada origen(IC95%)	0,434 (0,225 a 0,643)	-0,1590 (-0,363 a 0,045)
R	0,976	0,977
S _{y/x}	0,374	0,389
Inexactitud, % (IC95%)	18,55 (-14,052 to 76,666)	17,8429 (-13,574 to 44,770)
Análisis Bland-Altman (IC95%)	0,3350 (0,217 a 0,452)	0,6150 (0,411 a 0,819)
Prueba T	P<0,0001	P<0,0001

^a El método de Dade Behring se consideró como el de referencia.

IC95%: Intervalo para el 95% de confianza

lógica excede la precisión metrológica (25). La imprecisión metrológica es dependiente de la concentración como otros autores demuestran (26). La imprecisión para concentraciones altas en las inmunomedidas pueden estar afectadas por la dilución de la muestra así como por efectos de la matriz; esto sucede especialmente en equipos como el Image, que están diseñados para mediciones de hsCRP.

Las especificaciones de calidad para la exactitud no se alcanzaron en los analizadores IMAGE y OLYMPUS AU2700. Considerando los resultados que la regresión ortogonal de Deming y el análisis de Bland-Altman, el analizador IMAGE y el OLYMPUS AU2700 presentan respectivamente un error sistemático de tipo constante y proporcional, respecto al analizador BNII. El material de referencia certificado CRM 470 se utiliza en los tres métodos, esta característica permite incrementar la transferibilidad de resultados entre métodos y entre laboratorios. De hecho, de acuerdo al Programa de Supervisión Externa de la Calidad de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC), el 74% de los laboratorios utilizan el mismo calibrador para la medida de la PCR en el intervalo de concentraciones clásico (27). Por tanto, creemos que esta característica no parece ser una razón importante que explique las diferencias en cuanto a los errores sistemáticos encontrados entre los métodos. Sin embargo, otros factores deben considerarse en cuanto a las diferencias encontradas entre los métodos como puede ser el reconocimiento de los epítomos, el diseño del análisis y las interferencias.

Especificidad de los anticuerpos utilizados:

Los anticuerpos utilizados para la medida de la hsCRP son específicos para la PCR humana. El analizador BNII utiliza unos anticuerpos monoclonales, mientras que los anticuerpos utilizados por el IMAGE y el OLYMPUS AU2700 son policlonales. Creemos como otros autores (28, 29, 30, 31) que esta característica podría justificar el mejor rendimiento analítico del método del BNII.

Principio de medida:

En base a nuestro estudio, podemos concluir que los métodos inmunoturbidimétricos evaluados en este estudio, no son intercambiables con los métodos inmunonefelométricos.

En general, los métodos inmunoturbidimétricos para la medida de la PCR tanto en el intervalo de medida clásico como en el de gran detectabilidad presentan mayores porcentajes de imprecisión que los métodos inmunonefelométricos

(28). Nuestros resultados confirman este hecho. Sin embargo debido a la mayor flexibilidad de los analizadores de bioquímica para adaptar aplicaciones inmunoturbidimétricas, esta tecnología ha conseguido implantarse en muchos laboratorios clínicos. De hecho, en nuestro medio la inmunoturbidimetría es la metodología más frecuente para la medida de PCR (27). Otra cuestión es si los métodos turbidimétricos son aplicables para la estratificación del riesgo cardiovascular (32). Finalmente, como otros autores piensan (24, 33), cada laboratorio debería tener un método que de forma rutinaria sea capaz de medir la PCR en el intervalo de trabajo clásico y de gran detectabilidad. De los métodos evaluados en este trabajo, el IMAGE no cumple este criterio ya que realiza la determinación de la hsCRP mediante inmunoturbidimetría con un reactivo específico y la medida en el intervalo tradicional se realiza mediante inmunonefelometría con otro reactivo diferente.

En conclusión, en base a nuestro estudio creemos que la medida de hsCRP en el analizador BNII presenta buenas características metrológicas para la estratificación del riesgo cardiovascular en los tres niveles de riesgo propuestos: Bajo (<0,1 mg/L), Intermedio (0,1 a 0,3 mg/L) y Alto (>0,3 mg/L). El IMAGE, solo permitiría la estratificación de la población para un alto riesgo y el OLYMPUS AU2700 no sería apto para los fines comentados.

Finalmente, son necesarios esfuerzos adicionales para conseguir la estandarización entre métodos y por otra parte, las especificaciones de calidad precisan definirse más claramente.

Correspondencia:
Isabel Llompart Alabern.
Laboratorio El Carmen. Servicio Análisis Clínicos.
Hospital Universitario Son Dureta. Palma de Mallorca.
Plza. Carmen, 18, 07003. Illes Balears.
illompar@hds.es

BIBLIOGRAFÍA

- Person TA, Mensah RW, Wayne A, Anderson JL, Cannon RO, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: Application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003; 107: 499-511
- Libby P, Ridker PM. Novel inflammatory markers of coronary risk. Theory versus practice. *Circulation* 2003; 107: 499-511
- Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: Potential for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation* 2001; 103: 1813-18
- Borque L, Bellod L, Rus A, Seco ML, Galisteo-Gonzalez F. Development and validation of an automated and ultrasensitive immunoturbidimetric assay for c-reactive protein. *Clin Chem* 2000; 46: 1839-42

