

TEMAS TRATADOS

- ✓ Resultados inesperados en una muestra de prueba individual
- ✓ Resultados CCI fuera de rango
- ✓ Cómo investigar resultados fuera de consenso en encuestas externas de evaluación de la calidad

Resultados inesperados en una muestra de prueba individual: Los problemas relacionados con las pruebas de coagulación ocurren en todos los laboratorios de coagulación, independientemente de los métodos, reactivos y equipos que se utilicen. Los resultados inexactos pueden ocurrir como consecuencia de problemas con una muestra en particular debido a problemas con la muestra en sí. Esto puede ser consecuencia de un procesamiento inadecuado de la recolección de muestras o del almacenamiento antes del análisis. Estos temas se discuten en la Parte 3 de este manual. También se dispone de recomendaciones sobre el control de las variables preanalíticas, específicamente relacionadas con la hemofilia y los trastornos relacionados (Kitchen et al, 2020), y en relación con la recolección de muestras (Kitchen et al, 2021a) y el procesamiento (Kitchen et al, 2021b) en todos los aspectos de las pruebas de laboratorio de coagulación, y no se analizan más aquí. Pueden ocurrir problemas específicos durante el análisis de una muestra que se relacionan con el reactivo o la manipulación de la muestra durante esa prueba específica, a pesar del análisis exitoso de muestras adyacentes justo antes o justo después de la muestra con un resultado cuestionable. Muchos analizadores utilizan una sonda para aspirar automáticamente las muestras y dichas sondas a veces descienden hasta la detección de un líquido y luego aspiran un volumen de muestra de prueba adecuado para completar la prueba. Si esa muestra de prueba tiene burbujas en la superficie, esto puede conducir a un muestreo incorrecto con un volumen inadecuado, después de resultados falsamente anormales, como resultados de pruebas de detección falsamente prolongados o una actividad falsamente baja en ensayos calibrados. El pipeteo inexacto de los reactivos durante el análisis también puede dar lugar a resultados inexactos, por ejemplo, si una sonda utilizada para el movimiento de reactivos en un analizador se ha desalineado. Es probable que esto afecte a los resultados de varias muestras. Puede ser útil correr 10 réplicas de la misma muestra para evaluar la precisión de los resultados, que normalmente se ve comprometida si se ha producido una desalineación de la sonda. Las áreas de reactivos en los analizadores generalmente se mantienen a una temperatura constante, a menudo enfriadas por debajo de la temperatura ambiente, pero con mezclas de reacción calentadas a 37 ° C durante el análisis. La mayoría de los resultados de las pruebas de coagulación dependen en gran medida de la temperatura, por lo tanto, cualquier desviación fuera de un rango estrecho aceptable en el enfriamiento de los regentes o, en particular, en el calentamiento de las mezclas de reacción, puede causar resultados inexactos que generalmente son falsamente anormales. Los resultados falsos normales son mucho más raros que los falsos anormales, y solo se observan regularmente en relación con el falso acortamiento de TTPA como consecuencia de problemas preanalíticos como la hemólisis in vitro. Los coagulómetros totalmente automatizados a menudo utilizan soluciones de lavado/limpieza que se enjuagan a través de sondas entre operaciones sucesivas de pipeteo. Este proceso normalmente evita el arrastre de la muestra o el reactivo de una prueba a la siguiente mezcla de reacción, pero tales eventos han ocurrido. Por ejemplo, en el pasado se ha producido un arrastre parcial de la muestra a una mezcla de reacción siguiente en relación con componentes patológicos de la muestra, como anticuerpos antifosfolípidos o paraproteínas, o relacionados con fármacos terapéuticos, como el emicizumab, que puede causar un falso acortamiento de TTPA en la muestra siguiente. Los componentes de los reactivos, como el neutralizador de heparina

