



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
POSTGRADO DE BIOLOGÍA APLICADA

CONFIABILIDAD ANALÍTICA EN LA DETERMINACIÓN DE
CREATININA EN SUERO EN LOS LABORATORIOS CLÍNICOS
DE CUMANÁ, EDO. SUCRE

Lcda. Haidee María Guarache Figuera

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO
PARCIAL PARA OPTAR AL TÍTULO DE Magíster Scientiarum EN
BIOLOGÍA APLICADA MENCIÓN TOXICOLOGÍA

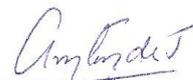
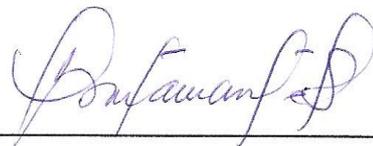
CUMANÁ, 2009

CONFIABILIDAD ANALÍTICA EN LA DETERMINACIÓN DE CREATININA EN
SUERO EN LOS LABORATORIOS CLÍNICOS DE CUMANÁ, EDO. SUCRE

APROBADO POR:



Prof. Luisa Rojas (PhD)
Asesor



INDICE

AGRADECIMIENTO.....	i
DEDICATORIA.....	ii
LISTA DE TABLAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	v
RESUMEN.....	vi
INTRODUCCIÓN.....	1
METODOLOGÍA.....	13
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
CONCLUSIONES.....	76
BIBLIOGRAFÍA.....	78
HOJA DE METADATOS.....	93

AGRADECIMIENTO

A:

Dios, por darme fortaleza en todo momento para poder alcanzar mis metas

Dra. Luisa rojas por su valioso apoyo y asesoría

Al personal de los laboratorios clínicos que aceptaron participar en esta investigación

DEDICATORIA

A:

Mis padres

Mi esposo

Mis hijos Gabriel y Sebastian

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Precisión entre analistas del método modificado de Jaffé para la determinación directa de creatinina en suero.....	34
Tabla 2. Precisión entre instrumentos del método modificado de Ja para determinación directa de creatinina en suero.....	35
Tabla 3. Precisión intermedia del método modificado de Jaffé para la determinación directa de creatinina en suero.....	36
Tabla 4. Determinación del límite de cuantificación del método modificado de Jaffé para la determinación directa de creatinina en suero, de acuerdo a los parámetros estadísticos.....	39
Tabla 5. Diferencia de medias para los patrones de baja concentración de creatinina.....	40
Tabla 6. Linealidad del método modificado de Jaffé para la determinación directa de creatinina en suero.....	42
Tabla 7. Recuperación del método modificado de Jaffé para la determinación directa de creatinina en suero.	44
Tabla 8. Veracidad del método modificado de Jaffé para la determinación directa de creatinina en suero.	46
Tabla 9. Variabilidad del experimento premetroológico del método modificado de Jaffé para la determinación directa de creatinina en suero. .	48
Tabla 10. Incertidumbre estándar del método modificado de Jaffé para determinación directa de creatinina en suero.	51
Tabla 11. Intervalo de confiabilidad de creatinina en los sueros control preparados en el laboratorio.....	54
Tabla 12. Desempeño analítico en los resultados del control “normal” de creatinina de los laboratorios participantes de Cumana,	

estado Sucre.....	61
Tabla 13. Desempeño analítico en los resultados del control “anormal” de creatinina de los laboratorios participantes de Cumana, estado Sucre.....	62
(mg/dl): media, DE: desviación estándar, CV(%): coeficiente de variación, EA(%): error aleatorio, ES(%): error sistemático, ETM(%): error total, DRP(%): desviación relativa porcentual.....	63
Tabla 14. Variabilidad interlaboratorio en la determinación de.....	68
creatinina en suero.....	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Curva de calibración del método modificado de Jaffé para la determinación directa de creatinina en suero.....	31
Figura 2. Precisión por analista e instrumento en el control “normal” y “anormal” de creatinina.....	32
Figura 3. Regresión lineal entre los valores de baja concentración de creatinina.....	41
Figura 4. Linealidad del método modificado de Jaffé para la determinación directa de creatinina en suero.....	43
Figura 5. Regresión lineal entre los valores esperados y medidos de creatinina.	45
Figura 6. Levey-Jennings para el Control “normal” de creatinina.	55
Figura 7. Levey-Jennings para el Control “anormal” de creatinina.	55
Figura 8. Precisión de los laboratorios clínicos en determinaciones de creatinina en suero.....	56
Figura 9. Error aleatorio en los análisis de creatinina por laboratorio.	58
Figura 10. Desviación sistemática para la determinación de creatinina en suero, por los laboratorios clínicos de Cumaná, Edo. Sucre.	65
Figura 11. Youden por laboratorio para las determinaciones de creatinina.....	71
Figura 12. Porcentaje de error total máximo en determinaciones de creatinina por laboratorio.	73

RESUMEN

Con el propósito de evaluar la confiabilidad analítica en la determinación de creatinina en suero, en los laboratorios clínicos de Cumaná, Edo. Sucre; se distribuyeron a un grupo de laboratorios, 2 sueros controles con valores dentro (CN) y fuera (CA) del intervalo de referencia de creatinina, cuyas concentraciones fueron obtenidas a partir de un método modificado de Jaffé previamente validado. La validación del método se realizó mediante la evaluación de la precisión intermedia, veracidad, límite de cuantificación y linealidad, en el laboratorio de control de calidad del Departamento de Bioanálisis de la Universidad de Oriente. El cálculo de la precisión se realizó mediante el uso de dos sueros controles comerciales dentro y fuera del intervalo de referencia. Con los resultados se determinó el coeficiente de variación (CV), aceptando un límite de 10%. La veracidad se evaluó mediante el uso de dos soluciones estándares certificados (MRC) y se utilizó un test t para la diferencia de medias. El Límite de Cuantificación y linealidad se calculó mediante la determinación de creatinina en 20 replicas de estándares acuosos de concentración desde 0,1 hasta 18,0 mg/dl. Se determinó el límite de cuantificación como el valor de concentración que presentó precisión, veracidad y la linealidad se calculó por la ecuación de la recta y el cálculo del r^2 . Posteriormente se prepararon muestras controles “normales” y “anormales” de creatinina, utilizando el método evaluado. Luego, estos controles fueron enviados en viales, a 15 laboratorios clínicos, donde en un periodo de un mes se valoró el analito en estudio. Una vez terminado los análisis, se recogieron los resultados y se evaluó la precisión y veracidad de cada laboratorio. Se consideró como límite de precisión, CV menor al 7,37% y de veracidad, un desviación relativa porcentual (DRP) menor al 15%. En los resultados de la evaluación de la precisión del método se obtuvo CV de 10,09 y 3,42 % para el control “normal” y “anormal”, respectivamente. El método es trazable a los MRC, pues en test t no hubo diferencia significativa entre la media obtenida y los valores de referencia. En los patrones de concentración baja, se halló el límite de cuantificación a partir del estándar de 0,3 mg/dl, pues fue desde éste patrón que se obtuvo precisión y veracidad. La linealidad del método se comprobó hasta el estándar de concentración 18 mg/dl, con un valor r^2 de 0,996. En los resultados de la evaluación de los laboratorios, la precisión interlaboratorio obtenida fue de 17,03 % para el CN y 13,95 % para CA; sólo el 20% de los laboratorios alcanzó precisión intralaboratorio y la desviación sistemática (DRP) fue de 46,66 % y 66,66% para el CN y CA, respectivamente. Se concluye que el método para determinación directa de creatinina en suero puede ser empleado con confiabilidad a niveles bajos, dentro y superior al rango de referencia de este analito. Los laboratorios participantes deben mejorar su desempeño analítico en la determinación de creatinina, ya que la precisión intra e interlaboratorio y la veracidad fue baja en la mayoría de los participantes. Por lo que no se recomienda la transferibilidad de resultados de creatinina entre el grupo de laboratorios.

INTRODUCCIÓN

Los laboratorios clínicos, como organizaciones que forman parte del sistema de salud, satisfacen necesidades a los usuarios mediante la realización de medición de los diferentes componentes químicos de la sangre y otros fluidos corporales, cuyos resultados analíticos orientan en el cuidado de los pacientes para ser utilizados en la detección, pronóstico, confirmación del diagnóstico, control de la evolución, control del tratamiento y prevención de las enfermedades. Por lo tanto, es indiscutible el rol que cumple el laboratorio en la medicina moderna, y ello ha llevado en las últimas décadas, a un explosivo aumento en la sobrecarga del mismo. El problema es afrontar esta sobrecarga sin sacrificar la calidad del servicio; por lo que se hace necesario establecer un sistema de garantía de calidad para prevenir y controlar los errores que son responsabilidad del laboratorio (López, 1994; ISO, 2000; Fernández, 2005).

El sistema de garantía de calidad en un Laboratorio Clínico debe incluir, entre otros, la participación en Programas de Evaluación Externa de la Calidad (PEEC); el cual es un sistema que permite evaluar objetivamente la calidad de los resultados obtenidos por los laboratorios participantes, por medio de un organismo exterior e independiente y es uno de los requisitos para la acreditación de los laboratorios clínicos (Cabutti, 2005; FECOBIOBE, 2005).

El principal objetivo de estos programas es establecer comparabilidad entre laboratorios, si es posible en concordancia con un estándar, además permiten determinar los errores relativos y la variabilidad de los distintos

métodos utilizados y comprobar si se están utilizando los métodos más exactos disponibles (Mazziotta *et al.*, 1998); de forma tal que describe el nivel de desempeño alcanzado, en el área de laboratorio abarcada por el programa y estimula el desarrollo de la garantía de calidad (Hill *et al.*, 1998; UNE, 2003).

En Bioquímica Clínica, los PEEC tienen una amplia trayectoria, contribuyendo significativamente a disminuir la variabilidad de los exámenes de laboratorio (Mazziotta, 2002; Picheth y Yokoo, 2001). Durante la ejecución de estos programas, cada laboratorio analiza las muestras enviadas por el organizador, como un paciente más, y remite los resultados al mismo, el cual los compara con el valor “verdadero” (asignado o de consenso) o con el intervalo de confiabilidad del analito en estudio, posteriormente el laboratorio evaluado es informado de su resultado (Mazziotta *et al.*, 1998; Mazziotta, y Correa, 2005).

Según la Federación Internacional de Química Clínica (FICC), el valor “verdadero” de la muestra, se puede obtener utilizando un método de referencia, el valor consenso del grupo de laboratorios participantes o mediante un método analítico validado, éstos dos últimos son los más utilizados, ya que muchas veces no se dispone de referencias con un nivel de trazabilidad mayor (Maroto, 2002).

La validación de un método es el proceso para establecer las características de desempeño y limitaciones de un método de medición (EURECHEN, 1998). Según Maroto (2002), la validación de un método consiste en verificar y documentar su validez, es decir, su adecuación a unos determinados requisitos previamente establecidos por el usuario para poder resolver un problema analítico en particular. Estos requisitos son los que

definen los parámetros o criterios de calidad que debe poseer el método a utilizar. Los criterios de calidad que deben evaluarse son la trazabilidad, veracidad, precisión, incertidumbre, límite de detección, límite de cuantificación y linealidad (ISO, 2000).

El Vocabulario Internacional de Metrología (VIM, 1993) define la trazabilidad como “la propiedad del resultado de una medida que le permite relacionarlo con referencias determinadas, generalmente nacionales o internacionales, a través de una cadena ininterrumpida de comparaciones, todas ellas con incertidumbres conocidas”.

Entre las diversas referencias utilizadas para verificar la trazabilidad, según la cadena metrológica, se encuentran los métodos definitivos, los cuales están directamente ligados al sistema internacional de unidades, éstos son la mejor referencia posible, siempre que sean aplicados en condiciones rigurosas de garantía de calidad; luego se encuentran los materiales de referencia certificado (MRC), según la ISO (1993), es un “material de referencia que tiene certificados uno o varios de sus valores de una o más de sus propiedades por procedimientos técnicamente válidos llevados a cabo por un organismo competente”. Dentro de los organismos prestigiosos y de reconocida tradición, que suministran MRC merece destacar el NIST (National Institute of Standards and Technology) de los Estados Unidos. Dentro de Europa, está el IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements) de la Unión Europea, que comercializa los MRC del BCR (Bureau Communautaire de Référence). Otros productores de reconocido prestigio son la IAEA (Internacional Atomic Energy Agency), el NRC (Nacional Research Council de Canadá) o el LGC (Laboratory of the Government Chemist del Reino Unido) (Riu, 2006).

Los métodos de referencia, que suelen ser un método normalizado o un método oficial de análisis, validado por alguna organización de reconocido prestigio y las muestras adicionadas, las cuales poseen el más bajo nivel de trazabilidad (Gella, 1998).

En la verificación de la trazabilidad de los resultados, implícitamente, se está comprobando la veracidad, ausencia de sesgo o error sistemático de los resultados (EURACHEM, 2003). El concepto de trazabilidad es muy similar al concepto de exactitud que tradicionalmente se había considerado como la ausencia de errores sistemáticos en el procedimiento. Sin embargo, según la norma ISO-5725 (1994), la exactitud se define como el grado de concordancia entre el resultado de un ensayo y el valor de referencia aceptado; por tanto, el término exactitud, además de considerar los errores sistemáticos, considera también los errores aleatorios, ya que éstos siempre están presentes en el resultado de una medida. Es decir, exactitud es la suma de dos conceptos: veracidad y precisión.

La veracidad de un método es la concordancia más cercana entre el valor promedio de una serie de determinaciones y el “valor verdadero” o de referencia aceptado. La veracidad es una propiedad metrológica cualitativa que no tiene valor numérico, se cuantifica mediante el error sistemático, que varía inversamente a éste. El error sistemático puede ser de tipo constante, proporcional o mixto. En el caso de que la cuantía del error sea la misma para todos los valores del mensurando, se denomina error sistemático de tipo constante; si la cuantía del error varía en función del valor del mensurando se dice que el error es de tipo proporcional, y el error es de tipo mixto cuando está constituido al mismo tiempo por errores de tipo constante y proporcional (Fuentes, 1998; González, 2004).

Por otro lado, la precisión es el grado de concordancia que existe entre resultados de medidas independientes obtenidas bajo condiciones establecidas y está relacionada con el error aleatorio. Estas condiciones dependen de los factores que se varíen entre cada uno de los ensayos. Dependiendo de estos factores pueden obtenerse tres tipos de precisión: la reproducibilidad, la cual proporciona la mayor variabilidad de los resultados ya que se obtiene cuando se varían todos los posibles factores, incluido el laboratorio (interlaboratorio), que puede afectar a un resultado; por otro lado, la repetibilidad, proporciona la menor variabilidad que puede haber entre los resultados, puesto que los ensayos se obtienen en intervalos cortos de tiempo sin variar ningún factor (intracorrída) y la precisión intermedia (intralaboratorio) se obtiene cuando dentro de un laboratorio se varían uno o más factores entre cada uno de los ensayos. La precisión es una propiedad cualitativa y tampoco tiene valor numérico, por lo que se cuantifica mediante otro concepto distinto que es la imprecisión (López, 1994; Boquet *et al.*, 1996).

Por otra parte, la incertidumbre, según la definición de VIM (1993), “es un parámetro asociado al resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mensurando”. En otras palabras, el resultado obtenido es uno, de un rango posible. Entonces es crítico conocer el tamaño de dicho rango para saber el grado de certeza de un resultado (Mazziotta y Correa, 2005)

La incertidumbre de medida significa duda acerca de la exactitud del resultado obtenido una vez que se han evaluado todas las posibles fuentes de error y que se han aplicado las correcciones oportunas (EURACHEM, 2000; CENAM, 2004; Terrés, 2006). Su estimación por procedimientos adecuados toma en cuenta todos los efectos reconocidos que influyen sobre

el resultado, como la precisión, el sesgo, la incertidumbre del material de referencia, la incertidumbre de calibración y cualquier otro efecto significativo; sin embargo, el cálculo de la incertidumbre no es sencillo debido al elevado número de fuentes de error presentes en un procedimiento analítico, debido a esto se han propuesto varias aproximaciones para calcular la incertidumbre: como las propuestas por la ISO, el comité de métodos analíticos (AMC) y otras aproximaciones basadas en estimar la incertidumbre utilizando la información obtenido en la validación de los métodos analíticos (EURACHEM, 2000; Maroto, 2002).

La linealidad es el intervalo de concentración del analito en la que el método es aplicable sin modificación y comprende desde el límite de cuantificación hasta el límite de dilución (Carey y Garber, 1991). El límite de cuantificación, es la mínima concentración de analito que se puede determinar con un nivel aceptable de precisión (repetibilidad) y veracidad (Kroll y Elin, 1995; EURACHEM, 1998; Negri, 2002).

Actualmente, existen varios programas de evaluación de calidad patrocinados por diversas sociedades científicas, gubernamentales o comerciales como la Asociación Española de Farmacéuticos (AEFA), Asociación Norteamericana de Química Clínica, Federación internacional de Química Clínica, Confederación Internacional de Bioquímica Clínica (COLABIOCLI), Fundación Bioquímica Argentina (FBA); caracterizándose los laboratorios de Latinoamérica por un nivel insuficiente de confiabilidad en los resultados de laboratorio, lo que se ha observado en datos de PEEC de los países miembros de la Confederación latinoamericana de Bioquímica Clínica (COLABIOCLI, 2005).

Las encuestas de PEEC en países sin dichos programas han

demostrado que para pruebas de Bioquímica Clínica básicas, hasta el 50% de los resultados de los laboratorios están tan alejados del valor asignado que dejan de tener uso clínico (Hill *et al.*, 1998).

En Venezuela, el Ministerio de Sanidad y Asistencia Social, inició en 1977 la evaluación en Bioquímica Clínica con glucosa, urea y creatinina, enviando sueros a laboratorios dependientes del Ministerio de Sanidad, obteniéndose un 50% de respuesta en el programa (MSAS, 1992). Hoy en día estos programas no se llevan cabo por el actual Ministerio del Poder Popular para la salud y Desarrollo Social (MPPSDS), dando a conocer la poca implementación de un sistema de garantía de calidad en los laboratorios del país, así como la falta de interés por parte de las autoridades regionales, en conocer la calidad de los exámenes que realizan los diferentes laboratorios de su jurisdicción.

En un trabajo de investigación sobre evaluación externa de la calidad en Bioquímica Clínica, realizado en la ciudad de Cumaná por Guarache y Rodríguez (2003), reveló que sólo el 30% de los laboratorios participantes empleaba sueros controles en los análisis diarios. De todos los analitos analizados, los resultados en las determinaciones de creatinina mostraron la menor precisión intralaboratorio y además, fue el parámetro de mayor dispersión interlaboratorio, aún cuando todos utilizaron métodos basados en las modificaciones de la reacción de Jaffé.

La reacción de Jaffé fue descrita por primera vez en 1886; en la cual la creatinina se trata con una solución alcalina de picrato para formar un tautómero anaranjado de picrato de creatinina que es medido espectrofotométricamente a una longitud de onda entre 510 y 520 nm. Siendo su desventaja la reacción del picrato de sodio con compuestos

distintos a la creatinina; como glucosa, proteínas, acetoacetato, piruvato, ácido úrico, fructosa y ácido ascórbico (Murray, 1991; Toora y Rajagopal; 2002; Sánchez *et al.*, 2002).

Por lo que, para disminuir los interferentes y lograr mayor especificidad y exactitud en las determinaciones de creatinina se han realizado varias modificaciones, como la que utiliza el reactivo de Lloyd, un silicato de aluminio con elevado poder de adsorción natural, en el cual la creatinina es adsorbida con una eficiencia aproximada de 92% y luego de centrifugar y decantar el sobrenadante que contiene los interferentes, se puede añadir el picrato alcalino directamente al adsorbente que contiene la creatinina. Esta modificación se considera como el método de referencia para obtener mediciones de exactitud, pero tiene la desventaja de no adaptarse con facilidad a instrumentos automatizados y además el requerimiento de muestra es mayor (Woo y Cannon, 1988; Murray, 1991).

También, se ha desarrollado la reacción de Jaffé para la determinación cinética adaptable a instrumentos automatizados, capaces de efectuar lecturas exactas de absorbancias a intervalos de tiempos precisos. En este tipo de análisis se utiliza la rapidez diferencial de desarrollo de color de los cromógenos no creatinínicos, en comparación con la creatinina, permitiendo así una separación, dependiente de la rapidez de reacción de la creatinina y las sustancias que interfieren. Esta modificación es la más utilizada en los laboratorios clínicos; sin embargo, tiene la desventaja del control de las mediciones precisas del tiempo, si se realizan operaciones manuales (Allston, 1995; Rodríguez *et al.*, 2001a; 2002).

