

CÁPSULAS EN MEDICINA DE LABORATORIO

www.traineecouncil.org

TÍTULO: Verificación de la calibración y linealidad: requisitos reglamentarios y su aplicación en las pruebas de coagulación

PONENTE: Lauren Pearson, DO MPH

Diapositiva 1:

Hola, mi nombre es Lauren Pearson. Soy Profesora Asistente de Patología en el Departamento de Patología de la Universidad de Utah y Directora Médica de los Laboratorios Clínicos en el Hospital y las Clínicas de la Universidad de Utah. Bienvenido a esta Perla en Medicina de Laboratorio sobre la "**Verificación de la calibración y linealidad: requisitos reglamentarios y su aplicación en las pruebas de coagulación**".

Diapositiva 2:

Primero iniciaremos esta cápsula con algunas definiciones pertinentes. La verificación de la calibración es el proceso de evaluar los materiales de una concentración conocida de la misma forma que las muestras de los pacientes para garantizar que el sistema de prueba mide las muestras con precisión en todo el rango reportable. Es diferente a la calibración, que es el proceso de establecer una correlación entre la señal de medición generada por el instrumento y la concentración real del analito en la muestra. Las muestras se pueden analizar por duplicado para la verificación de la calibración, que puede ser ligeramente diferente al proceso de análisis de muestras de pacientes.

Diapositiva 3:

La linealidad se refiere a la relación entre el resultado analítico final de una medición y la concentración del analito que se mide. Esta distinción es relevante porque una gráfica de la concentración de un analito comparado con la señal de medición del instrumento puede no ser lineal. El concepto de "linealidad" no está designado por separado de acuerdo con las Enmiendas sobre Mejoras de Laboratorio Clínico o CLIA, por sus siglas en inglés *Clinical Laboratory Improvement Amendments*. El concepto de rango de medición analítica (RMA) está relacionado con la linealidad.

Cápsulas en Medicina de Laboratorio

Título: Verificación de la calibración y linealidad: requisitos reglamentarios y su aplicación en las pruebas de coagulación

Diapositiva 4:

El rango de medición analítica (RMA) es el rango de valores de un analito que un método puede medir directamente sin ninguna dilución, concentración u otro pretratamiento. La validación del rango de medición analítica (RMA) es un proceso utilizado para verificar la relación lineal entre los resultados analíticos de un método y la concentración del analito en todo el rango de medición.

Diapositiva 5:

La normativa CLIA exige que los laboratorios realicen una verificación de la calibración por lo menos cada seis meses. La verificación de la calibración también está indicada en las siguientes situaciones: siempre que exista un cambio completo en el conjunto de reactivos a un lote nuevo, un mantenimiento preventivo importante o una sustitución de partes críticas del instrumento, la reubicación del instrumento y cuando los datos de control de calidad muestren una tendencia, o bien, se desplacen o estén fuera de los límites aceptables. Los requisitos de la lista de verificación del Colegio de Patólogos Americanos (CAP) desglosan esto en la verificación de la calibración y validación RMA (linealidad).

Diapositiva 6:

¿Cómo pueden los laboratorios cumplir los requisitos reglamentarios? Realizando un experimento de linealidad. El requisito mínimo es analizar tres muestras por duplicado que abarquen el rango de medición analítica (RMA) de la prueba. Las muestras deben incluir un valor mínimo cerca del límite inferior, un valor medio y un valor máximo cerca del límite superior del rango de medición analítica (RMA). La fuente de los materiales, así como los criterios de aceptabilidad para aceptar o rechazar las pruebas durante la verificación de la calibración, son determinados por el director del laboratorio. Pueden utilizarse muestras de pacientes, siempre que desafíen suficientemente los extremos superior e inferior del rango de medición analítica (RMA) y sean de calidad y estabilidad aceptables. Los kits comerciales, los materiales de control, los calibradores de un lote diferente al de la calibración actual, los materiales de pruebas de aptitud y los materiales de referencia son una alternativa al uso de muestras de pacientes, y pueden adquirirse de varios proveedores. Es importante asegurarse de que se utilizan muestras de la matriz adecuada.

Diapositiva 7:

La recalibración de un sistema de prueba con una frecuencia superior a los 6 meses cumple con los requisitos de verificación de la calibración si la calibración incluye muestras con valores bajos, medios y altos cerca del rango de medición analítica (RMA).