en los reactivos, se han trasladado a las siguientes muestras, lo que podría provocar la pérdida de la actividad de la heparina si está presente en la siguiente muestra. Los efectos de arrastre de reactivos se han erradicado en gran medida cuando se combinan reactivos e instrumentos del mismo fabricante. Es más probable que esto sea un problema si se utiliza un reactivo de un fabricante en un analizador de un fabricante diferente, si esa combinación no ha sido validada para su uso. Es fundamental que los laboratorios sigan las guías de la empresa de diagnóstico sobre los intervalos permitidos entre las visitas de mantenimiento preventivo para minimizar los riesgos de generar resultados de muestras de pacientes que no se pueden divulgar de forma segura para las decisiones de tratamiento del paciente. Es importante que los laboratorios reciban suficiente información clínica o del paciente, como se necesita para que el personal de laboratorio experimentado identifique resultados de pruebas inesperados o inusuales siempre que sea posible. Cualquier resultado inesperado de la prueba debe volver a analizarse para excluir la posibilidad de error analítico. Cuando se excluya un error analítico como explicación de un resultado inesperado que no parece ajustarse al cuadro clínico del paciente, se debe obtener una muestra repetida para confirmar el resultado.

Resultados de CCI fuera de rango: Como se describe en la Parte 2 de este manual, es conveniente mantener un registro de los resultados de CCI (control de calidad interno) en cada material de CCI en forma de gráfico. Muchos analizadores utilizan el enfoque de Levey-Jennings, como se muestra en la Figura 23. Hay sistemas disponibles para ayudar a los laboratorios a solucionar problemas, como las reglas de Westgard (www.westgard.com) que utilizan 5 reglas de control diferentes. Estos tienen pocas falsas alarmas y dan confianza en la detección de errores. Por otro lado, los patrones de pruebas de CCI necesarios para el uso efectivo de tales sistemas no son adecuados para el uso regular en la mayoría de los laboratorios de coagulación. Las posibles consecuencias clínicas de los errores de laboratorio en el tratamiento de los pacientes con hemofilia y trastornos relacionados significan que un enfoque cauteloso de los resultados de CCI fuera de rango es más seguro para los pacientes. Por esta razón, se debe evaluar cualquier CCI fuera del rango y, durante la investigación, se deben suspender las pruebas y el informe de los resultados del paciente. Es útil identificar el caso de un CCI fuera de los límites para ayudar a evitar futuros retrasos en el procesamiento de las muestras. Si una repetición de la prueba en el mismo vial de material de control de calidad genera un resultado que está claramente dentro del rango, entonces puede haber un problema con el analizador que se puede evaluar realizando 10 réplicas en la misma muestra de prueba. Se indica un problema del analizador si hay una gran variabilidad entre las réplicas. Más a menudo, en las pruebas de coagulación de rutina, una prueba repetida en el mismo material vuelve a estar fuera de rango, y la sustitución del material por un nuevo vial o alícuota genera un resultado dentro del rango, lo que confirma que el propio material CCI fue la fuente del problema. En este caso, los resultados para el paciente son seguros para ser publicados. Si, por otro lado, la prueba de un nuevo vial/alícuota de CCI también genera un resultado similar fuera de rango, existe un problema con el sistema de prueba que también afectaría los resultados del paciente. En este caso, los reactivos utilizados para la prueba deben reemplazarse en secuencia por un nuevo CCI después de cada reemplazo de un reactivo. Una vez que un reactivo de reemplazo conduce a un resultado de CCI dentro del rango, ese reactivo se identifica como la fuente del problema. Esto debe anotarse en los registros de CCI para que se puedan identificar patrones e iniciar una nueva evaluación de la estabilidad y el uso del reactivo. Si la sustitución de todos los reactivos relevantes sigue estando asociada a resultados fuera de rango, ese analizador debe retirarse del uso a la espera de la revisión por parte del fabricante y el laboratorio debe cambiar a un coagulómetro de respaldo, idealmente un coagulómetro alternativo que proporcione los mismos resultados o, en el caso de las pruebas con criterios de valoración de coagulación, una técnica manual (véase la Parte 4 de este manual). Cualquier resultado del paciente obtenido desde el resultado anterior de CCI dentro del rango debe revisarse con pruebas repetidas para establecer en qué parte de la secuencia de la prueba de la muestra puede haber comenzado el problema. Si se han publicado los resultados de los pacientes de muestras analizadas después de la CCI anterior dentro del rango, el laboratorio debe volver a realizar la prueba y recordar cualquier resultado que no esté conforme, y también debe revisar sus protocolos de prueba de CCI, ya que las pruebas de CCI adecuadas deben evitar la necesidad de recordar los resultados del paciente. La Figura 23 muestra el diagrama de Levey-Jennings de los resultados del CCI del TTPA.