Existen también metodologías en las cuales no se emplea la reacción de Jaffé, tales como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC),

usando columnas de intercambio catiónico o de fase reversa con detector ultravioleta; la cual ha sido descrita como específica y precisa, pero no útil para análisis de rutina (Paroni *et al.*, 1990; Thienpont *et al.*, 1995; Santana *et al.*, 1998; Stokes y O'connor, 2003); la determinación fotométrica de la creatinina con ácido 3,5 dinitrobenzoico, en la cual la formación del complejo es más específica y es superior a la reacción del picrato en términos de linealidad y precisión (Woo y Cannon, 1988); sin embargo, este método requiere de un equipo espectrofotométrico que permita medir los cambios de absorbancias en intervalos cortos de tiempo (Sabbagh *et al.*, 1988); y las reacciones enzimáticas, una de ellas es la reacción de la creatinina con la creatinín-imidohidrolasa para formar N-metilhidantoína e ión amonio, el cual se puede cuantificar espectrofotométrica o electrometricamente, pero se requieren enzimas de alta pureza (Wuyts *et al.*, 2003, Oláh *et al.*, 2008).

Por otra parte, el avance en la instrumentación ha permitido aumentar la especificidad en la determinación de creatinina usando la reacción de Jaffé, en presencia de otras sustancias que pueden interferir; una de éstas técnicas son las medidas cinéticas multivariadas con espectrofotómetro con arreglo de diodos que usan métodos matemáticos tipo Factor de Análisis Paralelo (PARAFAC) o Descomposición Trilineal Directa (TLD) con calibración de segundo orden (Gutierrez *et al.*, 2004).

La creatinina es uno de los parámetros que se determina con mayor frecuencia en el laboratorio clínico por ser útil en el diagnóstico de diversas nefropatías y su control permanente es de gran utilidad en aquellos pacientes que requieren diálisis. Constituye un producto de desecho que se forma en el organismo como resultado de la deshidratación no enzimática de la creatina muscular cuando ésta pierde una molécula de agua y el fosfato de creatina pierde una molécula de ácido fosfórico (Allston, 1995). La creatina, cuyo

contenido corporal es proporcional a la masa muscular, se transforma cada 24 horas, cerca de 2%; en consecuencia el nivel de creatinina también tiene una relación directa con la masa muscular y su formación es razonablemente constante (Nicoll, 1995).

Este compuesto es libremente filtrado a nivel glomerular y no es reabsorbida por los túbulos en circunstancias normales; sin embargo, se ha observado una reabsorción tubular en ciertas condiciones clínicas, que incluyen la insuficiencia cardíaca congestiva grave y la diabetes mellitus no controlada. Una cantidad pequeña también es segregada por las células tubulares y aumenta al incrementarse la concentración de creatinina en plasma; su excreción urinaria exhibe una respuesta escasa o nula a las modificaciones dietéticas o a las alteraciones del equilibrio electrolítico (Roy, 1991; Woo y Cannon, 1994).

La determinación de creatinina en suero es más fiable como índice de la función renal, principalmente respecto a la filtración glomerular, que el nitrógeno uréico, debido a la constancia en su formación y excreción, a su relativa independencia a la dieta, grado de hidratación y metabolismo proteico (Roy, 1991; Laecke, 1994; CDRH, 1998; Junge *et al.*, 2004, Jabary, 2006).

Asimismo, el diagnóstico de la insuficiencia renal crónica (IRC) se realiza mediante la estimación de la tasa de filtración glomerular (eGFR), la cual se puede obtener por la clásica fórmula de Cockcroft- Gault o mediante la nueva fórmula del estudio “modificación de la dieta en la enfermedad renal” (MDRD), (Myers *et al.*, 2006). Estas ecuaciones son recomendadas por normas Europeas y Americanas como la Fundación Nacional del Riñón, porque son más confiables, que la determinación

exclusiva de creatinina, para la evaluación de la función renal (Levey *et al.*, 2005).

Para calcular estas ecuaciones se requiere sólo la medida exacta de creatinina sérica, peso, talla y edad del paciente, sin necesitar la colección programada de orina de 24 horas (Levey *et al.*, 1999; Céspedes *et al.*, 2000; Myers *et al.*, 2006; Rule *et al.*, 2006). Sin embargo, la falta de estandarización y calibración de métodos analíticos para medir creatinina sérica usados de rutina en los laboratorios clínicos podría causar variabilidad en la estimación del GFR, y producir errores en la clasificación de los estadios de la enfermedad renal crónica (Vickery *et al.*, 2006; Klee *et al.*, 2007, Stevens y Stoycheff, 2008).

Por ello, organizaciones internacionales de enfermedades renales, recomiendan que todos los métodos de creatinina utilizados en los laboratorios clínicos deben ser trazables a un material de referencia basado en un método definitivo o primario como espectrofotometría de masa (IDMS); que permita obtener una desviación sistemática e imprecisión menor al 5,0% y 10,0%, respectivamente; que es límite permitido por el Programa Nacional de educación en enfermedades renales (NKDEP) de los Estados Unidos de América (Owen *et al.*, 2006; Hallan *et al.*, 2006; Peake y Whiting, 2006).

Particularmente, en la ciudad de Cumaná, estado Sucre, por no existir ningún PEEC, se planteó la necesidad de un diagnóstico de la calidad de sus laboratorios en la determinación de creatinina en suero. Todo ello permitió comparar los resultados de creatinina emitidos por dichos laboratorios para comprobar si es posible la transferibilidad de los resultados, si el paciente es trasladado de un hospital a otro; además puso de manifiesto los errores analíticos y la variabilidad de los resultados de cada laboratorio participante.

Por tanto, en esta investigación se propuso evaluar la confiabilidad analítica en la determinación de creatinina en suero, en los laboratorios clínicos de esta ciudad; frente a un método analítico previamente validado con un material de referencia certificado (SRM 967) por el Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST), con el propósito que a corto y mediano plazo, permita implementar, por parte de los organismos del estado, programas que mejoren la calidad de los laboratorios clínicos.

METODOLOGÍA

El desarrollo del presente trabajo se dividió en dos fases. En la primera fase se procedió a la validación del método modificado de Jaffé para la determinación directa de creatinina en suero, mediante el estudio de la precisión, límite de cuantificación, linealidad, veracidad y estimación de la incertidumbre. El desarrollo de la segunda fase comenzó con la preparación de muestras controles “normales” y “anormales” de creatinina, a partir de los sueros sobrantes, de los pacientes que acudieron al Laboratorio Clínico Universitario de la ciudad de Cumaná, Edo. Sucre. A estos controles se les determinó diariamente los valores de creatinina por 20 días consecutivos para establecer el intervalo de confiabilidad, utilizando para ello el método evaluado. Por último, los controles preparados (30 “normales” y 30 “anormales”) se enviaron en viales, almacenados a baja temperatura, a 15 laboratorios clínicos de Cumaná, donde se valoraron por un período de 1 mes las concentraciones de creatinina. Posteriormente se recogieron los resultados obtenidos por cada laboratorio para realizar los análisis estadísticos de los datos y determinar la precisión y veracidad de cada laboratorio.

I fase. Validación del método modificado de jaffé para la determinación directa de creatinina en suero

La validación del método, se realizó mediante la evaluación de la precisión, límite de cuantificación, linealidad, veracidad y estimación de la incertidumbre.

Fundamento Del Método

En este procedimiento directo, la creatinina reacciona con el ácido pícrico en solución alcalina, para formar un tautómero de picrato de creatinina. Las sustancias interferentes son minimizadas con la formulación del buffer de reactivo alcalino que producen un pH de reacción entre 9,65 y 11,50, en un intervalo de reacción de 15 min. a una temperatura de 37 °C.

Reactivos

Solución saturada de ácido pícrico e hidróxido de sodio de la casa comercial Biogamma, ácido clorhídrico 0,1 mol/l. Se preparó una solución de creatinina de 200 mg/dl, utilizando ácido clorhídrico 0,1 mol/l como solvente y una solución de creatinina de 20 mg/dl (solución 1) a partir de la solución de 200 mg/dl.

Preparación De Los Patrones

A partir de la solución 1, se preparó los patrones de concentraciones: 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 y 10 mg/dl, respectivamente, en matraces aforados de 25 ml, utilizando ácido clorhídrico 0,1 mol/l como solvente.

Procedimiento Para La Curva De Calibración

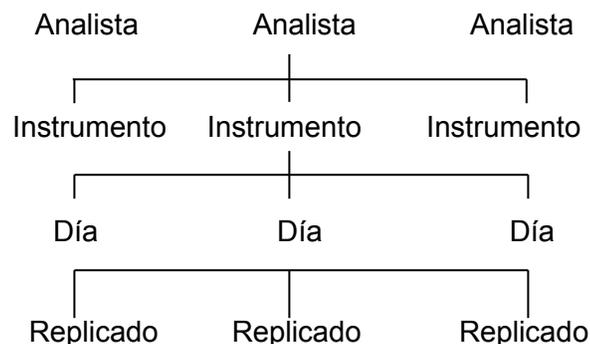
Se rotularon los tubos de ensayo como “Blanco” y “Patrón”. Se le agregó 200 µl de agua destilada y solución patrón a cada tubo correspondiente. Luego, a cada uno de los tubos se le agregó 1,5 ml de hidróxido de sodio y 1,5 ml de ácido pícrico. Se mezclaron bien todos los

tubos y se incubó a 37 °C durante 15 minutos, y por último, se procedió a leer la absorbancia en un espectrofotómetro a la longitud de onda previamente obtenida en un barrido de magnitudes de longitud de onda vs absorbancia.

Una vez realizada la curva de calibración, se procedió a evaluar cada criterio de calidad, según como se especifica:

Verificación De La Precisión

Se realizó mediante la determinación de la precisión intermedia de series diferentes. Es decir, se variaron todos los factores que pudieran haber afectado a los resultados en un laboratorio. Para este estudio, se utilizaron los diseños anidados recomendados por la guía ISO 5725 (1994), según el siguiente esquema:



Para dicho procedimiento se utilizó suero control de la casa comercial INVELAB, S.A. con concentraciones de $1,5 \pm 0,3$ y $5,1 \pm 1,1$ mg/dl de creatinina. Según este diseño, se analizó la concentración de creatinina con el método en estudio, siguiendo el mismo procedimiento para realizar la curva de calibración, pero analizando las soluciones controles comerciales.

Este mismo procedimiento se realizó por tres analistas; a su vez, cada analista analizó las soluciones en dos instrumentos diferentes. En cada instrumento se analizaron los controles durante 10 días, y en cada uno de esos días se realizaron dos replicados.

Los instrumentos utilizados fueron un spectronic 20D (Milton Roy Company) y un Stat Fax 1908 plus del laboratorio de Control de Calidad del Departamento de Bioanálisis, Núcleo de Sucre de la Universidad de Oriente.

Después de obtenidos los resultados, se determinó la precisión intermedia a través del cálculo de la varianza (S^2) (Barnett, 1983). La precisión del método también fue evaluada mediante el cálculo del coeficiente de variación (CV), aceptando para el mismo un límite del 10,0 % según las recomendaciones por el Programa Nacional de educación en enfermedades renales (NKDEP) de los Estados Unidos de América descritas en Peake y Whiting (2006).

Determinación Del Límite De Cuantificación

Para este estudio se realizó la determinación de creatinina en 20 replicas de estándares acuosos de baja concentración (0,0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5) mg/dl; preparados a partir de la solución 1, utilizando como diluyente ácido clorhídrico 0,1 mol/l. Con los resultados obtenidos de cada estándar se calculó la media aritmética (\bar{X}), la desviación estándar (DE), el coeficiente de variación (CV), para la evaluación de la precisión de los resultados; y la Desviación estándar obtenida (S_o), para la evaluación de la veracidad, la cual se calculó utilizando la fórmula de Dharán (1983), modificada en su aplicación por González y Lorente (1994):

$$S_o = (VE - VO) / Se$$

VE: valor esperado

VO: valor obtenido

Se: desviación estándar esperada, toma como criterio un 10% del VE.

Se aplicó la *t* de student para una $p=0,05$ entre los valores de los estándares entre sí.

Posteriormente, se determinó el límite de cuantificación como el valor de concentración el cual presenta precisión y veracidad, así como diferencia de media estadísticamente significativa ($p = 0,05$) respecto al valor del blanco de reactivo, lo cual indicaría que el método es capaz de detectar diferencias entre una concentración mínima y un blanco de reactivo, tal como lo refieren Zweig y Kroll (1997) y Montgomery (2001).

Determinación De La Linealidad

La evaluación de la linealidad se realizó mediante la determinación de creatinina en 20 alícuotas de estándares acuosos de concentración dentro y por encima del intervalo de referencia (0,6; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 12,0; 15,0 y 18,0). Al igual que para el límite de cuantificación, se determinó el CV y S_o en los resultados obtenidos de cada estándar y se calculó la ecuación de la recta por el método de los mínimos cuadrados para hallar la línea de ajuste y el cálculo del coeficiente de determinación (r^2) (Weisbrot, 1983 y Montgomery, 2001).

Determinación De La Veracidad

Se realizó por medio de la técnica de adición de patrones a diversos niveles de concentración, según lo expresa Maroto (2002), y utilizando un

material de referencia certificado por el Instituto Nacional de Estándares y Metrología (NIST).

Determinación De La Veracidad Utilizando La Técnica De Adición De Patrones A Diversos Niveles De Concentración

Preparación del pool de suero

Se preparó un pool de suero de acuerdo a los procedimientos descritos por la Organización Mundial de la Salud (1998); Mazziotta y Correa (2005). Se recolectaron sueros sobrantes frescos no ictericos, lipémicos ni hemolizados de los pacientes que acudieron al Laboratorio Clínico de la Universidad de Oriente. Estos sueros fueron almacenados en envases plásticos en el refrigerador, vertiendo las mezclas diarias subsiguientes sobre la mezcla ya congelada. Después de completar un volumen de 1000 ml se descongeló la mezcla de suero a temperatura ambiente y se mezcló con un agitador magnético durante 1 hora. Se tomó una alícuota de la mezcla para descartar la presencia de virus de inmunodeficiencia humana y hepatitis. Luego se centrifugó a 3 000 rpm durante 10 min. y el sobrenadante se filtró con papel de filtro Whatman N° 20, eliminándose totalmente la fibrina. Posteriormente, se agregó glicerina al 10% como conservador y se mezcló nuevamente, para luego determinar la concentración basal de creatinina con el método en estudio. Una vez obtenida esta concentración, se separó la mezcla de sueros en dos partes, para la preparación del control “normal” y el control “anormal” respectivamente.

A partir de la solución de creatinina de 1 g/dl, se realizaron los cálculos necesarios para obtener las cantidades de creatinina pura, necesarias para agregar al control “anormal”, y de esta forma conseguir la concentración

requerida (3,20 mg/dl).

Posteriormente, cada mezcla de suero con concentraciones dentro del intervalo de referencia de creatinina (CN: 1,30 mg/dl) y fuera de éste (CA: 3,20 mg/dl), cuyos valores correspondían a las “concentraciones base” para cada uno, se distribuyeron en cuatro viales de 25ml cada uno, luego se elevaron los valores de concentración (mg/dl) de cada nivel de control a 1,63 y 4,0 (25%); 1,95 y 4,8 (50%); 2,30 y 5,6 (75%) y 2,60 y 6,4 (100%); respectivamente; utilizando para ello la misma solución patrón de 1g/dl.

Una vez preparados los viales se analizaron cada uno por quintuplicado; utilizando el método en estudio. Con los valores medios (\bar{X}) de concentraciones de creatinina medidas, se calculó la “cantidad de creatinina recuperada” y se calculó el porcentaje de recuperación; según las fórmulas descritas por Garber y Carey (1991):

Cantidad recuperada = \bar{X} concentración medida - concentración base

$$\% \text{ de recuperación} = \frac{\text{cantidad recuperada}}{\text{cantidad añadida}} \times 100$$

$$\text{Error proporcional} = \% \text{ recuperación} - 100$$

Se aceptó un porcentaje de recuperación entre 95% y 105%, siguiendo los criterios empleados por Bakes (1993).

Luego se aplicó la técnica de recuperación media y la técnica de regresión, tal como se refiere en Barnett (1983).

Cálculo De La Recuperación Media

Se calculó el valor medio de las 5 recuperaciones calculadas para cada nivel de concentración; así como su desviación estándar y se verificó a través de un test t de student, si el método en estudio posee trazabilidad.

Técnicas De Regresión

Se representaron los valores medios de concentraciones de creatinina medida con el método analítico a evaluar frente a la concentración de referencia (Espondaburu *et al.*, 1997; Montgomery, 2001.)

Determinación de la veracidad utilizando un material de referencia certificado

Se utilizó la aproximación propuesta por Kuttatharmmakul *et al.* (2000), mediante el uso de dos soluciones estándares de creatinina ($0,753 \pm 0,021$ y $3,916 \pm 0,083$ mg /dl) certificado por el NIST. El valor asignado al material de referencia fue obtenido mediante un método de espectrofotometría de masa (ID-GC/MS)

Para este estudio, se procedió a analizar cada estándar 20 veces con el método evaluado, siguiendo el procedimiento de la técnica ya explicado anteriormente. Luego se calculó la media de los resultados y se realizó un test t ($P = 0,05$) para verificar que el método analítico no presentaba un sesgo significativo, y determinar su veracidad.

Estimación De La Incertidumbre

La estimación de la incertidumbre (U) del método se calculó siguiendo

las recomendaciones de la guía ISO (1993) y la guía EURACHEN (2000), utilizando la información generada en el estudio de la validación del método, según las recomendaciones expuestas en Maroto (2002). Para ello, se aplicó la ley de propagación de errores utilizando la expresión de la incertidumbre estándar (u), la cual es la siguiente:

$$u = \sqrt{(u_{\text{proc}})^2 + (u_{\text{traz}})^2 + (u_{\text{muestreo}})^2}$$

u_{proc} : incertidumbre del procedimiento

u_{traz} : Incertidumbre de la trazabilidad

u_{muestreo} : incertidumbre del muestreo

La incertidumbre del procedimiento; u_{proc} , consideró la variabilidad experimental debida a la variación dentro de una serie de análisis y la variación entre series. Estas varianzas se obtuvieron de los resultados del estudio de precisión. La incertidumbre de la verificación de la trazabilidad, u_{traz} , consideró la incertidumbre del sesgo del método, cuyos resultados fueron calculados durante la verificación de la trazabilidad utilizando el material de referencia certificado por el NIST a dos niveles de concentración. La incertidumbre del muestreo, u_{muestreo} , consideró la heterogeneidad de las muestras de individuos en un estudio premetroológico o preanalítico, pero no en las muestras utilizadas para verificar la precisión y trazabilidad de los resultados.

Estimación De La Incertidumbre Del Procedimiento (U_{proc})

Esta incertidumbre consideró la variabilidad experimental debida a errores aleatorios y a las condiciones en las que se realizó el análisis (día,

analista, calibrado). Este término se calculó a partir de los resultados del estudio de precisión del procedimiento analítico, mediante la siguiente fórmula:

$$u_{proc} = \sqrt{\frac{S^2_{serie}}{p_s} + \frac{S^2_r}{p_s n_s}}$$

S^2_{serie} : desviación estándar entre series del procedimiento

S^2_r : desviación estándar de la repetibilidad del procedimiento

p_s : es el número de veces que se analiza la muestra en diferentes series

n_s : número de replicados que se hace en cada una de estas series

Cálculo De La Incertidumbre De La Trazabilidad (U_{traz})

Esta incertidumbre corresponde a la incertidumbre del sesgo del método analítico calculado en el estudio de trazabilidad utilizando muestras de referencia certificada con un valor de referencia. Se calculó mediante las siguientes fórmulas:

u^2_{ref} : incertidumbre del valor de referencia asignada por el NIST: $u_{ref} = \frac{U_{RM}}{k}$

$u^2_{x\text{ método}}$: incertidumbre del valor medio obtenido con el método analítico al analizar la muestra de referencia:

$$u_{x\text{ método}} = \sqrt{\frac{S^2_{serie}}{p} + \frac{S^2_r}{pn}}$$

S^2_{serie} : desviación estándar entre series del procedimiento

S^2_r : desviación estándar de la repetibilidad del procedimiento

p : número de veces que se analiza la muestra en diferentes series

n : números de replicados que se hace en cada serie

Cálculo De La Incertidumbre Del Muestreo (U_{muestreo})

Para este cálculo se realizó un estudio según la metodología empleada por González (2002) con el que se valora en forma conjunta la variabilidad que se produce durante esta fase debido a la toma de muestra en diferentes brazos, la extracción a cargo de diferentes personas y la realización del resto de manipulaciones premetroológicas diferidas en el tiempo.