Cápsulas en Medicina de Laboratorio

Título: Verificación de la calibración y linealidad: requisitos reglamentarios y su aplicación en las pruebas de coagulación

Diapositiva 8:

La verificación de la calibración es un requisito de CLIA (del inglés, *Clinical Laboratory Improvement Amendments*) - la reglamentación federal de Estados Unidos que establece normas y estándares para el laboratorio clínico, pero ¿por qué es importante? La verificación de la calibración es útil para controlar el rendimiento de la prueba a lo largo del tiempo y mantener la calidad de los resultados. Si la calibración cambia, los resultados de los pacientes cambiarán. También puede detectar problemas de exactitud y precisión antes que los datos del control de calidad o de las pruebas de aptitud. Si el ensayo se muestra no lineal dentro del rango de medición analítica (RMA), el laboratorio es alertado de posibles problemas con los reactivos, la manipulación de las muestras o el propio instrumento. En consecuencia, es posible que el rango de valores notificados en las muestras de los pacientes deba modificarse.

Diapositiva 9:

Estos conceptos resultan cómodos y familiares para muchos laboratoristas de química clínica, pero son de nueva aplicación en otras áreas de la medicina de laboratorio, como las pruebas de trombosis y hemostasia. Esto se debe a que, en el pasado, las pruebas de coagulación eran principalmente pruebas basadas en el coágulo que utilizaban instrumentos que no estaban calibrados para medir la concentración de un analito. La metodología ha evolucionado desde entonces y muchos laboratorios de coagulación utilizan métodos que pueden estar calibrados y medir la concentración de un analito. Por lo tanto, los requisitos de verificación de la calibración se aplican ahora en el laboratorio de coagulación.

Diapositiva 10:

Entre los ejemplos de pruebas que cumplen este criterio se encuentran los métodos de evaluación del impacto ambiental – EIA del inglés *Environmental Impact Assessment*, los métodos inmunoturbidimétricos y los métodos cromogénicos. En esta diapositiva se muestran muchos ejemplos de estas pruebas aplicables, algunos de los cuales suelen estar disponibles en entornos de laboratorios de rutina o en urgencias (stat), así como en entornos de laboratorios de referencia.

Diapositiva 11:

No todas las pruebas de coagulación se calibran, y por lo tanto, estos requisitos no se aplicarán. Algunos ejemplos de pruebas exentas son las pruebas basadas en el coágulo y las pruebas de función plaquetaria.

Cápsulas en Medicina de Laboratorio

Título: Verificación de la calibración y linealidad: requisitos reglamentarios y su aplicación en las pruebas de coagulación

Diapositiva 12:

Ahora pasaremos a aplicar estos conceptos a un ejemplo concreto, el dímero D cuantitativo. En este ejemplo, el rango de medición analítica (RMA) de la prueba es de 0,27-4,0 microgramos por mililitro. El experimento de linealidad que mostraré en las siguientes diapositivas consistió en analizar cinco muestras que abarcaban el rango de medición analítica (RMA), cada una medida por triplicado. Se realizó un análisis de regresión lineal y se calcularon la pendiente y la intersección (intercepto). En este ejemplo, la fuente de las muestras fue un kit producido comercialmente.

Diapositiva 13:

A continuación, se presenta una tabla con los valores medios observados de los datos brutos de las mediciones del dímero D obtenidas para cada muestra. Obsérvese que, para cada muestra, la media de las mediciones observadas se aproxima o es igual al valor esperado.

Diapositiva 14:

Aquí se muestra una gráfica de dispersión de los datos. Se representan cada una de las mediciones individuales de cada muestra. El eje "x" es la concentración esperada de dímero D para cada muestra, y el eje "y" es la concentración medida. Se ajustó a los puntos una línea de regresión lineal con una pendiente de 0.992 y una intersección de -0,001. Los datos parecen ser lineales visualmente, y el gráfico demuestra una dispersión mínima de los puntos de datos, con una cobertura uniforme del rango de medición analítica (RMA) en todo el rango y una cobertura adecuada de los límites en los extremos alto y bajo. Todas las diferencias entre los valores observados y los valores esperados están dentro de los límites de error permitidos. La pendiente y el intercepto indican un sesgo proporcional y constante mínimo.

Diapositiva 15:

A continuación, discutiremos qué hacer si se observa que una prueba no es lineal sobre su rango de medición analítica (RMA), o si se presenta un sesgo o imprecisión inesperados.