Las líneas rojas punteadas muestran los límites superior e inferior del rango aceptable para este material. La primera serie de resultados se encuentra dentro del intervalo distinto del límite inferior. La segunda sección muestra un aumento gradual y progresivo de los tiempos de coagulación. Esta tendencia se produce si un componente de la prueba cambia gradualmente con el tiempo. Es poco probable que esto ocurra en relación con el material CCI liofilizado comercial almacenado de acuerdo con las instrucciones del fabricante, pero puede ocurrir si el material CCI se ha preparado localmente como se describe en la Parte 2. Las causas alternativas podrían ser un cambio gradual en uno de los reactivos si no se almacena adecuadamente o un deterioro gradual en algún aspecto del sistema de detección de puntos finales utilizado (por ejemplo, un deterioro en la fuente de luz de un sistema fotoóptico). Este tipo de problemas son raros con los coagulómetros automatizados modernos.

Los resultados del CCI - TTPA muestran una tendencia

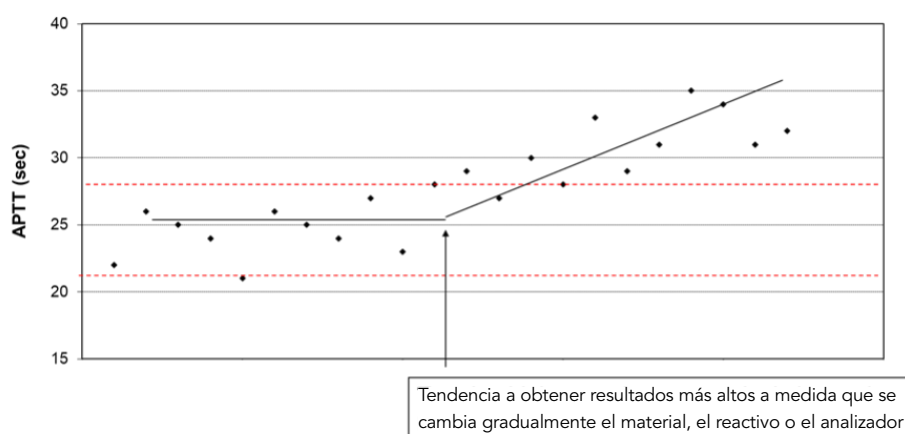


Gráfico CCI TTPA- Muestra de CCI inestable

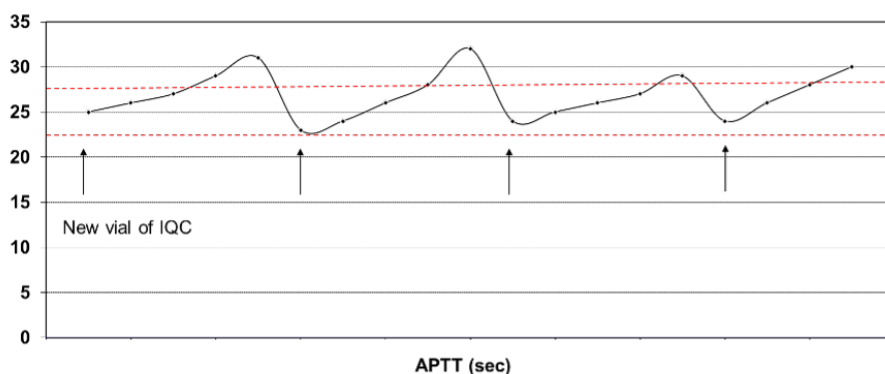


Figura 23. El diagrama de Levey-Jennings de TTPA da como resultado un material CCI inestable. Las líneas rojas punteadas muestran los límites superior e inferior del rango aceptable para este material. Cada flecha negra fija indica cuándo se cargó un nuevo vial de CCI en el analizador. Por cada nuevo vial se produce un aumento gradual de TTPA a lo largo del tiempo. Este ejemplo ocurrió debido a un material CCI congelado preparado localmente que era inestable después de la descongelación. En principio, esto también puede ocurrir después de la reconstitución de muestras liofilizadas si no se prepara adecuadamente o si el agua utilizada para reconstituir está contaminada.