Las muestras empleadas en este estudio fueron obtenidas a partir de 20 voluntarios pertenecientes al personal del departamento de Bioanálisis de la universidad de oriente. En cada individuo se obtuvieron dos muestras de sangre consecutivas e inmediatas, una de cada brazo por dos flebotomistas diferentes a partir de la vena intercubital. Cada pareja de flebotomista fue diferente en cada individuo. En todos los casos, el primer tubo de sangre obtenido, después de 30 min, fue centrifugado a 1500g durante 10 min. Después de la centrifugación se procedió a la determinación de creatinina. Con el fin de simular las diferencias en el manejo de las muestras que pueden ocurrir en un laboratorio cuando un mismo paciente es sometido a punciones en diferentes días, el segundo tubo fue retenido durante 30 min. más que el primero.

Todas las muestras, dos por cada individuo, fueron analizadas por duplicado en el laboratorio de control de calidad del departamento de bioanálisis, siguiendo el procedimiento del método en estudio.

Para este estudio se calculó la varianza global del experimento de la siguiente manera:

$$S^2_G = \Sigma(x - y)^2 / 2n$$

Donde S^2_G es la varianza global, x e y son los resultados obtenidos en cada una de las muestras de un mismo individuo y n es el número de individuos.

La varianza global es la suma de la varianza del muestreo o premetroológica (S^2_{PM}) y de la varianza metroológica intraserial (S^2_{ID}).

$$S^2_G = S^2_{PM} + S^2_{ID}$$

La varianza correspondiente a la variabilidad metroológica intraserial del analito en estudio, fue calculada de la siguiente manera:

$$S^2_{ID} = \Sigma(z - z') / 2n$$

Donde z y z' son los resultados de cada una de las mediciones realizadas en la misma muestra y n es el número de individuos

La varianza correspondiente a la incertidumbre premetroológica o de muestreo (S^2_{PM}), fue finalmente calculada restando a la varianza global (S^2_G) de este estudio, la varianza metroológica intraserial (S^2_{ID}).

$$S^2_{PM} = S^2_G - S^2_{ID}$$

Luego de obtener la incertidumbre estándar (u), se calculó la incertidumbre expandida (U), mediante la siguiente ecuación:

$$U = K u$$

K.: 2, a un 95% de confiabilidad

II fase. Determinación del intervalo de confiabilidad en los sueros control a ser distribuidos en los laboratorios participantes de Cumaná, Edo. Sucre

Una vez culminado el estudio de validación del método modificado de Jaffé de Laboratorios Biogamma, y evaluado su confiabilidad; dicho método se utilizó para asignar los límites de control o intervalo de confiabilidad de creatinina en los sueros que fueron distribuidos a los laboratorios participantes de la ciudad de Cumaná, Edo. Sucre.

Preparación Del Suero Control

Se preparó una mezcla de suero, según el procedimiento descrito por la Organización Mundial de la Salud (1998) y Mazziotta y Correa (2005), ya descrito anteriormente. Después de preparado, cada control (“normal” y “anormal”) se mezcló durante 30 min y luego se dividió en viales para almacenarlos en el congelador.

Diariamente se extrajeron dos viales (“normal” y “anormal”) del refrigerador, se descongeló a temperatura ambiente y se mezcló. Luego se procedió a determinar la concentración de creatinina en cada vial de suero. Este procedimiento se realizó durante 20 días consecutivos. Los resultados se utilizaron para calcular la \bar{X} , DE y CV; así como elaborar las gráficas de control de calidad o Levey-Jenning. Se repitió el proceso por 20 días más para representar los valores en la gráfica de control de calidad y comprobar la confiabilidad analítica obtenida. Estas determinaciones se obtuvieron utilizando el método modificado de Jaffé para la determinación directa de creatinina en suero.

Distribución De Los Sueros A Los Laboratorios Participantes

Se procedió a distribuir 30 viales de control “normal” y 30 viales de control “anormal” a 15 laboratorios clínicos de Cumaná, bajo condiciones de temperatura adecuadas, para evitar el deterioro de las sustancia a analizar.

Los laboratorios participantes aportaron información, mediante un formato de recolección de datos, en cuanto a su instrumento de medición, metodología utilizada. También se realizó una encuesta en cada laboratorio para la evaluación del sistema de garantía de calidad de los participantes (anexo 1). Para su identificación, a cada laboratorio se le asignó una letra como código con el fin de asegurar la confiabilidad de los resultados obtenidos de la evaluación.

Todos ellos valoraron en un período de 2 meses la concentración de creatinina en ambos controles, utilizando los métodos e instrumentos de medición, propios de cada laboratorio.

Instrumentos de medición utilizados por los laboratorios clínicos participantes de Cumaná, Edo. Sucre

Labo ratorio	Instrumento de medición	Modo de operación	Método analítico
A	Express plus	automático	Jaffé
B	RA-1000	automático	Jaffé-
C	Omega IV	semiautomáti	Jaffé-
D	BTS 310	semiautomáti	Jaffé-
E	Express plus	automatizad	Jaffé-
F	Omega IV	semiautomáti	Jaffé-
G	Express plus	automatizad	Jaffé-
H	Biosystems BTS	Semiautomat	Jaffé-
I	Express plus	automatizad	Jaffé-

J	Express plus	automatizad	Jaffé-
K	Biosystems BTS	Semiautomat	Jaffé-
L	Biosystems BTS	Semiautomat	Jaffé-
M	Erma INC AE-	Semiautomat	Jaffé-
N	Express plus	Automatizad	Jaffé-
O	Erma INC AE-	semiautomati	Jaffé-

Cálculo De La Precisión Y Veracidad En La Determinación De Creatinina En Suero, En Los Laboratorios Clínicos De Cumaná, Edo. Sucre

Una vez terminado el procesamiento de los controles por los laboratorios participantes, se procedió a recolectar las encuestas y los resultados obtenidos.

Análisis De Los Resultados De Los Laboratorios

Con los resultados obtenidos se determinó la precisión y sesgo de cada laboratorio participante.

Cálculo De La Precisión

Se determinó a través del valor de coeficiente de Variación (CV):

$$CV = \frac{DE}{\bar{X}} \times 100;$$

DE: desviación estándar

\bar{X} : media aritmética obtenida en cada laboratorio

Se consideró como límite aceptable, valores menores o iguales al 7,37%, según las especificaciones de calidad de la Asociación Española de

Farmacéuticos analistas (AEFA), la cual asumió las recomendaciones de la conferencia de Estocolmo de 1999 (Morancho y Fernández, 2002; Calafell *et al.*, 2005), sobre las estrategias para establecer especificaciones globales de la calidad en el laboratorio clínico para análisis realizados en suero.

Luego se calculó el error aleatorio de cada laboratorio (Gella, 1998; Mazziotta y Correa, 2005):

$$EA = 1,65 CV, \text{ con grado de confianza de } 95\%$$

EA: Error aleatorio

CV: Coeficiente de variación

Cálculo De La Veracidad

La veracidad se evaluó mediante el error sistemático, el cual se obtuvo utilizando la ecuación de diferencia de medias (d) (Carobene *et al.*, 1997; Santana *et al.*, 1998; González y Capriotti, 2006). Para ello se utilizó como valor de referencia, el valor medio obtenido durante la determinación del intervalo de confiabilidad en los controles “normal” y “anormal” distribuidos a los laboratorios participantes, utilizando el método modificado de Jaffé evaluado en el presente estudio, el cual fue trazable al material de referencia certificado por el NIST.

El cálculo de diferencia de medias (d) se expresó en valores relativos, según la siguiente fórmula:

$$d (\%) = \frac{x - \bar{X}}{\bar{X}} \cdot 100$$

x: media obtenida por cada laboratorio,

\bar{X} : media de los controles “normal” y “anormal” obtenida por el método evaluado

Se aceptó como límite del sesgo 13,26%, según las especificaciones de calidad de la AEFA (Morancho y Fernández, 2002; Calafell *et al.*, 2005).

La desviación sistemática de cada laboratorio también se evaluó a través del desvío relativo porcentual (DRP). Esta puntuación estima el desvío del resultado de un laboratorio en particular con respecto al valor de consenso del grupo de laboratorios participantes, después de haber eliminado los resultados aberrantes, según el criterio de Boquet *et al.* (1996) y se expresó en porcentaje (Mazziotta y Correa, 2005; FBA, 2005). Se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{DRP} = \frac{X_i - \text{VC}}{\text{VC}} \times 100, \text{ donde:}$$

X_i : resultado medio de cada laboratorio

VC: valor de consenso del grupo de laboratorios después de haber eliminado los resultados fuera de 3DE

Se consideró como límite, valores de DRP inferiores a 15%, de acuerdo a los criterios de aceptabilidad del Programa de Evaluación Externa de la Calidad (PEEC) de la Fundación Bioquímica Argentina (Perasso y Mazziotta, 2004; FBA, 2005).

Posteriormente se realizó el diagrama de Youden (Youden, 1960; Dharan, 1983; INTI, 2004), para visualizar el grado de dispersión de cada laboratorio entre sí y con respecto al valor consenso.

El error analítico total de cada laboratorio se consideró como la suma del error aleatorio (EA) más el error sistemático (ES):

$$ET = EA + ES$$

Informe Interlaboratorios

Una vez realizado los cálculos estadísticos, se enviaron a cada laboratorio los resultados del período de evaluación, así como las recomendaciones y sugerencias en los casos que fuera necesario. Esto se realizó bajo un estricto régimen de confidencialidad, según el código asignado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el proceso de evaluación del método modificado de Jaffé para determinación directa de creatinina en suero se realizó una curva de calibración con patrones de diferentes concentraciones de creatinina (figura 1), cuyos resultados demostraron una relación lineal entre los patrones de creatinina y la respuesta del instrumento de medición. Este hallazgo se confirmó por el valor de coeficiente de determinación, el cual fue aproximadamente 1. Confirmar dicha respuesta lineal es importante, pues a partir de esta calibración se obtuvieron los resultados de creatinina de las diferentes muestras que fueron analizadas para evaluar la confiabilidad del método.

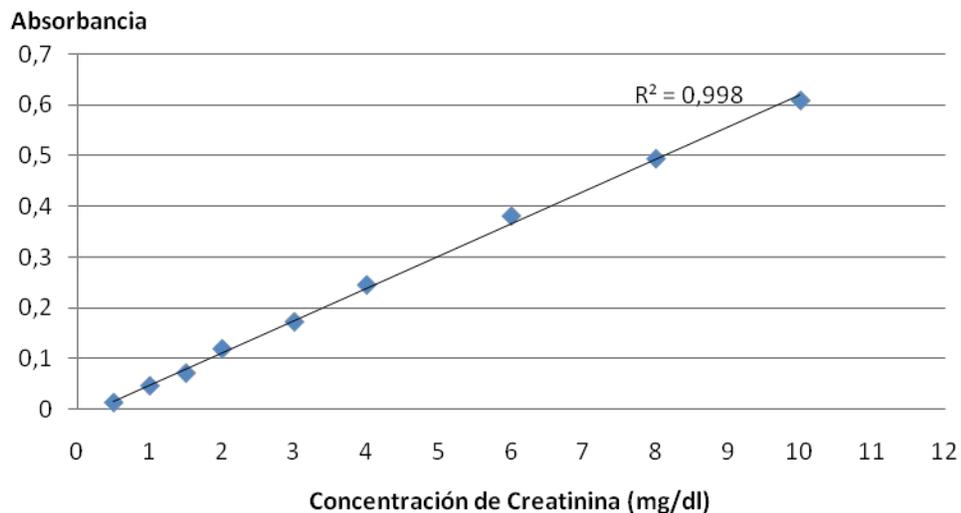


Figura 1. Curva de calibración del método modificado de Jaffé para la determinación directa de creatinina en suero.

A continuación se exponen los resultados del estudio de precisión, límite de cuantificación, linealidad, veracidad, trazabilidad e incertidumbre del

procedimiento.

Los resultados del estudio de precisión del método modificado de Jaffé para determinación directa de creatinina en suero se demuestran en la figura 2, donde se observan los valores de coeficiente de variación para el control “normal” y “anormal”, obtenidos por los tres analistas con los dos instrumentos utilizados. En general, la mayor precisión se obtuvo con el spectronic 20D (Milton Roy Company), por los tres analistas con los dos niveles de controles procesados, y con el segundo control se obtuvo el menor valor de CV, indicando ello la mayor precisión para el mismo.

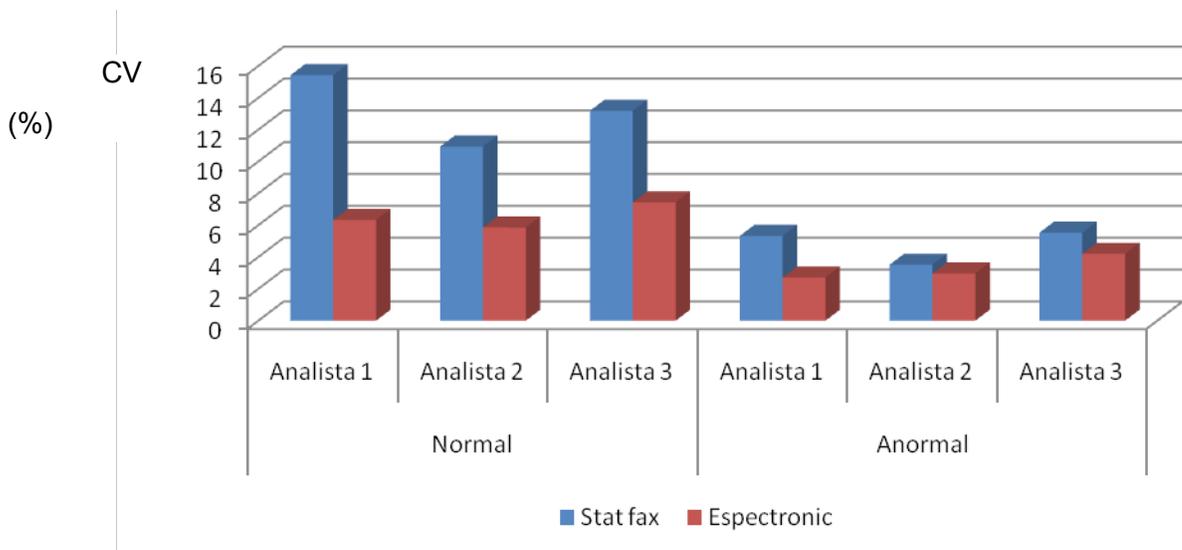


Figura 2. Precisión por analista e instrumento en el control “normal” y “anormal” de creatinina.

La diferencia de CV obtenida por los analistas e instrumentos en los dos tipos de controles confirma como estos factores analíticos pueden influir en la variabilidad de los resultados, por lo cual es importante tomarlos

en cuenta al momento de evaluar la precisión de un método analítico, pues se sabe que en la rutina diaria de un laboratorio clínico existen variables, las cuales inciden sobre los resultados reportados a los pacientes. Estos resultados confirman lo expuesto por González (2002) y Terrés (2006), quienes afirman que la variabilidad observada en el laboratorio clínico es la suma de todos los factores biológicos que operan desde antes de la toma de la muestra, combinados con los factores analíticos que intervienen durante su estudio en el laboratorio.

Por ello, al seleccionar una metodología para determinación de creatinina en suero para uso de rutina en el laboratorio se tienen que minimizar variables que puedan afectar la precisión de los resultados, y esto es importante sobre todo en aquellos pacientes con enfermedad renal; debido a que, en un reporte del grupo de laboratorios del programa Nacional de educación de enfermedades renales de los Estados Unidos de América (NKDEP) (Peake y Whiting, 2006 y Myers *et al.*, 2006) se indica que los métodos de rutina utilizados en los laboratorios clínicos para determinación de creatinina en suero deben tener un máximo de 10% de imprecisión, todo ello con la finalidad de disminuir los errores en los resultados del grado de filtración glomerular (GFR), el cual es el mejor indicador de la función renal.

Para evaluar la precisión de los tres analistas se utilizó la prueba F, la cual compara la varianza obtenida por cada uno de ellos (tabla 1), al aplicar la prueba no se encontró diferencia significativa en la precisión obtenida por los tres analistas, tanto para el control normal, como para el anormal; es decir sus varianzas son estadísticamente iguales, lo cual indica que la variabilidad de los resultados obtenidos por los diferentes analistas no influyeron en la precisión del método evaluado.

Tabla 1. Precisión entre analistas del método modificado de Jaffé para la determinación directa de creatinina en suero.

Analista	CN (1,5 ± 0,3) mg/dl				CA (5,1 ± 1,1) mg/dl			
	1	2	3	F	1	2	3	F
\bar{X}	1,12	1,25	0,73	1,16 NS	5,09	5,19	4,09	0,52
DE	0,12	0,11	0,11		0,21	0,17	0,24	NS
S ²	0,02	0,01	0,01		0,04	0,03	0,06	
CV(%)	10,92	8,78	16,16		4,09	3,38	5,74	

CN: control "normal", CA: control "anormal", \bar{X} : media, DE: desviación estándar, S² :varianza, CV: coeficiente de variación, P : 0,05; NS: No significativo

Por el contrario, al comparar las varianzas obtenidas por los dos instrumentos demostrado en la tabla 2, se encontró diferencia significativa, pero sólo en el control anormal, lo cual demuestra que al analizar muestras con valores altos de creatinina, utilizando el espectral 20D (Milton Roy Company), se obtendrían resultados, estadísticamente más precisos que los obtenidos por el instrumento Stat Fax.

Tabla 2. Precisión entre instrumentos del método modificado de Ja para determinación directa de creatinina en suero.

Instr	CN (1,5 ± 0,3) mg/dl			CA (5,1 ± 1,1) mg/dl		
	S	espe	F	St	espe	F
umento	tat- fax	ctronic		at fax	ctronic	
\bar{X}	0,	1,09	1	4,6	4,97	2
DE	93		,74 NS	1		,0 *
S ²	0,	0,09		0,1	0,13	
	13			9		
C	0,	0,01		0,0	0,02	
	02			4		
V(%)	1	8,74		4,0	2,69	
	3,57			9		

CN: control "normal", CA: control "anormal", \bar{X} : media, DE: desviación estándar, S²: varianza, CV: Coeficiente de variación, P = 0,05; * significativo

En la tabla 3 se presentan los resultados de la precisión intermedia del método, para el control "normal" y "anormal". Tomando en cuenta que durante la evaluación de la precisión se dispusieron de varios factores que afectan la reproducibilidad, como analista, días e instrumentos, se puede afirmar que hubo precisión en los controles procesados, aún cuando en los resultados del control "normal" se obtuvo un valor de CV ligeramente superior al 10%, el cual es el límite permitido por la NKDEP, con un sólo factor de variabilidad (días) para el estudio de la imprecisión (González, 2002; Peake y

Whiting, 2006).

Tabla 3. Precisión intermedia del método modificado de Jaffé para la determinación directa de creatinina en suero.

	CN (1,5 ± 0,3) mg/dl	CA (5,1 ± 1,1) mg/dl
\bar{x}	1,01	4,79
D	0,10	0,16
E		
S	0,01	0,03
s^2		
	10,09	3,42
CV(%)		

CN: control "normal", CA: control "anormal", \bar{X} : media, DE: desviación estándar, S^2 : varianza, CV: coeficiente de variación

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Rodríguez *et al.* (2001a) en determinaciones automatizadas; Rodríguez *et al.* (2001b); y Rodríguez *et al.* (2002), en determinaciones manuales, en los cuales también se obtuvo precisión en todos los niveles de controles analizados.

Por otra parte, los resultados de este estudio difieren de los obtenidos por Rodríguez (1994) en un estudio realizado con método automatizado de tipo cinético, el cual arrojó precisión sólo a niveles muy altos de concentración.