5. Snjezana RK, Schmitz M, Bekers O, Menheere P, van Dieijen-Visser MP. High-sensitive c-reactive protein methods examined. *Clin Chem* 2002; 48: 359-62
6. Whicher J, Ritchie RF, Johnson AM, et al. New International Reference Preparation for proteins in Human Serum (RPPHS). *Clin Chem* 1994; 40: 934-8
7. Sung HJ, Kim JH, Park R, Lee KR, Kwon OH. Evaluation of Denka-Seiken turbidimetric high-sensitivity C-reactive protein assay. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40: 840-5
8. Dupuy AM, Badiou S, Descamps B, Cristol JP. Immunoturbidimetric determination of c-reactive protein (CRP) and high-sensitivity CRP on heparin plasma. Comparison with serum determination. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41: 948-9
9. Ridker PM, Rifai N, Sacks F, Pfeffer M, Moye LA, Goldman S, et al. For the Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. Inflammation, Pravastatin, and risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. *Circulation* 1998; 98: 839-44
10. Ledue TB, Weiner DL, Sipe JD, Poulin SE, Collins MF, Rifai N. Analytical evaluation of particle-enhanced immunonephelometric assays for C-reactive protein, serum amyloid A and mannose-binding protein in human serum. *Ann Clin Biochem* 1998; 35: 745-53
11. Rossi E, Biasucci LM, Citterio F, Pelliccioni S, Monaco C, Ginetti F, et al. Risk of myocardial infarction and angina in patients with severe peripheral vascular disease. *Circulation* 2002; 105: 800-3
12. Rifai N, Tracy RP, Ridker M. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity c-reactive protein assay. *Clin Chem* 1999; 45: 2136-41
13. Fuentes Arderiu X. Detectabilidad, límite de detección y sensibilidad analítica. Educación continuada en química clínica. SEQC 1990; vol13, nº1
14. White GH, Fraser CG. The evaluation kit for clinical chemistry: a practical guide for the evaluation of methods, instruments and reagent kits. *Journal of Automatic Chemistry* 1984; 6: 122-41
15. Roberts WL, Sedrick R, Moulton L, Spencer A, Rifai N. Evaluation of four automated high sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. *Clin Chem* 2000; 46: 461-8
16. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; I: 307-10
17. Martin RF. General Deming regression for estimating systematic bias and its confidence interval in method comparison studies. *Clin Chem* 2000; 46(1): 100-4
18. Paz JM. Estrategias estadísticas para la evaluación de sistemas analíticos. En: M. Martínez. Selección y evaluación de sistemas analíticos. Sociedad española de bioquímica clínica y patología molecular; 1997. p 75-87
19. Fraser CG, Hyltoft PP, Ricos C, Haeckel R. Proposed quality specification for the imprecision and inaccuracy systems for clinical chemistry. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1992; 30: 311-7
20. Krouwer JS. Setting performance goals and evaluating total analytical error for diagnostic assays. *Clin Chem* 2002; 48(6): 919-27
21. Petersen PH, Fraser CG, Kallner A, Kenny D. Strategies to set global quality specifications in laboratory medicine. *Scand J Clin Lab Invest* 1999; 59 (7): 477-8
22. Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV, Minchinela J, Perich C, Simon M. Current database on biological variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest* 1999; 59 (7): 491-500
23. Haeckel R. Recommendations for definition and determination of carry-over effects. *J Auto Chem* 1988; 10:181-3
24. Roberts WL, Moulton L, Law TC, Farrow G, Cooper-Anderson M, Savoie J, Rifai N. Evaluation of nine automated high-sensitivity c-reactive protein methods: Implications for clinical and epidemiological applications. Part 2. *Clin Chem* 2001; 47: 418-25
25. Ockene IS, Matthews CE, Rifai N, Ridker PM, Reed G, Staney E. Variability and classification accuracy of serial high-sensitivity c-reactive protein measurements in healthy adults. *Clin Chem* 2001; 47: 444-50
26. Ledue TB, Rifai N. Preanalytic and sources of variations in c-reactive protein measurement: Implications for cardiovascular disease risk assessment. *Clin Chem* 2003; 49: 1258-71
27. Ramón F, Alsina MJ, Álvarez V, Cava F, Cortés M, Hernández A, et al. VIII Programa de evaluación externa de la calidad de bioquímica clínica (Proteínas) de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (2001). *Química Clínica* 2002; 21: 192-215
28. Rothkrantz-Kos S, Bekers O, Gubbels A, Drent M, Schmitz MPJ, van Dieijen-Visser MP. Evaluation of two new high-sensitivity methods for c-reactive protein. *Ann Clin Biochem* 2003; 40: 398-405
29. Paus E, Nustad K. Immunoradiometric assay for alpha gamma- and gamma gamma-enolase (neuron-specific enolase), with use of monoclonal antibodies and magnetizable polymer particles. *Clin Chem* 1989; 35: 2034-8
30. Bennink R, Van Poppel H, Billen J, Decoster M, Baert L, et al. Serum tissue polypeptide antigen (TPA): monoclonal or polyclonals radio-immunometric assay for the follow-up of bladder cancer. *Anticancer Res* 1999; 19: 2609-13
31. Shahangian S, Fritsche HA, Hughes JI. A double-monoclonal immunoenzymometric assay for alpha 1-fetoprotein modified for increased analytical precision. *Clin Chem* 1987; 33: 583-6
32. Hamwi A, Vukovich T, Wager O, Rumpold H, Spies R, Stich M, Langetcker C. Evaluation of turbidimetric high-sensitivity c-reactive protein assays for cardiovascular risk estimation. *Clin Chem* 2001; 47: 2044-6
33. Vukovich TC, Mustafa S, Rumpold H, Wagner O. Evaluation of a

Rectificación

Publicamos de forma correcta la tabla IV del VIII Programa de Evaluación Externa de la Calidad de Bioquímica (glicohemoglobina) (2004) y publicado en la página 232 del número 4 del volumen 24.