Cómo investigar resultados fuera de consenso en encuestas externas de evaluación de la calidad: La participación en pruebas de aptitud o EQA es un requisito esencial para que un laboratorio garantice que produce resultados precisos. Los organismos de acreditación que evalúan según las normas ISO como la ISO 15189 (2022) lo exigen para cualquier prueba en la que se disponga de EQA. La FMH supervisa

un IEQAS centrado en la hemofilia y los trastornos relacionados (véase la Parte 2 de este manual). Los resultados obtenidos en los ejercicios de EQA se pueden utilizar para identificar problemas importantes relacionados con la precisión y exactitud de las pruebas de laboratorio de coagulación, siempre que el material de prueba en el programa EQA sea conmutable con las muestras de pacientes (es decir, se comporte de la misma manera en un método particular que lo harían las muestras de pacientes). La resolución eficaz de los resultados de la EQA que no están dentro del consenso de los resultados en otros centros, es importante para garantizar un manejo seguro del paciente. A la hora de considerar los resultados periféricos de la EQA, hay una serie de cosas que deben tenerse en cuenta. Un resultado local fuera del objetivo derivado de los resultados en otros centros, es menos preocupante si la diferencia no es lo suficientemente grande como para afectar el manejo del paciente. Una diferencia clínicamente significativa es mucho más problemática que una diferencia estadística que no se predice que altere el diagnóstico o el tratamiento de un paciente.

Un solo resultado que sea marcadamente diferente de la media o mediana de los resultados en otros centros, en la medida en que el manejo del paciente se vería afectado si la muestra hubiera sido de un paciente en el laboratorio, debe investigarse más a fondo. Esto podría incluir lo siguiente:

- i) Comprobar que la muestra se almacenó correctamente en el momento de su recepción, que se reconstituyó correctamente y que la prueba se realizó de acuerdo con el procedimiento escrito para ese método. Si se pensara que el problema se limitaba al análisis de la muestra de EQA, los resultados del paciente no se verían afectados.
- ii) Comprobar que el control de calidad interno en el momento en que se realizó la prueba de EQA fue satisfactorio. De lo contrario, es probable que haya habido un problema con las pruebas que podría haber afectado los resultados de los pacientes y los resultados de los pacientes deben revisarse.
- iii) Consideración de los detalles particulares de la muestra de ensayo. Si son anormales, los resultados obtenidos podrían ser una consecuencia del defecto particular en la muestra de EQA.

Cuando un laboratorio tiene resultados atípicos en encuestas consecutivas que se realizan a lo largo de varias encuestas, es necesaria una investigación que debe tener en cuenta el patrón en la relación entre los resultados locales y la media o mediana de los resultados en otros centros que utilizan una metodología similar. Además de las investigaciones posteriores a un solo resultado atípico mencionado anteriormente, se debe considerar lo siguiente:

- i) Se debe evaluar el impacto clínico de los resultados. Es posible que, para un ensayo con muy buena precisión, un laboratorio pueda estar persistentemente fuera de consenso, pero aún así registrar resultados relativamente cercanos al objetivo, sin consecuencias clínicas. También es posible que si se emplea un rango de referencia determinado localmente, cualquier sesgo en los resultados del paciente se compense con un rango de referencia apropiado.
- ii) Los resultados que son consistentemente altos o consistentemente bajos en comparación con la media o la mediana de los resultados, a menudo se relacionan con la calibración. Por lo general, los laboratorios con tales problemas tienen una curva de calibración establecida en algún momento en el pasado que no es apropiada para las pruebas actuales, ya sea debido a un cambio en el número de lote de un componente del ensayo o porque la variabilidad diaria en los resultados de las pruebas requiere una nueva calibración junto con el análisis de las muestras de prueba. La recalibración suele resolver este problema en los centros que utilizan una curva de calibración histórica. Se debe considerar la posibilidad de que se haya asignado una potencia inapropiada al calibrador, aunque sea poco frecuente. Al investigar la posibilidad de un problema relacionado con la calibración, puede ser útil analizar una muestra con un valor asignado de forma independiente como muestra de prueba para comprobar cuánto se están sobreestimando o subestimando los resultados de las muestras de prueba. Dicho material también se puede utilizar para realizar una nueva calibración. El programa IEQAS de la FMH tiene permiso para suministrar un vial del estándar de plasma ISTH SSC para este

tipo de investigación de solución de problemas. Esto ha asignado valores para una serie de diferentes parámetros de coagulación. El efecto de una nueva calibración se puede evaluar mediante el análisis de un pequeño grupo de muestras de prueba antes y después de la nueva calibración. El patrón de plasma SSC no está disponible para su uso rutinario en la calibración de métodos de ensayo locales.

- iii) Los resultados por encima de la media o la mediana en algunas encuestas, y por debajo de la media o la mediana en otras, sugieren imprecisión del ensayo. Esto puede ocurrir como consecuencia de un mal mantenimiento de los instrumentos, un manejo inadecuado de los reactivos (es decir, reconstitución o almacenamiento), inestabilidad de los reactivos o problemas relacionados con la formación o la competencia del personal.

En la medida de lo posible, el análisis de muestras repetidas una vez finalizada la investigación y después de realizar las mejoras necesarias es útil para confirmar el éxito o no de las intervenciones. Se debe realizar una revisión retrospectiva de los resultados de las encuestas anteriores de EQA, antes de que ocurra el problema de los resultados periféricos, junto con los registros de laboratorio de los cambios de lote, las calibraciones, el servicio de instrumentos y los cambios en la metodología, para evaluar si el cambio en el rendimiento corresponde a algún cambio interno relevante. El análisis de datos de EQA y los informes de rendimiento son, por naturaleza, retrospectivos, ya que el análisis y la presentación de informes normalmente tienen lugar algún tiempo después de que se realizaron las pruebas en el laboratorio. Por lo tanto, cualquier problema identificado puede haber afectado los resultados del paciente durante el mismo período de tiempo. El laboratorio debe revisar con los médicos los resultados de los pacientes anteriores para cualquier prueba en la que la EQA indique que podría haber habido una inexactitud clínicamente relevante. La revisión debe considerar si algún diagnóstico o tratamiento del paciente podría haberse visto afectado negativamente. Es posible que sea necesario repetir la prueba si el patrón de resultados atípicos podría haber afectado negativamente a los pacientes.

Referencias

Kitchen S, Adcock DM, Dauer R, Kristoffersen AH, Lippi G, Mackie I, Marlar RA, Nair S. Recomendaciones del Consejo Internacional de Normalización en Hematología (ICSH) para la recolección de muestras de sangre para pruebas de coagulación. *Int J Lab Hematol* 2021; 43(4): 571-580.

Kitchen S, Adcock DM, Dauer R, Kristoffersen AH, Lippi G, Mackie I, Marlar RA, Nair S. Recomendaciones del Consejo Internacional de Normalización en Hematología (ICSH) para el procesamiento de muestras de sangre para pruebas de coagulación. *Int J Lab Hematol* 2021; 43(6): 1272-1283.

Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, Kitchen S, Sutherland M, Pipe SW et al. Directrices de la FMH para el tratamiento de la hemofilia, 3.ª edición. *Hemofilia* 2020; 26 Suppl 6: 1-158.

1184 rue Sainte-Catherine Ouest
Bureau 500
Montréal, Québec H3B 1K1 Canada
Tel.: (514) 875-7944
Fax: (514) 875-8916
Correo-e: wfh@wfh.org

www.wfh.org