Los resultados de imprecisión del método desarrollado por Stokes y O'Connor (2003), propuesto como referencia por Peake y Whiting (2006), los cuales analizaron dos muestras controles con valores de 1,3 y 5,9 mg/dl de creatinina por 20 días consecutivos, reflejaron valores de 2,0 y 0,9 % de CV, respectivamente. También, en un estudio realizado en la región de

Lombardy, Italia; se evaluó la precisión de tres métodos automatizados (Johnson y Johnson - enzimático, Beckman - picrato y Boehringer – picrato), utilizando tres niveles de controles (CN: 1,20; CA: 3,93 y CAA: 5,63 mg/dl), se hallaron, en todos los procedimientos utilizados, valores de CV menor a 1,76% (Carobene *et al.*, 1997). La diferencia de los valores de CV con respecto a los obtenidos en el presente estudio, puede atribuirse al procedimiento utilizado, en el cual se requiere un sistema e instrumento manual, donde la reproducibilidad de los datos es afectada por las variables como pipeteo, fluctuaciones en la temperatura de incubación, tal como lo refiere Boquet *et al.* (1996), además de los factores antes mencionado, como analista, días e instrumentos.

En general, los resultados de este estudio demuestran que el método evaluado presenta una aceptable precisión. Esto comprueba lo expuesto por Mazziotta *et al.* (1998), los cuales aseguran que hoy en día, los errores debidos a imprecisión son más bien raros debido a la evolución metodológica. Esta precisión indica que al realizar varias veces, análisis repetidos de creatinina a un mismo paciente, se obtendrá el mismo resultado, si éste no ha sufrido cambios biológicos o fisiológicos. Por ello, es importante para el cuerpo clínico mantener la precisión al comparar el estado de un enfermo en un determinado momento con su situación previa. Terrés (2003) afirma que la variabilidad analítica del laboratorio debe ser inferior a la variabilidad biológica intraindividual para que los resultados de los análisis contribuyan positivamente en la toma de decisiones médicas, puesto que el médico toma muchas decisiones clínicas en base a las diferencias diarias.

La precisión influye directamente sobre la interpretación médica. El médico necesita conocer qué cambios, pueden considerarse como propios del paciente en oposición a los cambios que representan la variación diaria

del sistema de medición. De allí que es importante mantener la precisión de los resultados de los parámetros determinados, por lo cual se deben seleccionar instrumentos de medida lo más precisos posibles dentro del estado actual de la tecnología.

En el estudio del límite de cuantificación, los resultados obtenidos en los patrones acuosos de creatinina, presentaron, a partir del patrón de concentración de 0,3 mg/dl, valores de CV \leq 10% y DE0 \leq 2, lo cual demuestra que el método presenta precisión y veracidad desde dicha concentración. Ello concuerda con los resultados de la prueba de *t*-Student, entre los valores medios obtenidos en cada patrón y el valor de referencia, en la cual no se encontró diferencia significativa desde la concentración de 0,3 mg/dl (tabla 4).

Estos resultados difieren de los encontrados por Rodríguez *et al.* (2001b), utilizando un método manual, quienes encontraron precisión a partir del patrón de 0,1 mg/dl.

Tabla 4. Determinación del límite de cuantificación del método modificado de Jaffé para la determinación directa de creatinina en suero, de acuerdo a los parámetros estadísticos.

VE	0,	0,	0,	0,	0,	0,
± DEE	0 ± 0,00	1 ± 0,01	2 ± 0,02	3 ± 0,03	4 ± 0,04	5 ± 0,05
(m						
g/dl)						
\bar{X}	0,	0,	0,	0,	0,	0,
D	01	07	15	31	42	52
E	01	05	04	03	03	02
C	72	71	23	10	6,	5,
V (%)	,30	,43	,33	,00	91	12
D	-	3,	2,	-	-	1,
EO (±)	0,01/0,0	00	50	0,33	0,50	40
t	6,	-	-	1,		
	15 *	2,47 *	5,88 *	33		

VE; valor esperado, DEE: desviación estándar esperada, \bar{X} : media, DE: desviación estándar, S²: varianza, CV: coeficiente de variación, t : t –Student

Por otra parte, en el test de diferencia de media (tabla 5), se demuestra que existe diferencia estadísticamente significativa entre cada par de valores medios de creatinina, a un nivel de confiabilidad de 95% ($p < 0,05$). Esto indica que el método posee buena sensibilidad al poder diferenciar mínimas concentraciones del analito.

Tabla 5. Diferencia de medias para los patrones de baja concentración de creatinina.

Patrón (mg/dl)	<i>t</i>
0,0 – 0,1	- 5,04 *
0,1 – 0,2	- 5,33 *
0,2 – 0,3	- 14,15 *
0,3 – 0,4	11,06 *
0,4 – 0,5	- 12,12 *

* diferencia estadísticamente significativa, $p < 0,05$

En la figura 3 se representa el análisis de regresión lineal entre los valores medios obtenidos y los patrones de baja concentración de creatinina, la cual arrojó un coeficiente de determinación de 0,972, indicando una correlación casi perfecta entre ellos. Esto demuestra una vez más, la sensibilidad del método al poder diferenciar mínimas concentraciones del analito. Sin embargo, se puede afirmar que el límite de cuantificación es 0,3 mg/dl; ya que, a partir de esta concentración se obtuvo precisión y veracidad de los resultados, tal como se demostró en la tabla 4.

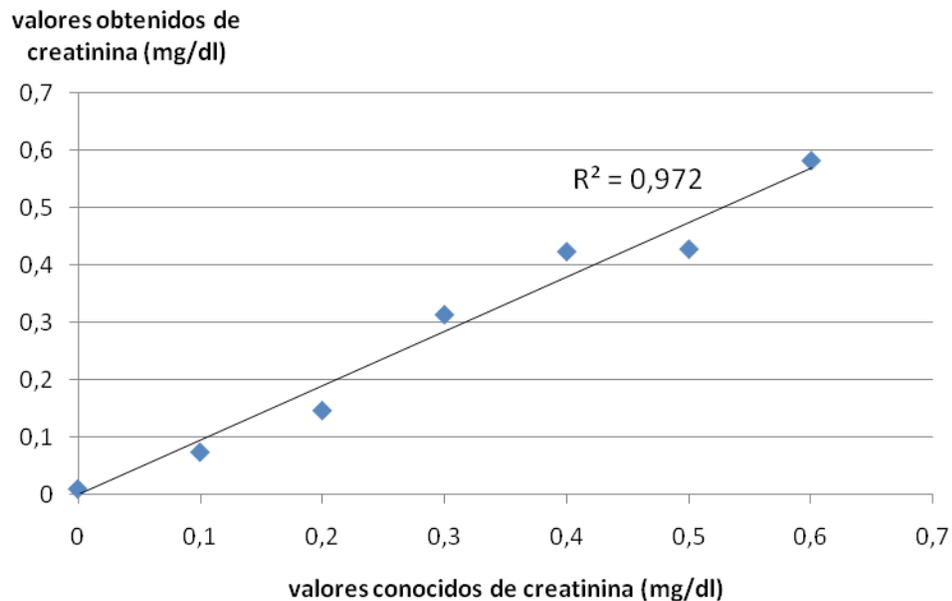


Figura 3. Regresión lineal entre los valores de baja concentración de creatinina.

En el estudio de linealidad, demostrado en la tabla 6, se observó precisión y veracidad en todos los niveles de concentración analizados. Este hallazgo concuerda con los observados en la figura 4, en la cual se obtuvo un coeficiente de determinación de 0,996; indicando que existe una alta correlación entre los niveles de concentración de creatinina procesados y los resultados obtenidos.

Por lo tanto, se puede asumir como intervalo reportable de creatinina para este método, desde el límite de cuantificación (0,3 mg/dl) hasta 18 mg/dl, pues este fue el último nivel procesado, siendo esto comparable con métodos de Jaffé cinéticos, cuyos estudios han reportado como intervalo de linealidad de 0,1 a 22 mg/dl (García *et al.*, 1997; Sánchez *et al.*, 2002).

Tabla 6. Linealidad del método modificado de Jaffé para la determinación directa de creatinina en suero.

VE±	0,	1	2	4	1	1	1
DEE	6±0,06	,0±0,1	,0±0,2	,0±0,4	0,0±1,0	2,0±1,2	8,0±1,8
(mg							
/dl)							
\bar{X}	0,	1	2	3	8	1	1
DE	58	,09	,26	,86	,94	0,74	8,24
	0,	0	0	0	0	0	0
	02	,04	,21	,20	,16	,31	,19
	4,	4	9	5	1	2	1
CV (%)	31	,12	,38	,20	,82	,89	,06
DE	0,	-	-	0	1	1	-
O	33	0,90	1,30	,35	,06	,05	0,13

VE; valor esperado, DEE: desviación estándar esperada, \bar{X} : media, DE: desviación estándar, S²: varianza, CV: coeficiente de variación

Los resultados de este estudio se asemejan a los obtenidos, tanto por un método manual como automatizado, de Laboratorios Heiga para la determinación directa de creatinina, donde se obtuvo linealidad en valores bajos, medios y altos de creatinina (Rodríguez *et al.*, 2001a y 2001b), y difieren de los encontrados por Rodríguez (1994), quien obtuvo linealidad, sólo en valores altos de creatinina.

Por otra parte, si se toma en cuenta lo planteado por Phillippe *et al.* (1993), al analizar los resultados obtenidos con soluciones acuosas como los estándares y soluciones albuminadas como los sueros controles, este método presenta precisión, linealidad y sensibilidad aceptable.

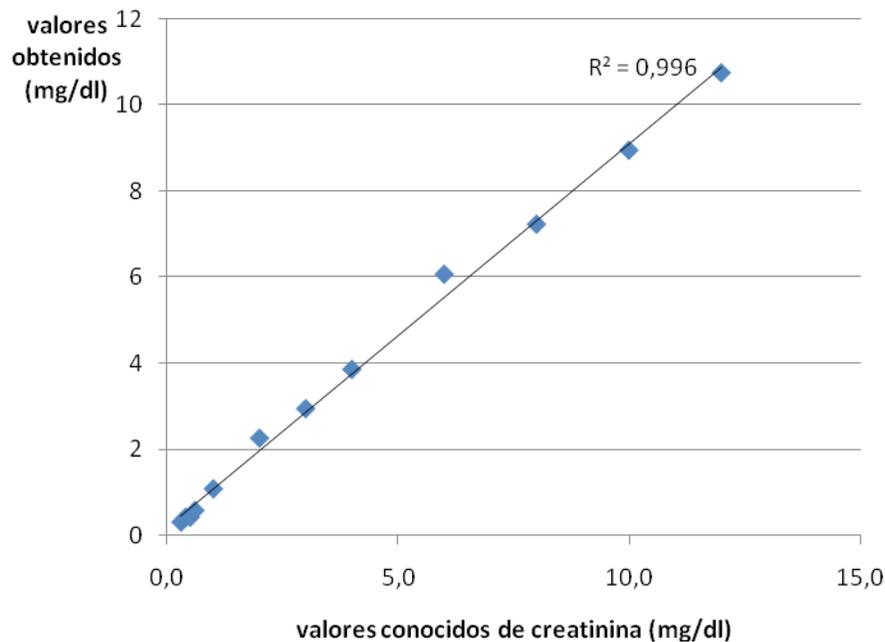


Figura 4. Linealidad del método modificado de Jaffé para la determinación directa de creatinina en suero.

En la Tabla 7 se observan los resultados del estudio de veracidad del método evaluado mediante la prueba de recuperación, en la cual se puede apreciar la relación entre el valor recuperado y el valor agregado para 25, 50, 75 y 100% de creatinina de dos muestras de concentración basal con valores de 1,30 y 3,20 mg/dl de dicho analito, resultando, a excepción del primero, una recuperación con una efectividad cercana al 100% y un error proporcional menor al 5 %. Ello demuestra la capacidad del método en recuperar la cantidad añadida del analito a la muestra “base”, y por lo tanto, la veracidad del mismo en medir a estos niveles de concentración. Estos resultados concuerdan con un estudio de recuperación realizado en un método cinético de Jaffé reportado por Garcia *et al.* (1997); donde se aumentaron los niveles de concentración de creatinina en 0,99; 2,0; 4,0; y 6,0

mg/dl utilizando sueros frescos y en cuyos resultados se obtuvo una recuperación promedio de 98%.

Tabla 7. Recuperación del método modificado de Jaffé para la determinación directa de creatinina en suero.

Concentración Base (mg/dl)	va lor obtenido (\bar{X})	ca ntidad agregada (mg/dl)	canti dad recuperada (mg/dl)	R (%)	E P (%)	D E	t
1,30	1,48	0,3	0,18	9	9	0	-
1,30	1,88	0,6	0,58	0,8	,2	,05	6,00*
1,30	2,27	0,9	0,97	9	,6	,23	0,68
1,30	2,69	1,3	1,39	8,7	,3	,07	0,91
3,20	4,06	0,8	0,86	03,5	3,5	,27	0,73
3,20	4,86	1,6	1,66	01,5	1,5	,05	2,40
3,20	5,55	2,4	2,35	01,3	1,3	,07	1,77
3,20	6,25	3,2	3,05	9	0	0	-
		0		9,1	,9	,09	1,14
		0		9	2	0	-
		0		7,6	,3	,09	3,69*

R: recuperación, EP: error proporcional, DE: desviación estándar, t: t-Student

Por otra parte, el bajo porcentaje de recuperación (90,8%) correspondiente al 25% en la muestra de “concentración base” de 1,30 mg/dl de creatinina, concuerda con el resultado del *t* de student, del cual se obtuvo una diferencia significativa entre el valor medido y el valor esperado de creatinina. Ello pudo ser causado por errores volumétricos, pues para elevar el valor base a un 25%, se necesitó medir un pequeño volumen de la solución madre.

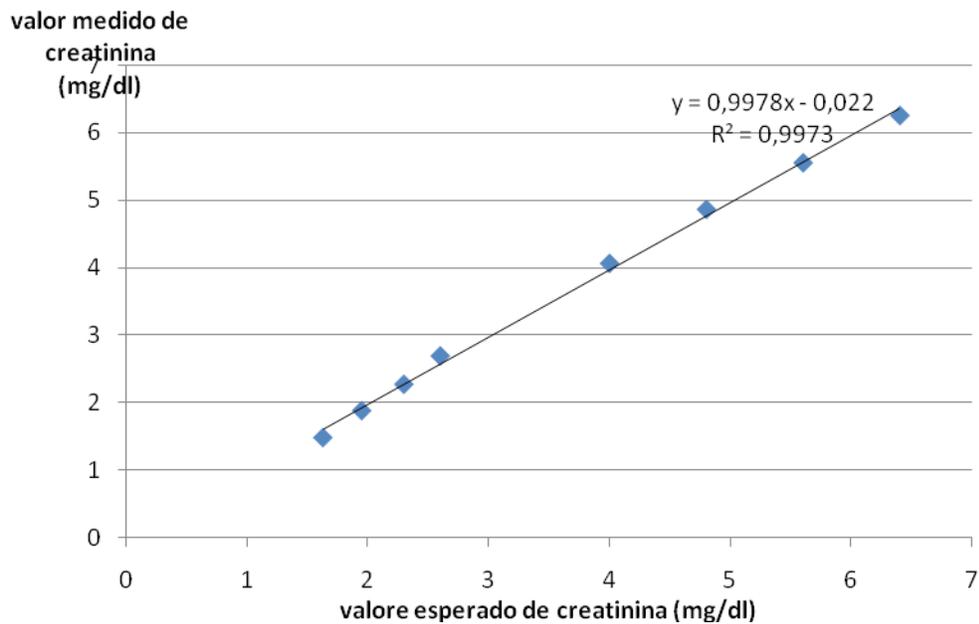


Figura 5. Regresión lineal entre los valores esperados y medidos de creatinina.

Aun cuando en el 100% de recuperación correspondiente al control de concentración alto (3,20 mg/dl), también arrojó diferencia significativa, se puede aceptar la recuperación del método a dicho nivel, pues se encuentra dentro del intervalo aceptado de 95 a 105 %. Además, al relacionar el valor agregado y el valor recuperado, el valor de r^2 (0,990), reflejó una alta correlación (figura 5).

En la tabla 8 se muestran los resultados de la evaluación de la veracidad utilizando dos soluciones estándares de referencia 967, certificadas por el NIST, tanto en niveles normales ($0,753 \pm 0,021$ mg/dl) como altos ($3,916 \pm 0,083$ mg/dl) de creatinina, dichos valores demuestran que el método evaluado presenta veracidad en las mediciones de creatinina, pues no hubo diferencia significativa entre los valores medios obtenidos en los materiales de referencia analizados y los valores de referencia asignados.

Tabla 8. Veracidad del método modificado de Jaffé para la determinación directa de creatinina en suero.

MRC	\bar{X}	DE	t
0,753	0,76	0,03	0,39 NS
3,916	4,02	0,28	1,67 NS

MRC: Material de Referencia Certificado, \bar{X} : media, NS: No significativo

Así mismo, este hallazgo concuerda con los del estudio de recuperación, pues en ambos estudios para evaluar la veracidad del método modificado de Jaffé para determinación directa de creatinina en suero se obtuvo trazabilidad a las referencias utilizadas. Según Riu (2006), para verificar la trazabilidad se pueden utilizar diversas referencias, entre ellas, de acuerdo al orden de jerarquía, están los métodos definitivos, los cuales representan la mejor referencia, siempre que sean aplicables en condiciones rigurosas de garantía de calidad. Estas condiciones rigurosas, junto con la dificultad de aplicación de algunas o el reducido ámbito de aplicación de otras, son el motivo por el cual estos métodos se utilizan muy pocos para verificar la trazabilidad. Seguidamente, se encuentran los MRC, utilizados en el presente estudio, y cuyos niveles de concentración se obtuvieron por un método definitivo como es la espectrofotometría de masa, certificadas por el Instituto Nacional de Estándares y Tecnología, luego le siguen, según la

cadena metrológica, los métodos de referencia y las muestras adicionadas. Esta es una de las referencias más utilizadas, a pesar de encontrarse en los niveles inferiores; siendo también empleada en el presente estudio, donde se obtuvo una recuperación promedio de 97%.

Esta verificación de la trazabilidad del método en estudio es importante, ya que permite tener confianza en los resultados proporcionados por el mismo, pues como el resultado es comparable a las referencias utilizadas, se puede asegurar, tal como lo refiere Leiva (2006), que no se cometieron errores sistemáticos significativos en el procedimiento analítico. Por lo tanto, el resultado de las muestras desconocidas a ser procesadas con dicho método, también serán trazables a un método de espectrofotometría de masa. De acuerdo a lo anterior, se puede afirmar que los laboratorios que utilicen este método, bajo condiciones de aseguramiento de calidad, cumplirán los requerimientos de las Organizaciones Internacionales de Enfermedades Renales (Peake y Whiting, 2006), las cuales recomiendan que todos los métodos de creatinina utilizados en los laboratorios clínicos deben ser trazables a un material de referencia basado en un método definitivo.

A continuación se exponen los resultados correspondientes de cada una de las varianzas utilizadas para el cálculo de la incertidumbre estándar, como son la varianza del muestreo, procedimiento y trazabilidad. Para la estimación de la varianza de muestreo se estimó previamente la varianza global (S^2_{e}) del estudio premetrológico, tal como se explicó en la metodología para el cálculo de la incertidumbre de muestreo.

Tabla 9. Variabilidad del experimento premetroológico del método modificado de Jaffé para la determinación directa de creatinina en suero.

Magnitud	S²_{global}	S²_{ID}	V_{ID}	S²_{PM}	CV_{PM}	U_{muestreo}
Cr	0	0	6,	0,	13,3	0,
eatinina	,027	,007	73	026	2	16

S²_{global}: varianza global, S²_{ID}: varianza metroológica intraserial, CV_{ID}: coeficiente de variación intraserial, S²_{PM}: varianza de muestreo, CV_{PM}: coeficiente de variación del muestreo

La incertidumbre producida durante la fase de muestreo en el experimento ha permitido evaluar de manera conjunta factores que influyen sobre el mismo, como la toma de muestra en diferentes brazos, la extracción a cargo de diferentes personas y la realización del resto de manipulaciones premetroológicas diferidas en el tiempo. En dichos resultados (tabla 9), el CV del muestreo es mayor al 10% y superior al CV correspondiente a la imprecisión intraserial. Ello demuestra que la incertidumbre premetroológica en la determinación de creatinina no es despreciable e incluso superior a la producida por la variabilidad intraserial. Este resultado concuerda con el obtenido por González (2002), en el cual el CV premetroológico es igual o superior al CV intradiario para 9 magnitudes estudiadas, entre las cuales se encontró la creatinina. Lo cual indica que la varianza premetroológica debería ser tomada en cuenta a la hora del cálculo de la incertidumbre combinada total del procedimiento.