Diapositiva 16:

Si los resultados muestran que la prueba no es lineal en todo el rango o incluso en un rango parcial, existen tres áreas en que se deben centrar los pasos de solución de problemas. En primer lugar, revise los pasos de manipulación de las muestras. ¿Se almacenaron adecuadamente las muestras utilizadas para la prueba? Si se utilizó un kit, ¿se siguieron las instrucciones de este? Si se utilizaron muestras de pacientes, ¿se procesaron de acuerdo con el procedimiento operativo estándar antes de las pruebas para garantizar una mezcla y centrifugación adecuadas, o se realizaron otros pasos de procesamiento necesarios? A continuación, examine la fase analítica de la prueba. ¿Se siguieron adecuadamente los procedimientos operativos estándar?

Cápsulas en Medicina de Laboratorio

Título: Verificación de la calibración y linealidad: requisitos reglamentarios y su aplicación en las pruebas de coagulación

¿Se realizó el mantenimiento de los instrumentos según corresponda? ¿Fueron aceptables los resultados del control de calidad? ¿Se utilizaron reactivos dentro de la estabilidad? ¿Se generaron señales o errores en el instrumento durante las pruebas? ¿Las pruebas fueron realizadas por una persona considerada competente para realizarlas? Por último, considere la posibilidad de errores administrativos si los resultados del instrumento se transcribieron a otro archivo para el análisis de datos.

Diapositiva 17:

Es bastante común encontrar situaciones en las que una prueba es lineal en el rango probado, sin embargo, las muestras probadas en el extremo inferior o en el extremo superior del rango de medición analítica (RMA) son problemáticas. Los problemas en el extremo inferior y superior se observan cuando las muestras no se acercan lo suficiente a los límites del rango de medición analítica (RMA), o cuando las muestras desafían adecuadamente los extremos, pero los valores observados son diferentes a los esperados. Para la primera situación, el laboratorio puede necesitar adquirir muestras adicionales cerca del extremo inferior y del extremo superior para su análisis. Si no se puede verificar el extremo inferior o superior del presunto rango de medición analítico (RMA), los laboratorios tienen la opción de utilizar un rango RMA más estrecho. Si los valores observados son diferentes a los esperados, podría darse el caso de que las concentraciones de analitos de las muestras no estuvieran dentro del rango de medición analítico (RMA) del instrumento, por lo que esto también debería verificarse. En el caso de otros problemas con muestras altas o bajas, evalúe las variables preanalíticas, incluyendo la manipulación y la degradación de la muestra. Considere los errores debidos a la recuperación del analito, los protocolos de dilución, etc.

Diapositiva 18:

Una prueba puede resultar lineal, pero mostrar un sesgo inaceptable. El sesgo es evidente cuando el análisis de regresión lineal produce una pendiente que no es igual a 1, un intercepto distinto a cero o diferencias en un gráfico de sesgo. Lo que constituye un sesgo aceptable queda a discreción del director del laboratorio. Investigue las posibles fuentes de sesgo examinando los resultados del control de calidad, los registros de mantenimiento de los instrumentos, los datos de calibración recientes, los procedimientos operativos estándar, las comparaciones entre lotes de reactivos y la calidad de las muestras.

Diapositiva 19:

Una prueba puede resultar lineal, pero mostrar una imprecisión inaceptable. Las posibles manifestaciones incluyen un aumento inesperado de la dispersión en los datos, grandes diferencias entre las réplicas de los especímenes o una desviación estándar que supera el error permitido. Comience la investigación revisando los pasos de manipulación de las muestras y los datos de control de calidad. Si el origen de la imprecisión no es evidente, puede optar por realizar un estudio de precisión simple utilizando un conjunto de muestras, preferiblemente muestras de pacientes, para seguir investigando.

Cápsulas en Medicina de Laboratorio

Título: Verificación de la calibración y linealidad: requisitos reglamentarios y su aplicación en las pruebas de coagulación

Referencias:

Existen numerosos recursos útiles para ayudar a cumplir con los requisitos reglamentarios para la verificación de la calibración y la linealidad, muchos de los cuales se enumeran en esta diapositiva. Además, existe un documento del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI), EP-6, -no citado aquí- que puede ser útil.

Diapositiva 20: Declaraciones

El Dr. Pearson trabaja en la Universidad de Utah y en los laboratorios ARUP.

Diapositiva 21: Gracias en nombre de www.TraineeCouncil.org

Gracias por acompañarme en esta Perla en Medicina de Laboratorio sobre "**Verificación de la calibración y linealidad: requisitos reglamentarios y su aplicación en las pruebas de coagulación**".