Según un reporte de CATLAB (2008), en el laboratorio clínico la etapa del muestreo ha sido tradicionalmente excluida del proceso global de medición química, considerándose como una etapa aislada, por ello sus efectos sobre la calidad del resultado suelen ser desconocidos o poco considerados, ya que el laboratorio, quien se encarga de ejecutar el método

de análisis, sólo se remite a reportar resultados, ignorando su significativa historia previa. Ello corrobora lo expuesto por Bonini *et al.* (2002), quienes revisaron los resultados encontrados en la bibliografía en un período comprendido entre enero de 1994 y junio de 2001, reportando un promedio de 55% total de errores para la fase preanalítica. Debido a esto, la incertidumbre de la etapa de muestreo debe ser considerada en la incertidumbre global del método.

Una estimación de la incertidumbre analítica que incluya la contribución del muestreo provee muchas ventajas. Las decisiones basadas en las mediciones tendrán una probabilidad mucho menor de ser erróneas. Además, el sistema de medición puede optimizarse en relación a su proceso, a sus costos y ajustarse mejor al propósito analítico.

A pesar de conocer que las variaciones producidas en la fase de muestreo pueden afectar a los resultados de las mediciones, generalmente se considera que la adecuada normalización de estos factores hacen despreciables estas fuentes de variación (Etcheverry *et al.*, 2007). Sin embargo, según González (2002), la completa normalización de los procesos que forman parte de esta fase es un objetivo difícil de conseguir, ya que para ello es necesario tener en cuenta las características particulares de cada magnitud y procedimiento en cuestión, mediante un análisis detallado de cuáles son los componentes de incertidumbre significativos dentro de esta fase, y aún si se lograra, no es posible asegurar que la incertidumbre producida en esta fase sea despreciable.

En relación con la incertidumbre producida durante la fase metrológica o analítica, se estimó mediante el cálculo de la varianza del procedimiento y trazabilidad del método obtenido en la evaluación del mismo a dos niveles de

concentración. La varianza del procedimiento se obtuvo de los resultados reportados por el analista 2 con el instrumento marca Spectronic, (Milton Roy Company), ya que fueron los que arrojaron mayor precisión.

Los resultados observados en la tabla 10 confirman que el procedimiento de medida posee heterocedasticidad, ya que la varianza aumenta al incrementar el valor del analito y por el contrario el valor de CV disminuye al aumentar la concentración de la misma (Gella, 1998). Este resultado confirma el hallado por González (2002), quien demostró que en la mayoría de los procedimientos de medida usados en el laboratorio clínico, el CV metrológico varió con el valor del mensurando. Investigar este fenómeno es importante, pues si el coeficiente de variación se mantiene constante para un método, en un intervalo de concentraciones determinado, se puede utilizar este valor como la incertidumbre relativa metrológica del mismo en todo este intervalo y posteriormente, emplear dicho valor para el cálculo de la incertidumbre combinada, sin embargo esto no es el caso para el método en estudio.

Así mismo, los organismos internacionales de normalización recomiendan que todo resultado de una medición biológica debe ir acompañado de alguna indicación cuantitativa que informe de la calidad con que se ha obtenido y que permita evaluar la fiabilidad de este resultado, ya que sin esta información los resultados de la medición no estarán completos (ISO, 1993; EURACHEM, 2000). Esta información cuantitativa sobre un resultado de una medición es la incertidumbre de medida. Dichos organismos han creado documentos sobre la incertidumbre asociada a los resultados de los procedimientos de medida y uno de sus principales objetivos es difundir la importancia que tiene el conocimiento y la información de la incertidumbre de medida.

Tabla 10. Incertidumbre estándar del método modificado de Jaffé para determinación directa de creatinina en suero.

Control	S^2_{proc}	CV_{proc}	U_{proc}	MRC	S^2_{MRC}	U_{MRC}	U_{traz}	U_{estandar}	$U_{\text{expandida}}$
1,364	0,006	5,86	0,08	0,76	0,001	0,01	0,04	0,21	0,42
5,321	0,025	2,97	0,16	4,02	0,112	0,04	0,34	0,41	0,81

S^2_{proc} : varianza del procedimiento, CV_{proc} : coeficiente de variación del procedimiento, U_{proc} : incertidumbre del procedimiento, S^2_{MRC} : varianza del material de referencia certificado, U_{MRC} : incertidumbre del material de referencia certificado, U_{traz} : incertidumbre de la trazabilidad, U_{estandar} : incertidumbre estándar del método, $U_{\text{expandida}}$: incertidumbre expandida del método

A pesar de la labor desarrollada por estos organismos en los últimos años, la estimación e informe de la incertidumbre de medida son prácticas que no se realizan todavía en los laboratorios clínicos. Este hecho puede ser debido, tal como se refiere en González (2002), al desconocimiento o la falta de valoración por parte del personal del laboratorio clínico de la importancia que conlleva el conocimiento de la incertidumbre de un resultado, y/o también a la relativa complejidad del procedimiento para estimar la incertidumbre.

Además, la tendencia actual en el laboratorio es la incorporación de nuevas magnitudes para el diagnóstico, pronóstico o seguimiento de enfermedades ya conocidas o de nueva aparición. Este hecho complica aun más, la dificultad de conocer la incertidumbre asociada a los resultados obtenidos, debido a los diversos procedimientos que se usan en un laboratorio clínico, los distintos pasos que configuran cada uno de estos procedimientos, la diversidad de analizadores en que están incorporados o la variedad de procedimientos manuales que se tienen. Son puntos que se

deben tener en cuenta previamente cuando se plantea realizar cualquier estudio de la incertidumbre.

Independientemente de cuál sea la causa, en los laboratorios es necesario hacer un esfuerzo para estimar la incertidumbre asociada a los resultados de medida.

Según los resultados expuestos anteriormente, para la evaluación del método modificado de Jaffé, se puede afirmar que el mismo, es confiable para determinación de creatinina en suero, desde 0,3 hasta 18 mg/dl. Esto es importante porque, aunque la medida de creatinina en suero no debe utilizarse en forma aislada para valorar la función renal (K/ DOQI, 2002; Levey *et al.*, 2005; Gracia *et al.*, 2006 y Myers *et al.*, 2006), la exactitud en sus valores es necesaria para calcular las ecuaciones del grado de filtración glomerular, el cual sí se considera como mejor indicador de la función renal. Ello permite realizar un correcto diagnóstico, tratamiento y seguimiento de las enfermedades renales. De ahí la importancia de evaluar dicho método, para decidir sobre su aceptación o no en el laboratorio, de forma que si el resultado contiene un error elevado puede conducir a falsas interpretaciones y llevar a un diagnóstico equivocado y afectar directamente al paciente.

A pesar de varios estudios reportados, como los de la Sociedad Clínica Brasileira y Sociedad de Patologías (Picheth y Yokoo, 2001) en 36 laboratorios; y los de Guarache y Rodríguez (2003) en 10 laboratorios Clínicos de Cumaná, quienes mostraron que las determinaciones manuales presentaban la mayor cantidad de errores en los resultados y estos fueron atribuidos a factores de calibración, condición y dilución de la muestras, temperatura ambiental, entre otros; el método evaluado, el cual tiene un procedimiento manual, presenta confiabilidad analítica.

Es importante destacar que la confiabilidad de los resultados de laboratorio, no sólo dependen de la metodología utilizada, sino de una serie de factores analíticos, como son el entrenamiento y capacitación de los analistas, la adquisición, mantenimiento y control de materiales, equipos e instrumentos de buena calidad, por ello es imprescindible para el laboratorio implementar sistema de garantía de calidad (Sáez y Gómez, 2006) que permita controlar no sólo los factores analíticos sino los preanalíticos y postanalíticos, con el objetivo final de prestar un servicio de calidad al usuario en general.

Por otra parte, los procesos de evaluación de los métodos de laboratorio tienen un efecto inmediato en las actividades del laboratorio, ya que determinan si los resultados son lo suficientemente fiables para ser usados, bien sea para la toma de decisiones cruciales o para propósitos de diagnóstico o de investigación (González y Capriotti, 2006). Por lo tanto, la correcta selección de estos métodos es indispensable para los laboratorios que tengan como objetivo el obtener determinaciones analíticas de calidad y debe convertirse en una obligación profesional para todos los licenciados en Bioanálisis.

Determinación Del Intervalo De Confiabilidad De Creatinina En Los Sueros Control

En la tabla 11 se observan los valores de los límites de control o confiabilidad obtenidos en 20 días en las dos mezclas de sueros preparadas en el laboratorio, utilizando para ello el método evaluado. La confiabilidad de los datos es confirmada por el CV obtenido, siendo menor al 10% para los dos niveles de creatinina.

Tabla 11. Intervalo de confiabilidad de creatinina en los sueros control preparados en el laboratorio.

Creatinina	\bar{X}	DE	CV
Control			
“normal”	1,32	0,09	7,19
Control			
“anormal”	4,15	0,26	6,11

\bar{X} : media, DE: desviación estándar, CV(%): coeficiente de variación

En las gráficas de control de calidad para los dos niveles de controles procesados (figuras 6 y 7), se observa reproducibilidad de los datos; ya que el 95% de los resultados están dentro de $\pm 2DE$, los valores se distribuyen casi uniformemente a ambos lados de la línea media, no se encontraron más de cinco determinaciones consecutivas a un mismo lado de ésta, ni tendencias de los resultados; por lo tanto, se confirma la confiabilidad de los resultados de creatinina.

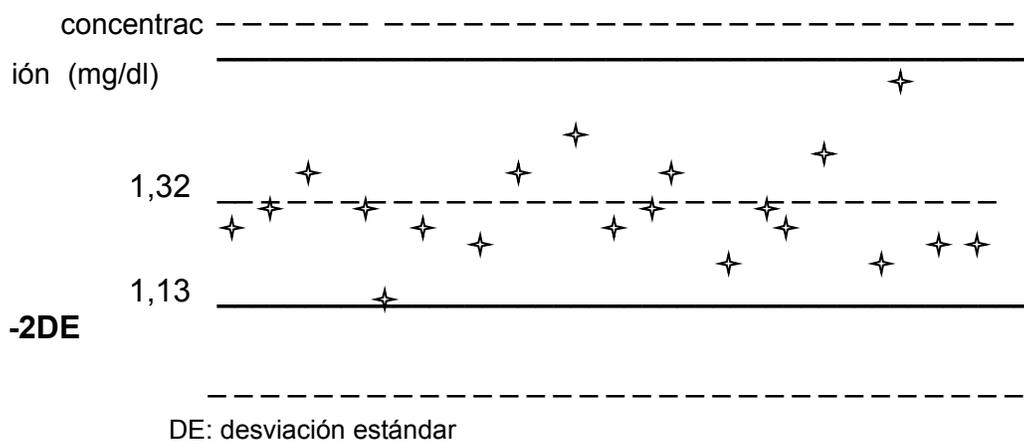


Figura 6. Levey-Jennings para el Control “normal” de creatinina.

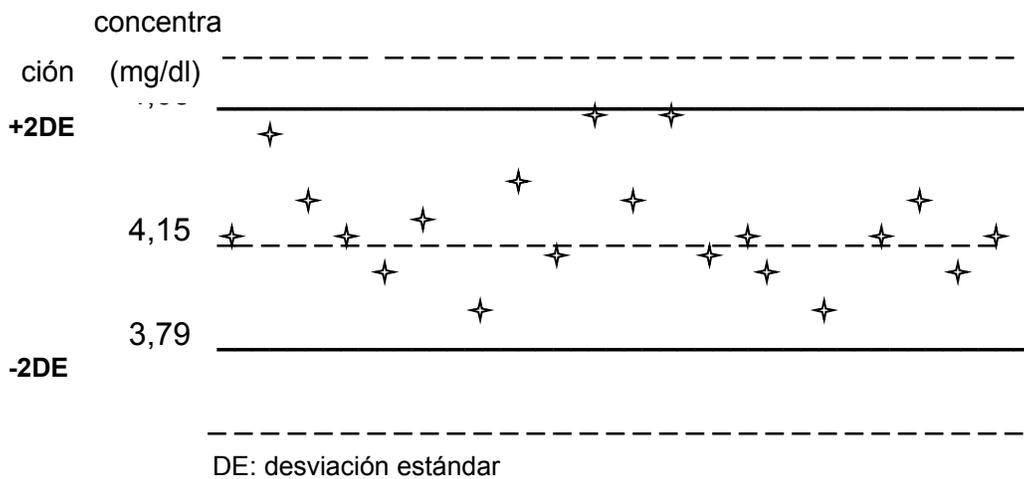
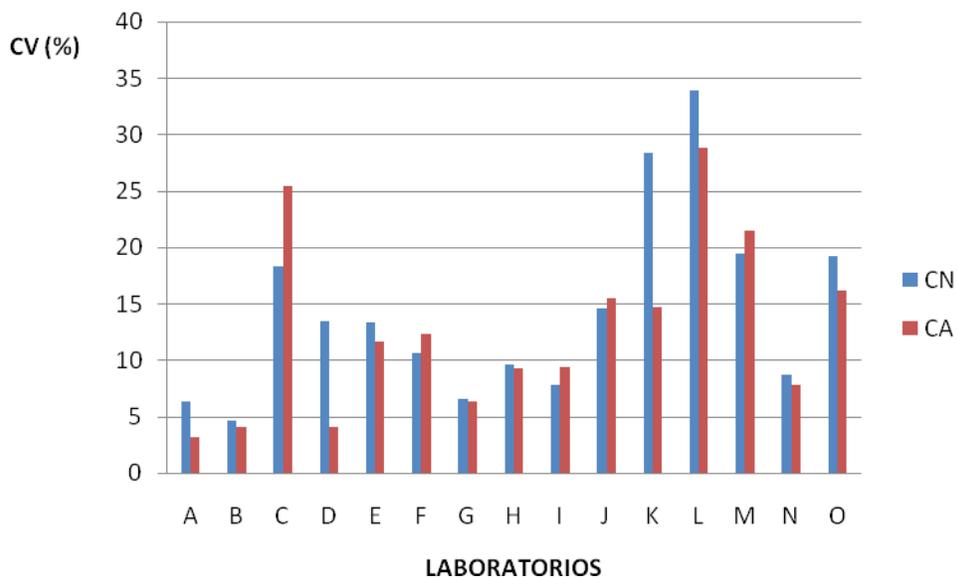


Figura 7. Levey-Jennings para el Control “anormal” de creatinina.

Valores De Controles “Normales” Y “Anormales” De Creatinina En Los Diferentes Laboratorios Participantes De Cumaná.

La figura 8 señala la imprecisión obtenida por cada laboratorio en el control “normal” y “anormal” de creatinina, a través del valor del coeficiente de variación (CV). Sólo el 20% (A-B-G) de los laboratorios obtuvo alta reproducibilidad en los resultados durante el periodo de evaluación, con valores de CV menores al 7,37%, encontrándose en el laboratorio B mayor precisión en las determinaciones. Dichos laboratorios utilizaron un método de Jaffé cinético, con instrumentación automatizada, al igual que los laboratorios E y J, los cuales, sin embargo, no arrojaron alta precisión ($CV > 10\%$).



CV: coeficiente de variación, CN: control “normal”, CA: control “anormal”

Figura 8. Precisión de los laboratorios clínicos en determinaciones de creatinina en suero.

La variabilidad de los resultados que se observa en los laboratorios E y J, se considera una variabilidad interdiaria alta, pues dichos laboratorios trabajaron con instrumentos automatizados, los cuales muestran menor imprecisión que los manuales; por lo cual se infiere que la variación producida en dichos laboratorios fue por falta de un control de calidad analítica para la determinación de creatinina y no por la metodología empleada. Sin embargo, Anderson y Cockayne (1993) considera otros factores como: variaciones en el instrumento que ocurren durante período de días, cambios en calibradores y reactivos y cambios de personal de un día a otro, afectando todo ello la precisión de los resultados.

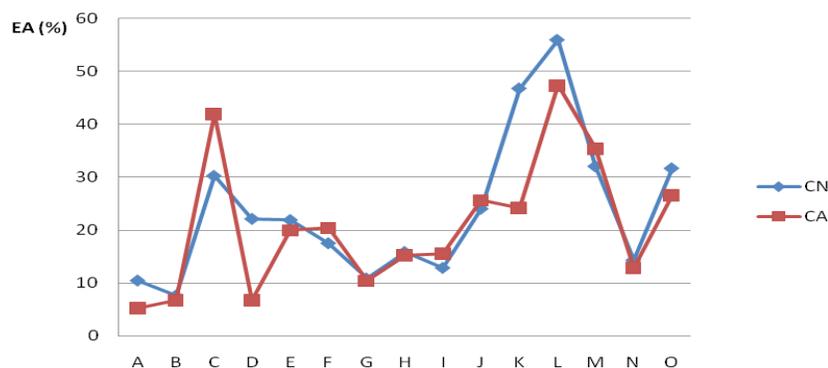
Por otra parte, los laboratorios con mayor imprecisión intralaboratorio fueron el C-K-L-M-O, representando el 33,33%. Todos ellos utilizaron instrumentación semiautomatizada, siendo el laboratorio L el de mayor imprecisión, con un valor de CV de 33,92% y 28,78% para el control “normal” y “anormal”, respectivamente. Aunque estos laboratorios hayan utilizado instrumentos semiautomatizados para los análisis de creatinina, donde intervienen mayores factores analíticos con respecto a los automatizados, como pipeteo, mezcla, control del tiempo y variabilidad en los operadores, los mismos pueden disminuirse con una manipulación cuidadosa, mejorando así la precisión intralaboratorio.

El laboratorio C utilizó un método de Jaffé punto final, cuya imprecisión fue mucho mayor al obtenido por el laboratorio F (CV: 10,63% y 12,37%), el cual utilizó el mismo método. Dicho procedimiento analítico es similar al evaluado en esta investigación, donde se obtuvo precisión y trazabilidad al material de referencia certificado por el NIST, como se explicó anteriormente. Ello corrobora, la falta de control interno de la calidad en el laboratorio C y no por errores en la metodología empleada.

Estos resultados de imprecisión concuerdan con un estudio sobre evaluación externa de la calidad en la ciudad de Cumaná (Guarache y Rodríguez, 2003), los cuales encontraron valores de CV menores a 6,3% en sólo el 20% de los laboratorios para el CN y 50% para el CA. El alto porcentaje de laboratorios con poca precisión en los resultados de creatinina, puede ser debido, como se mencionó anteriormente a la falta de programas de control de calidad analítica en los laboratorios de la ciudad de Cumaná.

Así mismo, los resultados de este estudio coinciden con Ramírez *et al.* (2006), quienes obtuvieron precisión en el 28,57% y 57,14% para el CN y CA, respectivamente, en los laboratorios de la ciudad de Mérida. Ello refleja, una vez más, la necesidad de implementar Programas de Control de Calidad Interna en los laboratorios de nuestro país.

En la figura 9 se muestra el error aleatorio obtenido por cada laboratorio en la determinación de creatinina para ambos niveles de controles, demostrando que el 73,33% de los laboratorios superan al 10% de error.



EA: error aleatorio, CN: control "normal", CA: control "anormal"

Figura 9. Error aleatorio en los análisis de creatinina por laboratorio.

En general, este tipo de error puede ser ocasionado por factores incontrolables del procedimiento como variabilidad en el pipeteo, en el tiempo y temperatura de incubación; o del instrumento de medida como ruido de los detectores, fluctuaciones de la intensidad de luz, ruido procedente de los componentes electrónicos, fluctuaciones de la lámpara (Fuentes, 1998; Sáez y Gómez, 2006); los cuales no pueden ser completamente evitados. Sin embargo, puede reducirse o minimizarse con una adecuada selección del procedimiento de medida, apropiado mantenimiento preventivo del equipo de medida, mediante el adiestramiento de los operarios y con un riguroso seguimiento del procedimiento escrito; todo ello con el fin de que este error no afecte la utilidad clínica del resultado obtenido.

Por ello, se puede inferir que en los laboratorios participantes, estos errores se originaron por la falta de un control interno de calidad, cuyo objetivo fundamental es demostrar la reproducibilidad de los resultados para reducir el nivel de incertidumbre en los mismos. Este tipo de error influyó en la precisión de los análisis de creatinina en los sueros controles y, por tanto, también van a estar presentes en los resultados de los pacientes.

Según Terrés (2007), el establecimiento de metas analíticas es el primer paso en cualquier sistema de control de calidad. Por ello y de acuerdo al alto porcentaje de laboratorios clínicos de Cumaná que presentaron alta imprecisión en sus resultados, se hace necesario el cálculo del coeficiente de variación relativo (CVR: $VA\%/VB\%$) por parte de los responsables de dichos laboratorios, lo cual permitirá el establecimiento de las metas analíticas de cualquier analito; por lo que es imprescindible que se cuenten con límites de referencia adecuados para la población atendida y se determine el coeficiente de variación analítico de cada prueba, ya que Según Fuentes y Valero (1998) y González (2004), las variaciones de los resultados de un

paciente se deben a la variabilidad analítica y a la variación biológica, así como al deterioro o a la mejora de su estado. Se han utilizado varias estrategias para definir los objetivos de calidad analítica respecto a la imprecisión que han de presentar los métodos empleados en los laboratorios clínicos. El criterio que se recomienda en la actualidad para establecer los objetivos de imprecisión analítica señala que debe depender de la variabilidad biológica del componente que se mide. Dentro de estos criterios están los de Tonks en el que se afirma que la variabilidad analítica debe ser el 25% del intervalo de la variabilidad biológica, el criterio de Aspen, el cual representa el 12,5 del intervalo, y el Six sigma representa reducir la variabilidad analítica a 4,2% de la variabilidad biológica (Westgard, 2003; Terrés, 2007). Es decir, además de determinar la variabilidad analítica de los procedimientos usados en el laboratorio, se debe tener en cuenta la variabilidad biológica de cada uno de los analitos para determinar cuál es el error total que se puede permitir en cada uno. Todo ello, con la finalidad de arrojar resultados confiables a los pacientes que acuden a dichos laboratorios.

Por otra parte, la evaluación del sesgo o error sistemático (ES) y error total máximo tolerable (ETM) en los análisis de creatinina de cada laboratorio representados en las tablas 12 y 13 se realizaron según el criterio de calidad para análisis realizado en suero o plasma de la AEFA (Morancho y Fernández, 2002; Calafell *et al.*, 2005), el cual acepta como límite, un valor de 13,26% y 28,00%, respectivamente.

Tabla 12. Desempeño analítico en los resultados del control “normal” de creatinina de los laboratorios participantes de Cumana, estado Sucre.

Laboratorios	\bar{X}	D	C	E	E	E	DRP
	E	V	A	S	TM		
A	0,94	0	6	1	-	-	-19,65
B	1,28	0	4	7	3	1	9,40
C	1,26	0	1	3	4	3	7,69
D	1,06	0	1	2	-	-	-9,40
E	1,13	0	1	2	-	-	-3,41
F	1,19	0	1	1	-	-	1,70
G	0,87	0	6	1	-	-	-25,64
H	1,53	0	9	1	1	3	30,76
I	1,01	0	7	1	-	-	-0,14
J	0,98	0	1	2	-	-	-16,23
K	1,37	0	2	4	5	5	17,09
L	1,38	0	3	5	4	6	17,94
M	1,35	0	1	3	2	3	15,38
N	0,92	0	8	1	-	-	-21,37
O	1,25	0	1	3	-	-	6,83
laboratorio							
s			2		4	1	46,66
aceptables			0,00		6,66	3,30	

(%) \bar{X} : media, DE: desviación estándar, CV(%): coeficiente de variación, EA(%): error aleatorio, ES(%): error sistemático, ETM(%): error total, DRP(%): desviación relativa porcentual

Tabla 13. Desempeño analítico en los resultados del control “anormal” de laboratorios participantes de Cumana, estado Sucre.

creatinina de los

Laborat	-	D	C	E	E	E	DR
orios	E	V	A	S	TM	P	
A	3	0	3	5	1	2	9,19
	,46	,109	,16	,21	6,63	1,84	
B	4	0	4	6	2	8	11,2
	,24	,174	,10	,76	,17	,93	8
C	4	1	2	4	-	-	8,40
	,13	,049	5,42	1,94	0,48	42,42	
D	2	0	4	6	-	-	-
	,31	,094	,07	,72	44,34	37,62	39,37
E	3	0	1	1	-	-	-
	,68	,429	1,66	9,94	11,08	31,02	3,41
F	3	0	1	2	2	4	-
	,02	,374	2,37	0,41	7,22	7,63	20,73
G	3	0	6	1	-	-	-
	,31	,209	,32	0,42	20	30,42	13,12
H	4	0	9	1	8	2	18,3
	,51	,417	,24	5,25	,67	3,92	7
I	3	0	9	1	-	-	-
	,28	,309	,41	5,52	20,72	36,24	13,65

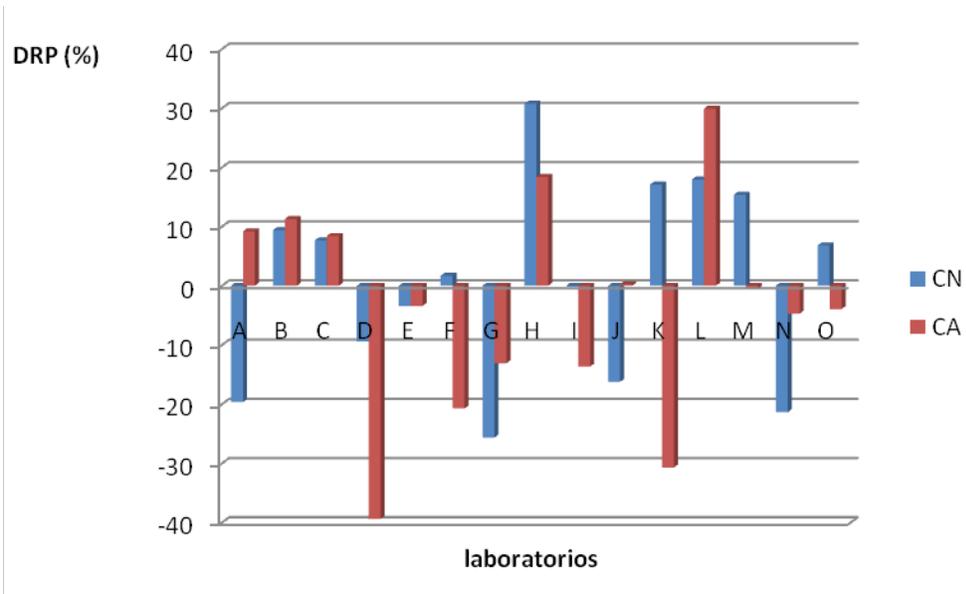
J	3	0	1	2	-	-	0,26
	,82	,592	5,50	5,61	7,95	33,56	
K	2	0	1	2	-	-	-
	,64	,387	4,65	4,17	36,38	60,55	30,71
L	4	1	2	4	1	6	29,9
	,95	,423	8,78	7,38	9,28	6,66	2
M	3	0	2	3	-	-	-
	,79	,812	1,45	5,39	8,67	44,06	0,52
N	3	0	7	1	-	-	-
	,63	,283	,78	2,83	12,53	25,36	4,72
O	3	0	1	2	-	-	-
	,66	,590	6,12	6,59	11,80	38,39	3,94
<hr/>							
Laborat							
orios			2		5	2	66,6
aceptables			6,60		3,33	6,70	6
(%)							

\bar{X} (mg/dl): media, DE: desviación estándar, CV(%): coeficiente de variación, EA(%): error aleatorio, ES(%): error sistemático, ETM(%): error total, DRP(%): desviación relativa porcentual

Para estos cálculos se utilizó como valor “verdadero” del analito, el obtenido con el método de Jaffé punto final durante el establecimiento del intervalo de confiabilidad de creatinina en los sueros controles que fueron distribuidos a los laboratorios participantes, cuyos valores fueron 1,32 mg/dl para el control “normal” y 4,15 mg/dl para el “anormal”. Según este criterio, se obtuvo un 46,66% y 53,33% de los laboratorios con error sistemático aceptable para el control “normal” y “anormal”, respectivamente.

También se utilizó la ecuación DRP (figura 10) para estimar la desviación del resultado de un laboratorio en particular, con respecto al valor consenso del grupo de laboratorios, el cual tiene un límite máximo para la creatinina de 15%, según el programa de evaluación externa de la calidad de la Fundación Bioquímica Argentina (Perasso y Mazziotta, 2004). Siguiendo este criterio se obtuvo 46,66 (CN) y 66,66% (CA) de laboratorios con una desviación relativa aceptable. En dicha gráfica, se aprecia que no existe un comportamiento uniforme entre los laboratorios para ambos controles, lo cual refleja que no hubo errores inherentes de los sueros controles, sino a errores propios de cada laboratorio.

A pesar de que aproximadamente la mitad de los laboratorios obtuvo un DRP aceptable, la desviación obtenida en este evaluación fue mayor a los obtenidos por Ramírez *et al.* (2006), en la ciudad de Mérida, indicando, una vez más, la falta de control interno para creatinina en laboratorios de nuestra región.



DRP: desviación relativa porcentual CN: control “normal”, CA: control “anormal”

Figura 10. Desviación sistemática para la determinación de creatinina en suero, por los laboratorios clínicos de Cumaná, Edo. Sucre.

Según los criterios de AEFA, y del DRP, el 53,33 y 46,66% (tabla 12 y 13) de los laboratorios obtuvieron errores sistemáticos inaceptables en los resultados de creatinina, tanto en el control “normal” como en el “anormal”, respectivamente. Estos resultados concuerdan con Myers *et al.* (2006), en un estudio interlaboratorio, quienes concluyeron que es necesario la disminución de la desviación analítica en los laboratorios clínicos, en ensayos de creatinina. También concuerdan con un PEEC del Colegio Americano de Patólogos (CAP), donde se obtuvo una alta desviación sistemática en los sueros ensayados por los laboratorios, recomendando los programas de estandarización trazables a métodos de referencia de alto nivel (IDMS), para mejorar los resultados de este analito (Miller *et al.*, 2005).

Para lograr esta estandarización, tal como lo refiere Myers *et al.*

(2006), es importante el esfuerzo conjunto de los fabricantes de métodos e instrumentos, laboratorios clínicos, organizaciones gubernamentales y programas de evaluaciones externas de calidad. La Guía ISO-17511 (2003) detalla los procedimientos para el establecimiento de la trazabilidad de los resultados del laboratorio.

Por otra parte, Miller *et al.* (2005) en un estudio interlaboratorio en Virginia, USA, encontraron una alta relación significativa entre la variabilidad y desviación de los resultados con respecto a los tipos de instrumentos de medición y no con el método usado.

La desviación analítica obtenida por los laboratorios participantes pudo ser causada, tal como se refiere en Gella (1998), por errores de calibración. Dicho autor afirma que no siempre es posible realizar una calibración adecuada del procedimiento o método de medida, por la ausencia de calibradores con las suficientes garantías en el valor asignado, o porque la matriz del calibrador es significativamente diferente de las muestras.

En general, se considera que si se selecciona un procedimiento de medida de gran especificidad analítica y se calibra adecuadamente, se minimizan los errores sistemáticos en los resultados. Según Leiva, (2006) y Miller *et al.* (2005), las mejores garantías para una correcta calibración, las ofrecen los materiales de calibración trazables a algún material de referencia certificado ó patrón internacional y con incertidumbre conocida para el valor asignado. Desafortunadamente, tales cualidades no son frecuentes en la actualidad, aunque se espera que esta situación se corrija en un futuro próximo por la influencia creciente de las normas internacionales (ISO, 2000) sobre fabricantes de productos para diagnóstico *in vitro* y laboratorios clínicos.

Otro aspecto de importancia para disminuir el error sistemático en la calibración es la ausencia de efecto matriz (Leiva, 2006). Para ello, es conveniente que el material de calibración tenga una matriz idéntica, o lo más similar posible, a las muestras humanas que se analizan. Dado que los métodos de rutina utilizados en los laboratorios suelen ser menos específicos que los de referencia, la existencia de algún elemento interferente en la matriz del calibrador puede originar errores sistemáticos en las muestras analizadas.

Por último, es indispensable en los laboratorios clínicos, la calibración de los instrumentos y equipos auxiliares de medida, tales como: pHmetros, balanzas, pipetas automáticas, dispensadores, diluidores, espectrofotómetros y lectores, trazados con patrones adecuados (González, 2004). La calibración tiene por objeto en estos casos la estimación de los errores sistemáticos. Una vez realizada esta estimación, debe considerarse como aceptable, si es el caso, o corregirla mediante ajuste o mediante la aplicación de un factor apropiado. Este tipo de calibración debe realizarse con una periodicidad notablemente más amplia que la calibración de los procedimientos de medida o métodos analíticos.

Es importante resaltar que la calibración corrige muchos errores sistemáticos de los instrumentos y equipos auxiliares de medida utilizados, pero no todos, en particular si la calibración se realiza con un único valor, la cual fue la utilizada por los laboratorios con instrumentación semiautomatizada en los ensayos de creatinina que participaron en este estudio.

En la tabla 14 se reflejan los valores de CV interlaboratorio del control “normal” y “anormal” en los resultados de creatinina. Es importante destacar

que este CV interlaboratorial no expresa el concepto de precisión o error aleatorio ya discutido. Simplemente demuestra la alta dispersión en determinaciones del analito entre los diferentes laboratorios participantes de Cumaná al analizar la misma muestra control. Dicha dispersión en general se explica más por errores sistemáticos que por errores aleatorios.

Estos resultados concuerdan con el estudio realizado en la misma ciudad por Guarache y Rodríguez (2003). Ambos estudios arrojaron valores de CV mayores a los obtenidos por un grupo de trabajo de la Sociedad Francesa de Biología Clínica (SFBC) en laboratorios de Francia (Vivien *et al.*, 2005), los cuales obtuvieron valores de 14,2% para niveles “normales” y 7,7% para niveles altos de creatinina, utilizando métodos enzimáticos y cinéticos con instrumentación automatizada. Aunque en el presente estudio los laboratorios no utilizaron métodos enzimáticos, los cuales son más específicos (Oláh *et al.*, 2008), la mayoría empleó métodos cinéticos, por lo cual se considera una alta dispersión interlaboratorial para los resultados de creatinina.

Tabla 14. Variabilidad interlaboratorio en la determinación de creatinina en suero.

	\bar{X}	DE	CV (%)
Control “normal”	1,17	0,20	17,03
Control	3,81	0,53	13,95

\bar{X} : media, DE: desviación estándar, CV(%): coeficiente de variación

Así mismo, en este estudio se obtuvieron valores de CV mayores a los obtenidos por un PEEC en Argentina, descritos por Gella (1998) y por Ramírez *et al.* (2004), con 11,10% y 10,09% de imprecisión interlaboratorio,

respectivamente, para la creatinina sérica.

La alta dispersión indica la necesidad de armonización entre los laboratorios de Cumaná, la cual sólo es posible si se mantiene la participación en un PEEC (Terrés, 2003, Miller *et al*, 2005). Ello permitiría al jefe del laboratorio, con la información obtenida de estos programas, seleccionar y preferir los instrumentos y métodos que respondan satisfactoriamente al consenso global de los laboratorios.

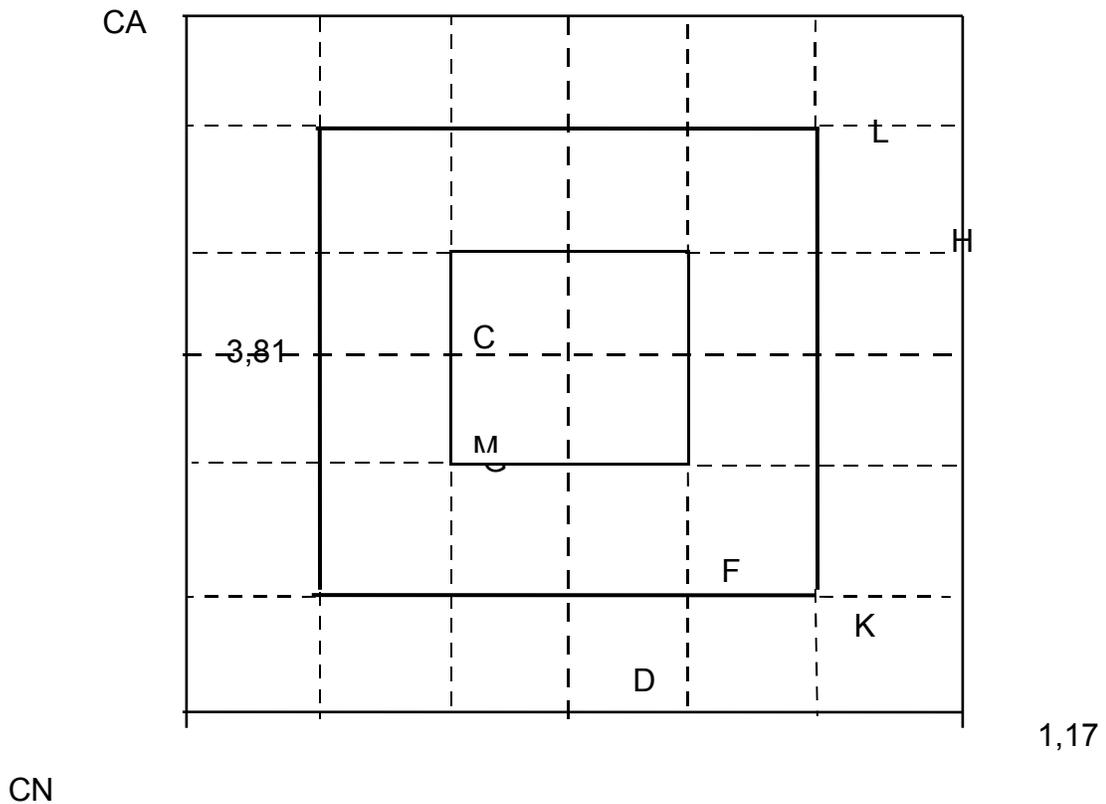
La alta variabilidad en los valores de creatinina en un mismo laboratorio y entre los diferentes laboratorios clínicos de Cumaná hace imposible la transferibilidad de los mismos. Esto es importante, tal como lo refieren González (2004) y Terrés (2003), pues la transferibilidad de los resultados es fundamental, ya sea en un mismo o entre diferentes laboratorios, independientemente del fabricante, del método o del instrumento que se utilice y de esta manera satisfacer las necesidades de relevancia médica. Significa, entonces, que si un mismo paciente acude varias veces a lo largo del tiempo a un mismo laboratorio, no obtendrá comparabilidad entre sus resultados, ni tampoco para el que acuda a varios laboratorios, ya sea del mismo centro hospitalario o de la misma región.

La dispersión interlaboratorio observada en la ciudad de Cumaná hace necesaria la estandarización en los laboratorios de la región o incluso del país, la cual tiene como objetivo primordial procurar que los resultados procedentes de diferentes laboratorios sean transferibles y se logrará, como se mencionó anteriormente, mediante la promoción del desarrollo y empleo de patrones y métodos de referencia, así como de terminología y unidades homologadas. Aunque también se debe considerar lo expuesto por Myers *et al*. (2006), quienes indican que la estandarización no corrige los problemas de interferencias analíticas, que también, es causa de desviaciones

sistemática, por lo cual, estos autores recomiendan la evaluación de inespecificidad analítica de los métodos de rutina utilizados en los laboratorios.

Asimismo, Van *et al.* (2006) y Komenda y Beaulieu (2008), indican la importancia de implementar programas de evaluación externa de calidad (PEEC). En su estudio, el programa redujo el error total promedio de 23,9 a 8,7% y el error sistemático promedio de 16,5 a 2,7%. Por lo cual, estos autores aseguran que implementando este programa a largo plazo, podría reducir en un 84% los errores de terapia en pacientes con enfermedades crónicas del riñón.

La gráfica de Youden (figura 11) suministra información visual del grado de dispersión de los valores medios de los laboratorios participantes en la determinación de creatinina y cuánto se aproxima cada valor a la media consenso del grupo de laboratorios. En la misma se comparan los resultados medios de los 15 laboratorios participantes que analizaron las mismas dos mezclas de control de creatinina (“normal” y “anormal”). Los cuadrantes superior izquierdo e inferior derecho albergan todos los valores divergentes (un control da valores más bajos que la media acumulada y el otro da valores más bajos); por otro lado, los cuadrantes superior derecho e inferior izquierdo albergan los valores consistentes (los dos sueros dan resultados más altos o más bajos que la media acumulada). Según Youden (1960), se considera, “bueno”, todos los valores que están dentro de 1DE, lo cual representó el 40,0% de los laboratorios participantes, es decir están más próximos a la media consenso, y presentan menor desviación sistemática para los dos sueros controles, así como poca dispersión interlaboratorio, debido a que sus valores se encuentran próximos entre sí.



CN (mg/dl): control "normal", CA: (mg/dl): control "anormal"

Figura 11. Youden por laboratorio para las determinaciones de creatinina.

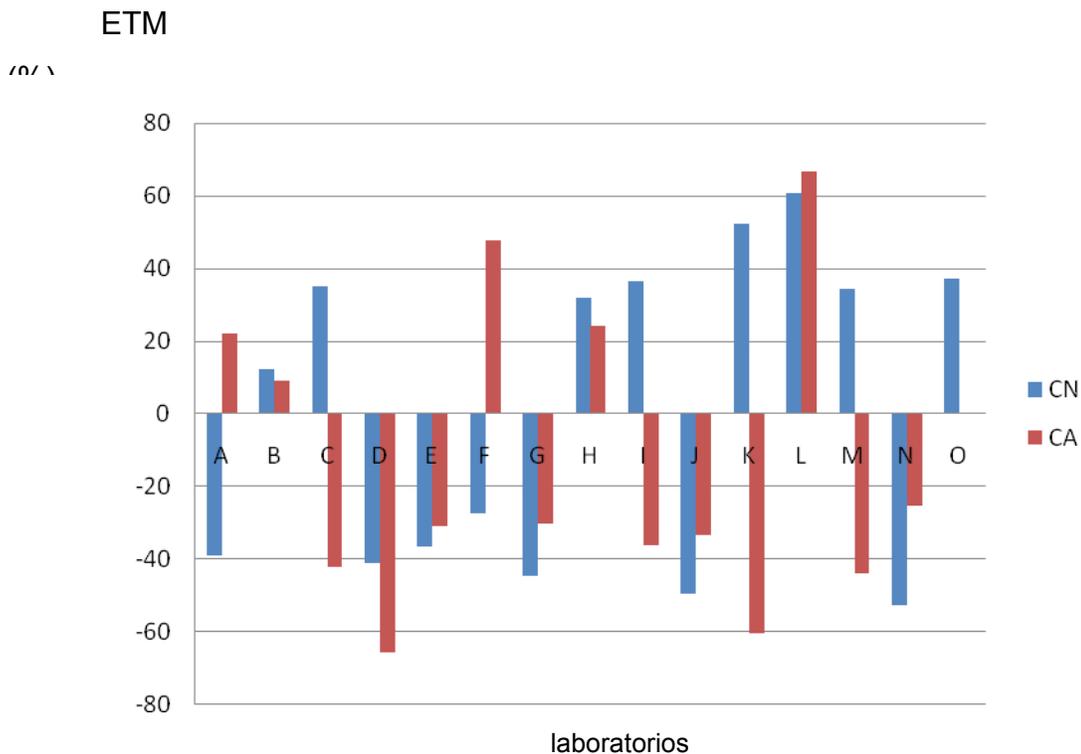
Los laboratorios J, G, N, A y H, se encuentran entre 1 y 2DE, por lo cual se consideran "aceptables". El laboratorio F no se considera "aceptable" ya que, aunque esté dentro de la zona de 2DE, su valor medio se halla en el cuadrante divergente. La alta desviación sistemática de los laboratorios D, K y L, se refleja en dicha gráfica, pues sus valores están fuera de 2DE.

Los laboratorios D, K y L presentaron la mayor desviación sistemática, comprobándose esto, tanto por los resultados de ES (tablas 12 y 13) y DRP (figura 10), como en la gráfica de Youden. Estos laboratorios utilizaron una

instrumentación semiautomatizada; sin embargo, no se considera como causa de la alta desviación, debido a que los laboratorios C, M y O también la utilizaron y obtuvieron baja desviación. Por lo cual, se sugiere la necesidad de una revisión metodológica, por parte del personal supervisor de dichos laboratorios, para identificar y corregir la fuente de desviación, puesto que esta misma desviación sistemática estará presente en los resultados de las muestras de los pacientes, lo cual podría afectar la toma de decisiones médicas.

La desviación que presentaron dichos laboratorios podría deberse, como se mencionó anteriormente, a la dificultad de realizar una correcta calibración de los instrumentos (Steven *et al.*, 2007). Este tipo de error afecta poco a la variabilidad de los resultados y señala la necesidad de recalibrar los instrumentos. Por otra parte, el peso de la eliminación de los problemas de desviación sistemática, tal como se refiere en López (1994), no debe descansar únicamente sobre los hombros del responsable del laboratorio, sino también debe ser compartido por el fabricante y los distribuidores de equipos y reactivos.

Según los resultados del error total máximo (ETM), demostrado en la figura 12, sólo el 13,30% y 27,70% de los laboratorios obtuvo exactitud aceptada para el control “normal” y “anormal”, respectivamente, con valores menores a 28% de ETM. Este bajo porcentaje de exactitud en los laboratorios se debió, posiblemente, como se mencionó anteriormente, a los altos niveles de errores aleatorios presente en cada laboratorio. Pues para que haya exactitud en un resultado, se deben controlar tanto los errores sistemáticos como aleatorios (ISO, 1994). Sin embargo, es notable que la mayoría de los laboratorios con error sistemático aceptable, arrojaron altos valores de CV.



CN: control "normal", CA: control "anormal"

Figura 12. Porcentaje de error total máximo en determinaciones de creatinina por laboratorio.

Los laboratorios B y F obtuvieron adecuada exactitud para el control "normal", sin embargo, al observar los valores de CV en estos laboratorios, sólo el laboratorio B obtuvo alta precisión, pudiendo afirmar que fue el único laboratorio que arrojó alta exactitud, con un error total de 12,15%, tomando en consideración que un resultado es exacto, si tiene precisión y veracidad aceptable. Este bajo porcentaje de laboratorios con exactitud en los análisis de creatinina es alarmante, por lo cual se recomienda a los responsables de laboratorios de la ciudad de Cumaná, implementar programas de control de calidad interno para minimizar la imprecisión e inexactitud de los resultados, particularmente de creatinina. Todo ello, con la finalidad de seguir las

recomendaciones de organismos internacionales, como los del NKDEP, con el propósito disminuir el error en los valores del grado de filtración renal (GFR), el cual es el mejor indicador de la función renal y, por ende, disminuir los errores en el diagnóstico, control y tratamiento de los pacientes con enfermedad renal.

Por otra parte, la evaluación simultánea de la variabilidad biológica y de la analítica, además de la precisión y de la exactitud, permitirá lograr la cuantificación del error total, de manera simple y confiable (Terrés, 2006). Por lo tanto, vale la pena destacar que, en la mayoría de los laboratorios clínicos, se manejan de forma rutinaria los límites de referencia y se cuantifican los coeficientes de variación analíticos; sin embargo, raramente se correlacionan estos datos, ya que son muy pocos los que cuantifican el coeficiente de variación biológico y el coeficiente de variación relativo, por lo que se ven imposibilitados para integrar todo el control de calidad, medir el error total y, de esta manera, conocer su nivel de incertidumbre.

Asimismo, es imprescindible avanzar en la estandarización de los métodos de medida de creatinina a la vez que mejorar su precisión y exactitud, para poder aplicar criterios de decisión clínica universales y disminuir la incertidumbre de los valores de GFR. Las soluciones a los problemas actuales en la evaluación de la función renal incluyen el desarrollo de nuevas ecuaciones de estimación del FG con mayor exactitud diagnóstica, obtenidas a partir de métodos estandarizados de creatinina y/u otras magnitudes biológicas.

Es considerable señalar la importancia que tiene para los laboratorios de Cumaná la implementación de normas de funcionamiento, como la norma COVENIN ISO 15189: 2004 " *Laboratorios clínicos. Requisitos particulares*

para la calidad y competencia”, la cual abarca todo el proceso analítico, desde la etapa pre hasta la post analítica, dando importancia, entre otros, a la participación en EEC, evaluación de la variabilidad biológica y analítica, además de la trazabilidad, la validación de los métodos analíticos y la medición de la incertidumbre de los resultados, para poder demostrar la relevancia médica de los mismos (FECOBIOBE, 2005). Todo esto permitirá a los laboratorios ser competitivos y rentables en el tiempo con un sistema de Gestión de calidad adecuado.

Es claro que el laboratorio clínico es un subsistema inmerso en el sistema de salud y juega un papel de suma importancia en la medicina, no sólo en el establecimiento del diagnóstico, sino en el pronóstico y vigilancia del tratamiento, influyendo también, de manera significativa, en la salud pública y la medicina preventiva. Es indudable que la importancia y el impacto del laboratorio seguirá creciendo conforme al desarrollo científico y tecnológico, generando múltiples retos que deberemos afrontar, no sólo desde la dimensión tecnológica y la perspectiva económica, sino, sobre todo, desde el punto de vista humano, en el cual la capacitación continua, la asesoría y la asistencia técnica juegan un papel fundamental en la mejora continua de la calidad.

CONCLUSIONES

El método modificado de Jaffé para determinación directa de creatinina en suero presenta precisión a concentraciones “normales” y “anormales” de creatinina con un límite de cuantificación y linealidad desde 0,3 mg/dl hasta 18 mg /dl. Además, presenta veracidad a las concentraciones estudiadas y es trazable al MRC del NIST. Por tanto, puede ser empleado con confiabilidad a niveles bajos, dentro y superior al rango de referencia de este analito.

El componente de incertidumbre correspondiente a la variabilidad premetrológica no es despreciable, a pesar de que todos los procesos que forman parte de esta fase estén aparentemente bien normalizados

La varianza correspondiente a la imprecisión del procedimiento tiene un comportamiento heterocédastico, aumentando su valor a medida que aumenta la concentración de creatinina. Este hecho se debe tener en cuenta cuando se estima la incertidumbre metrológica de un procedimiento a diversas concentraciones del componente.

El método estudiado cumple con los requerimientos de las organizaciones internacionales de enfermedades renales, siempre que en el laboratorio se esté en condiciones de garantía de calidad.

Los laboratorios clínicos participantes de Cumaná deben mejorar su desempeño analítico en la determinación de creatinina, pues la precisión intra e interlaboratorio y la veracidad fue baja en la mayoría de los participantes, debido a la falta de implementación de programas de control

de calidad interno y externo. Por lo que no se recomienda la transferibilidad de resultados para este analito entre el grupo de laboratorios.

BIBLIOGRAFÍA

Allston, C. 1995. Compuestos nitrogenados no proteicos y funcionamiento renal. En: *Química Clínica*. Anderson, S. y Cockayne S. Editorial Interamericana. Buenos Aires. pp: 369-387.

Anderson, S. y Cockayne,, S. 1993. *Química Clínica*. Editorial Interamericana. México. 731 p.

Bakes, R. 1993. Preservación de la calidad. En: *Química Clínica*. Anderson, S. y Cockayne, S. Editorial Interamericana. Buenos Aires. pp: 39-73.

Barnett, R. 1983. *Estadística en el laboratorio clínico*. Editorial Reverte, S.A. Barcelona.

Bonini, P., Plebani, M., Ceriotti, F. 2002. Errors in laboratory Medicine. *Clinical Chemistry*, 48(5): 691-698.

Boquet, E.; Castillo, M.; Cáceres, A.; Dybkaer, R.; Escutia, V.; Franzini, C.; Jeffers, D.; Mazziotta, D.; Mcclatchey ,K.; Mcqueen, M.; Rej, R.; Ruiz, G.; Sierra, R.; Terrs, A.; Tiburcio, H. y Wilde, C. 1996. *Mejoría continúa de la calidad. Guía para los laboratorios clínicos de América Latina*. Editorial Panamericana. México.

Cabutti, N. 2005. Acreditación de laboratorios clínicos en América Latina. En: *Gestión de calidad en el laboratorio clínico*. Confederación

Latinoamericana de Bioquímica Clínica. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. pp:251-272.

Calafell, R.; Barceló, B.; Fernández, E.; García, M.; Martínez, S.; Morancho, Z.; Picaporte, M. y Salve, M. 2005. Especificaciones de calidad analítica AEFA. *Análisis Clínicos*, 30(3):99-104.

CATLAB. 2008. El portal de los laboratorios clínicos. “El muestreo y su relación con la incertidumbre y confiabilidad en el proceso de mediciones químicas”. <http://www.catlab.com.ar> (28/03/2008).

Carey, R. y Garber, C. 1991. Evaluación de métodos. En: *Técnicas de laboratorio. Fisiopatología. Métodos de análisis*. Kaplan, L. y Pesce, A. Editorial Panamericana. Buenos Aires. pp:392-417

Carobene, A.; Ferrero, C.; Ferrccio, C.; Modenese, A.; Besozzi, M.; De Giogi, E.; Franzin, C.; Galli, M. y Manni, F. 1997. Creatinine measurement proficiency testing: assignment of matrix-adjusted id gc-ms target values. *Clinical Chemistry*, 43(8): 1342-1347.

CENAM, 2004. *Guía técnica sobre trazabilidad e incertidumbre en las mediciones analíticas que emplean las técnicas de espectrofotometría de absorción atómica y de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente*. Centro Nacional de Metrología. México.

Céspedes, M., Domínguez, M. y Bruzón R. 2000. Evaluación del cálculo de la filtración glomerular por medio de la ecuación de Cockcroft-Gault. *Medisan*, 4(3):38-43.

CDRH, 1998. *In Vitro* diagnostic creatinine. Guidance for Industry. Center for Devices and Radiological Health. Chemistry Toxicology and Hematology Branch. Division of Clinical Laboratory Devices. Office of Device Evaluation.

COLABIOCLI, 2005. *Gestión de calidad en laboratorio clínico*. Confederación Latinoamericana de Bioquímica Clínica. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.

Dharán, M. 1983. *Control de calidad en los laboratorios clínicos*. Editorial Reverte. Barcelona.

Espondaburu, O.; Fernández, S. y Bassols, G. 1997. Dosaje de glucosa sanguíneo. Método enzimático-colorimétrico vs. enzimático amperométrico, estudio de correlación. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 31(4): 437-442.

Etcheverry, G. Domínguez, M., Esposito, N., Mayon, P., Morales, M., Roselli, M. y Andrieu, K. 2007. Auditoría clínica: Una herramienta para el seguimiento de errores preanalíticos en el laboratorio. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 41(1): 51-6.

EURACHEM, 1998. "The fitness for purpose of analytical methods". "A laboratory guide to method validation and related topics". <<http://www.eurachem.org>> (05/03/2007).

EURACHEM, 2000. "Quantifying uncertainty in analytical measurement". <<http://www.eurachem.org>> (05/03/2007).

EURACHEM, 2003. "Traceability in chemical measurement". "A guide to achieving comparable results in chemical measurement". <<http://www.eurachem.org>> (05/03/2007).

FECOBIOBE, 2005. *Calidad*. Guía para el proceso de acreditación de laboratorios clínicos en Venezuela. Federación de Colegios de Bioanalistas de Venezuela. Caracas, Venezuela.

Fernández, C. 2005. Plan de calidad. En *Gestión de calidad en el laboratorio clínico*. Confederación Latinoamericana de Bioquímica Clínica. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. pp: 27-46.

Fuentes, X. 1998. Variabilidad metrológica. En *Bioquímica clínica y patología molecular*. Segunda edición. Editorial Reverte. Pp: 49-65.

Fuentes, X. y Valero, J. 1998. Variabilidad biológica. En *Bioquímica clínica y patología molecular*. Segunda edición. Editorial Reverte.

FBA, 2005. Fundación Bioquímica Argentina. Guía del Usuario. Programa de evaluación Externa de la Calidad. La Plata. Argentina. 21 pp.

Garber, C. y Carey, R. 1991. Estadística del laboratorio. En: *Técnicas de laboratorio. Fisiopatología. Métodos de análisis*. Kaplan, L. y Pesce, A. Editorial Panamericana. Buenos Aires. pp: 332-348.

García, R.; Soriano, C.; Del Pino, O.; García, F. y Pacheco, J. 1997. Variante para la determinación automática y manual de creatinina sin interferencia por bilirrubina y su importancia en leptospirosis, septicemia y pacientes sometidos a tratamientos dialíticos. *Bioquímica*, 22(2): 665-670.

Gella, 1998. Control de Calidad en el Laboratorio Clínico. BioSystems, S.A. Barcelona, España. 38 pp.

González, B. 2002. *Estudio de la incertidumbre asociada a los resultados obtenidos con ciertos procedimientos de medida bioquímico-clínicos*. Tesis Doctoral. Barcelona, España.

González, J. 2004. *Técnicas y métodos de laboratorio clínico*. Editorial Masson. España.

González, L. y Capriotti, C. 2006. Validación de métodos en el laboratorio bioquímico. Parte I. *Revista Bioanálisis*, 20(2): 14-18.

González S. y Lorente A. 1994. *Sistema básico de control de calidad*. Universidad de los Andes, Mérida.

Gracia, S.; Montañés, R., Bover, J., Cases, A.; Deulofeu, R.; Martín, A. y Orte, O. 2006. Documento de consenso: Recomendaciones sobre la utilización de ecuaciones para la estimación del filtrado glomerular en adultos. *Nefrología*, 26(6): 658-665.

Guarache H. y Rodríguez N. 2003. Evaluación externa de la calidad en determinaciones de bioquímica clínica en Cumaná, Sucre. *Revista de la Facultad de Farmacia*, 45(1):30-35.

Gutierrez, M.; Volpe, P. y Ferreira, M. 2004. Multiway calibration for creatinine determination in human serum using the Jaffe' reaction. *Applied Spectroscopy*, 58(1): 54-60.

Hallan, S.; Astor, B. y Lydersen, S. 2006. Estimating glomerular

filtration rate in the general population: the second Health Survey of Nord-Trondelag. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 21(6):1525-1533.

Hill, P.; Uldall, A. y Widing, P. 1998. Fundamentals for external quality assessment. International Federation of Clinical chemistry and laboratory Medicine.

INTI, 2004. Instituto Nacional de Tecnología Industrial. *Análisis de elementos traza en solución acuosa. Ensayo interlaboratorio*. Informe de resultados. Programa de metrología química. Buenos Aires.

ISO, 1993. International organization for standardization. Guide to the expression of uncertainty in measurement. ISO, Geneva.

ISO, 1994. International organization for standardization. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. ISO Guide: 5725-1, Geneva.

ISO, 2000. International organization for standardization. "Las normas ISO 9000 del 2000". <<http://www.calidad.com.ar>> (05/03/2007).

ISO, 2003. International organization for standardization. ISO Guide: 17511. In vitro diagnostic medical devices. Measurement of quantities in biological samples. Metrological traceability of values assigned to calibrators and control materials. Geneva.

Jabary, N., 2006. Creatinina sérica y aclaramiento de creatinina para la valoración de la función renal en hipertensos esenciales. *Sociedad Española de Nefrología*, 26 (1): 64-73.

Junge, W.; Wilke, B.; Halabi, A. y Klein, G. 2004. Determination of reference intervals for serum creatinine, creatinine excretion and creatinine clearance with an enzymatic and a modified Jaffe method. *Clinica Chimica Acta*, 344(2):137-48.

Klee, G.; Schryver, P.; Saenger, A. y Larson, T. 2007. Effects of analytic variation in creatinine measurements on the classification of renal disease using estimated glomerular filtration rate (eGFR). *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 45(6): 737-41.

Komenda, P. y Beaulieu, M. 2008. Regional implementation of creatinine measurement standardization. *Journal of the American Society of Nephrology*, 19: 164-169.

Kuttatharmmakul, S.; Massart, D. y Smeyers-Verbeke, J. 2000. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems.

Kroll, M. y Elin, R. 1995. Interference with clinical laboratory analyses. *Clinical Chemistry*, 41 (5): 770.

K/DOQI, 2002. Kidney Disease Outcomes Quality Initiative. "Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification". < <http://www.kidney.org/> > (01-02-2003).

Laecke, V. 1994. Physiopathology of renal colic and the therapeutic consequences. *Acta Urológica Bélgica*, 6: 15-18.

Leiva, M. 2006. *Material de referencia y comparaciones*

interlaboratorios. Herramientas para el control de calidad en laboratorios de ensayo. Centro Nacional del medio ambiente. Chile.

Levey, A., Bosch, J., Lewis, J., Green, T., Rogers, N. y Roth D. 1999. A more accurate method to predict glomerular filtration rate from serum creatinine. *Annals of Internal Medicine*, 130: 461-470.

Levey, A.; Eckardt, K.; Tsukamoto, Y.; Levin, A.; Coresh, J. y Rossert, J. 2005. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney International*, 67: 2089-100.

López, A. 1994. *Garantía de calidad hematológica.* Trabajo de Ascenso. Escuela de Bioanálisis, Universidad Central de Venezuela, Caracas.

Morancho, J. y Fernández, E. 2002. Gráficas del estado del arte extraídas del Programa de Evaluación Externa de la Calidad. Utilización para la selección de especificaciones de calidad. *Análisis Clínicos*, 27:101-134.

Maroto, A. 2002. *Incertidumbre en los métodos analíticos de rutina.* Tesis Doctoral. Tarragona, España.

Mazziota, D.; Monari, M.; Betances, N.; Velásquez, G.; Raimondo, S. y Sandy R.1998. Programa de evaluación externa de la calidad latinoamericano. Proyecto Piloto Regional. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 32(3):433-437.

Mazziotta, D. 2000. *Organización y administración de programas de*

evaluación externa de la calidad. Fundación Bioquímica Argentina. La plata, Argentina.

Mazziotta, D. y Correa, J. 2005. Control de Calidad. En *Gestión de calidad en el laboratorio clínico*. Confederación Latinoamericana de Bioquímica Clínica. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. pp: 371-407.

Miller, W.; Myers, G.; Ashwood, E.; Killeen, A.; Wang, E.; Thienpont, L. y Siekmann, L. 2005. Creatinine measurement: state of the art in accuracy and interlaboratory harmonization. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 129 (3): 297-304.

Montgomery, D. 2001. *Introduction to statistical quality control*. 4ta. Edition. John Wiley and Sons, Inc. Arizona.

M.S.A.S. 1992. Reporte y evaluación del programa de proficiencia de bioquímica. Oficina sectorial de laboratorios, Caracas, Venezuela.

Murray, R. 1991. Creatinina. En: *Química clínica. Técnicas de laboratorio. Fisiopatología. Métodos de Análisis*. Kaplan, L. y Pesce, A. Editorial Panamericana. Buenos Aires. pp: 1475-1481.

Myers, G.; Miller, W. y Coresh J. 2006. Recommendations for improving serum creatinine measurement: A report from the Laboratory Working Group of the National Kidney Disease Education Program. *Clinical Chemistry*, 52:5-18.

Negri, G. 2002. *Errores analíticos y validez del intervalo de referencia*.

II Congreso Argentino de La Calidad en el Laboratorio Clínico. Fundación Bioquímica Argentina. Resumen y Memorias, Buenos Aires.

Nicoll, D. 1995. Rangos de Referencia de Laboratorio. En: Tierney, L.; Mcphee S. y Papadakis, M. Diagnóstico Clínico y Tratamiento. Manual Moderno. 30° Edición. México. pp 1433-1439.

Oláh, V.; Fodor, B. y Horváth, A. 2008. Challenge and limitations in determination of serum creatinine. *Orvosi hetilap*, 149 (7): 317-23.

Organización Mundial de la Salud. 1998. Preparación de suero líquido estabilizado para control de calidad en química clínica. Documento Lab/ 81.4 Ginebra, 30-40.

Owen, L., Wear, J. y Keevil, B. 2006. Validation of a liquid chromatography tandem mass spectrometry assay for serum creatinine and comparison with enzymatic and jaffe methods. *Annals of clinical biochemistry*, 43(2): 118-123.

Paroni, R; Arcelloni, C. y Fermo, I.1990. Determination of creatinine in serum and urine by a rapid liquid-chromatographic method. *Clinical Chemistry*, 36(6):830-6

Peake, M. y Whiting, M. 2006. Measurement of serum creatinine – current status and future goals. *Clinical Biochemistry*, 27:173-184.

Perasso, E. y Mazziotta, 2004. Evaluación de métodos por La evaluación externa de La calidad en química clínica. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 38(1): 1-8.

Philippe, P.; Bardet, J.; Rabier, D.; Gasquet, M. y Kamoum, P. 1993. Intra and interlaboratory quality control for assay of amino acids in biological fluids: 14 years of the french experience. *Clinical Chemistry*, 39(9): 1831-1836.

Picheth, G. y Yokoo, A. 2001. Controle de qualidade da glicemia: um estudo interlaboratorial. *Revista Brasileira da Análise Clínica*, 33 (4): 1-9.

Ramírez, C.; Molina, L.; Rodríguez, E.; Buela, L.; Lorente, A. y Rodríguez, N. 2006. Evaluación externa de la calidad en la determinación de glucosa y creatinina en laboratorios clínicos de Mérida – Venezuela. *Revista de la facultad de farmacia*, 48 (1): 21-26.

Riu, J. 2006. *Materiales de referencia certificados*. Grupo de Quimiometría y Cualimetría. Universidad de Tarragona, España.

Rodríguez, N. 1994. *Aplicación del Sistema Básico de Control de Calidad en el Laboratorio de Bioclínica Clínica del C.A.M.O.U.L.A*. Trabajo de Ascenso. Escuela de Bioanálisis, Facultad de farmacia, Universidad de los Andes, Mérida.

Rodríguez, N. Torres, D. y Carvajal, M. 2001a. Confiabilidad del método de Jaffe modificado por laboratorios Heiga para la determinación automatizada de la creatinina. *Revista de la Facultad de Farmacia*, 44:59-63.

Rodríguez, N.; Lorente A.; Velásquez, Y. y González, E. 2001b. Confiabilidad del método slott modificado por laboratorios Heiga para la determinación directa de creatinina. *Revista de la Facultad de Farmacia*, 42:

67-71.

Rodríguez, N.; Labrador, Z.; González, E. y Lorente A. 2002. Método Slott modificado por Heiga para la valoración de creatinina. Confiabilidad a 25 °C en el Impact 400E. *Revista de la Facultad de Farmacia*, 44:59-63.

Roy, M. 1991. Función renal. En: Kaplan, L. y Pesce, A. *Técnicas de laboratorio. Fisiopatología. Métodos de análisis*. Editorial Panamericana. Buenos Aires. pp: 468-487.

Rule, A., Larson, T., Bergstralh, E. y Cosio, F. 2004. Using serum creatinine to estimate glomerular filtration rate: Accuracy in good health and chronic kidney disease. *Annals of internal medicine*, 41(12): 929-937.

Sabbagh, M; Rick, W y Schneider, S. 1988. A kinetic method for the direct determination of creatinine in serum with 3,5-dinitrobenzoic acid without deproteinization. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 26(1):15-24.

Saez, S.; Pastor, L. y Alvariño, A. 2004. *Control externo de La calidad: Comparación de dos métodos de evaluación*. Sociedad Española de Dirección y Gestión de los Laboratorios Clínicos. España.

Sáez, S. y Gómez, L. 2006. *Sistema de mejora de la calidad en el laboratorio clínico. Teoría y práctica*. Universidad de Valencia, España.

Sánchez, M.; Colunga, R. y Cedillo M. 2002. Ecuaciones para eliminar las interferencias de sueros hemolisados, ictéricos e hiperglucémicos en las determinaciones rutinarias de química clínica. *Bioquímica*, 27(2): 46-52.

Santana, S.; Muñiz, L. y Larramendis, J. 1998. HPLC en un esquema de control externo de la calidad en la determinación de creatinina. *Laboratories Acta*, 10(4): 119-125.

Stevens, L.; Manzi, J.; Levey, A.; Chen, J.; Deysher, A.; Greene, T.; Poggio, E. Schmid, C y Coresh, J. 2007. Impact of creatinine calibration on performance of GFR estimating equations in a pooled individual patient database. *American Journal of Kidney Diseases*, 50(1): 21-35.

Stevens, L. y Stoycheff, N. 2008. Standardization of serum creatinine and estimated GFR in the Kidney Early Evaluation Program (KEEP). *American Journal of Kidney Diseases*, 51 (4): 77-82).

Stokes, P. y Oconnor, G. 2003. Development of a liquid chromatography-mass spectrometry method for the high accuracy determination of creatinine in serum. *Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and life Sciences*, 794 (1): 125-136.

Thienpont, L., Katrien, G., Landuyt, V., Stockl, D. y De Leenheer A. 1995. Candidate reference method for determining serum creatinine by isocratic HPLC. *Clinical Chemistry*, 41(7): 995-1003.

Terrés, A. 2003. Importancia de la variabilidad biológica y de la relevancia médica en la norma ISO-15189. *Revista Mexicana de Patología Clínica*, 50(3): 118-128.

Terrés, A. 2006. Estimación de la incertidumbre y de la variabilidad total en el laboratorio clínico. *Revista Mexicana de Patología Clínica*, 53(4): 185-196.

Terrés, A. 2007. Six sigma: determinación de metas analíticas con base en la variabilidad biológica y la evolución tecnológica. *Revista Mexicana de Patología Clínica*, 54(1): 28-39.

Toora, B. y Rajagopal, G. 2002. Measurement of creatinine by Jaffe's reaction determination of concentration of sodium hydroxide required for maximum color development in standard, urine and protein free filtrate of serum. *Indian Journal of Experimental Biology*, 40(3):352-4.

UNE, 2003. Unión Nacional Europea. Laboratorios clínicos. Requisitos particulares para la calidad y competencia. ISO 15189: 2003. Asociación Española de Normalización y Certificación. AENOR. Madrid.

Van, W.; Vanholder, R.; Veys, N.; Verbeke, F.; Delanghe, J. y Lameire, N. 2006. The importance of standardization of creatinine in the implementation of guidelines and recommendations for CKD: implications for CKD management programmes. *Nephrol Dial Transplant*, 21(1): 77-83.

Vickery, S.; Stevens, P.; Dalton, R.; Van Lente, F. y Lamb, E. 2006. Does the ID-MS traceable MDRD equation work and is it suitable for use with compensated Jaffe and enzymatic creatinine assays? *Nephrol Dial transplant*, 21(9): 2439-45.

VIM, 1993. International vocabulary of basic and general terms in metrology. ISO, Geneva.

Vivien, S.; Galteau, M.; Carlier, M.; Aissa, A.; Hanser, A.; Hym, B.; Marchal, A.; Michotey, O. y Liaudet, A. 2005. Impact of standardized calibration on the inter-assay variation of 14 automated assays for the

measurement of creatinine in human serum. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 43(11): 1227-1233.

Weisbrot, I. 1983. Regresión lineal. En: *Estadística en el laboratorio clínico*. Barnett, R. Editorial Reverte. Barcelona. pp: 51-68.

Westgard, J. 2003. "Six sigma quality management and desirable laboratory imprecision". <<http://www.Westgard.com>> (17-01-2009).

Woo, J. y Cannon, D. 1988. Intermediarios Metabólicos e Iones Inorgánicos. En: *Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio*. Bernard, H. Tomo I. 8º Edición. Editores Salvat. España. pp:167-206.

Wuyts, B.; Bernard, D.; Van Den Noortgate, N.; Van De Walle, J.; Van Vlem, B.; De Smet, R.; De Geeter, F.; Vanholder, R.; y Delanghe, J. 2003. Reevaluation formulas for predicting creatinine clearance in adults and children, using compensated creatinine methods. *Clinical Chemistry*, 49 (6): 1011-1014.

Youden, W. 1960. The sample. The procedure and laboratory. *Analytical chemistry*, 32: 23-37.

Zweig, M. y Kroll M. 1997. Linear regression estimation of minimal detectable concentration. Thyrotropin as an example. *Archives Pathology of Laboratory Medicine*, 121 (9): 948-955.

HOJA DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

Título	CONFIABILIDAD ANALÍTICA EN LA DETERMINACIÓN DE CREATININA EN SUERO EN LOS LABORATORIOS CLÍNICOS DE CUMANÁ, EDO. SUCRE
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Guarache F., Haidee M.	CVL	8646555
	AC	
	e-mail	Haidee_guarache@cantv.net
	e-mail	
	CVL	
	AC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVL	
	AC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

creatinina
Precisión

Veracidad
Control interno de la calidad
Control externo de la calidad

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
ciencias	Control de calidad

Resumen (abstract):

Con el propósito de evaluar la confiabilidad analítica en la determinación de creatinina en suero, en los laboratorios clínicos de Cumaná, Edo. Sucre; se distribuyeron a un grupo de laboratorios, 2 sueros controles con valores dentro (CN) y fuera (CA) del intervalo de referencia de creatinina, cuyas concentraciones fueron obtenidas a partir de un método modificado de Jaffé previamente validado. La validación del método se realizó mediante la evaluación de la precisión intermedia, veracidad, límite de cuantificación y linealidad, en el laboratorio de control de calidad del Departamento de Bioanálisis de la Universidad de Oriente. El cálculo de la precisión se realizó mediante el uso de dos sueros controles comerciales dentro y fuera del intervalo de referencia. Con los resultados se determinó el coeficiente de variación (CV), aceptando un límite de 10%. La veracidad se evaluó mediante el uso de dos soluciones estándares certificados (MRC) y se utilizó un test *t* para la diferencia de medias. El Límite de Cuantificación y linealidad se calculó mediante la determinación de creatinina en 20 replicas de estándares acuosos de concentración desde 0,1 hasta 18,0 mg/dl. Se determinó el límite de cuantificación como el valor de concentración que presentó precisión, veracidad y la linealidad se calculó por la ecuación de la recta y el cálculo del r^2 . Posteriormente se prepararon muestras controles “normales” y “anormales” de creatinina, utilizando el método evaluado. Luego, estos controles fueron enviados en viales, a 15 laboratorios clínicos, donde en un periodo de un mes se valoró el analito en estudio. Una vez terminado los análisis, se recogieron los resultados y se evaluó la precisión y veracidad de cada laboratorio. Se consideró como límite de precisión, CV menor al 7,37% y de veracidad, un desviación relativa porcentual (DRP) menor al 15%. En los resultados de la evaluación de la precisión del método se obtuvo CV de 10,09 y 3,42 % para el control “normal” y “anormal”, respectivamente. El método es trazable a los MRC, pues en test *t* no hubo diferencia significativa entre la media obtenida y los valores de referencia. En los patrones de concentración baja, se halló el límite de cuantificación a partir del estándar de 0,3 mg/dl, pues fue desde éste patrón que se obtuvo precisión y veracidad. La linealidad del método se comprobó hasta el estándar de concentración 18 mg/dl, con un valor r^2 de 0,996. En los resultados de la evaluación de los laboratorios, la precisión interlaboratorio obtenida fue de 17,03 % para el CN y 13,95 % para CA; sólo el 20% de los laboratorios alcanzó precisión intralaboratorio y la desviación sistemática (DRP) fue de 46,66 % y 66,66% para el CN y CA, respectivamente. Se concluye que el método para determinación directa de creatinina en suero puede ser empleado con confiabilidad a niveles bajos, dentro y superior al rango de referencia de este analito. Los laboratorios participantes deben mejorar su desempeño analítico en la determinación de creatinina, ya que la precisión intra e interlaboratorio y la veracidad fue baja en la mayoría de los participantes. Por lo que no se recomienda la transferibilidad de resultados de creatinina entre el grupo de laboratorios.

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail																	
Rojas, Luisa	ROL	<table border="1"> <tr> <td>C</td><td>A</td><td>T</td><td>J</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input checked="" type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>A</td><td>S</td><td>U</td><td>U</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td> </tr> </table>	C	A	T	J	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	A	S	U	U	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	C	A	T	J														
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>														
	A	S	U	U														
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>															
CVLAC	54322020																	
e-mail	lrojas40@yahoo.com																	
e-mail																		
Bustamante, Yacelli	ROL	<table border="1"> <tr> <td>C</td><td>A</td><td>T</td><td>J</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input checked="" type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>A</td><td>S</td><td>U</td><td>U</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td> </tr> </table>	C	A	T	J	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	A	S	U	U	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	C	A	T	J														
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>														
	A	S	U	U														
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>															
CVLAC	12106290																	
e-mail	yacelli@gmail.com																	
e-mail																		
Torres, Aracelis	ROL	<table border="1"> <tr> <td>C</td><td>A</td><td>T</td><td>J</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input checked="" type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>A</td><td>S</td><td>U</td><td>U</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td> </tr> </table>	C	A	T	J	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	A	S	U	U	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	C	A	T	J														
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>														
	A	S	U	U														
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>															
CVLAC	4597112																	
e-mail	atorres@sucre.udo.edu.ve																	
e-mail																		

Fecha de discusión y aprobación:

Año Mes Día

2009	05	20
-------------	-----------	-----------

Lenguaje: spa

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
PG-haideeguarache.doc	Aplication/Word

Alcance:

Espacial : _____ (Opcional)

Temporal: _____ (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo:

Maestría en Biología Aplicada, mención ecotoxicología

Nivel Asociado con el Trabajo: **Magíster Scientiarum**

Área de Estudio:

Control de calidad

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

UNIVERSIDAD DE ORIENTE

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/5

Derechos:

Como autora de este trabajo de investigación doy plena libertad para la publicación de la información en él contenida por las personas interesadas siempre que se respete el derecho del autor y se cite la información tomada de la misma de la manera adecuada dándole el reconocimiento y mérito apropiado al autor.

[Handwritten signature]

AUTOR 1

AUTOR 2

AUTOR 3

TUTOR

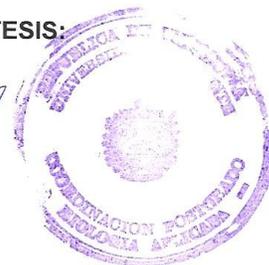
JURADO 1

[Handwritten signature]

JURADO 2

POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS:

[Handwritten signature]



oo



VICERRECTORADO ACADÉMICO
CONSEJO DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

Núcleo de: ...Sucre.....

Postgrado en: ...Biología Aplicada.....

Nº: 05 /2009

ACTA DE DEFENSA DE TRABAJO DE GRADO

Nosotros, Dra. Luisa Rojas, M.Sc. Yaceli Bustamante y M.Sc. Aracelis Torres, integrantes de Jurado designado por la Comisión Coordinadora del Postgrado en Biología Aplicada. Para examinar el Trabajo de Grado intitulado: “CONFIABILIDAD ANALÍTICA EN LA DETERMINACIÓN DE CREATININA EN SUERO EN LOS LABORATORIOS CLÍNICOS DE CUMANÁ, EDO. SUCRE”, presentado por el (la) Leda. Haidee Maria Guarache Figuera, con cédula de identidad N° 8.646.555, a los fines de cumplir con el requisito legal para optar al grado de: Magíster Scientiarum en Biología Aplicada, Mención Ecotoxicología, hacemos constar que hemos examinado el mismo e interrogado al postulante en sesión privada celebrada hoy, a las 10:00 A.M., EN LA SEDE DEL POSTGRADO EN BIOLOGIA APLICADA, UNIVERSIDAD DE ORIENTE, NUCLEO SUCRE, CERRO DEL MEDIO, CASA Nro. 13. Finalizada la defensa del trabajo por parte del postulante, el Jurado decidió... *Aprobarlo*(Aprobarlo o Improbarlo) por considerar, sin hacerse solidario de las ideas expuestas por el autor que él mismo (se/no se) ajusta a lo dispuesto y exigido en el Reglamento de Estudios de Postgrado de la Institución.

En fe de lo anterior se levanta la presente Acta, que firmamos conjuntamente con el Coordinador del Postgrado en: BIOLOGIA APLICADA.

En la ciudad de: CUMANANA, a los veinte (20) días del mes de mayo de 2009.

Jurado Examinador:

Prof. Luisa Rojas

(Tutor)

Prof. Yaceli Bustamante

Prof. Aracelis Torres

Coordinador del Programa de Postgrado:

Prof.: Mariolga Berrizbeitia de Morgado

Nombre

[Handwritten signatures and stamps]
Firma y Sello