



Revista Colombiana de Química

ISSN: 0120-2804

orodriguez@unal.edu.co

Universidad Nacional de Colombia
Colombia

Leguizamón, John E.; González, Ivonne A.; Bernal, Luisa J.
NECESIDADES METROLÓGICAS EN LOS LABORATORIOS CLÍNICOS

Revista Colombiana de Química, vol. 43, núm. 1, 2014, pp. 1-25

Universidad Nacional de Colombia

Bogotá, Colombia

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=309039195005>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

NECESIDADES METROLÓGICAS EN LOS LABORATORIOS CLÍNICOS

METROLOGICAL NEEDS IN CLINICAL LABORATORIES

NECESSIDADES METROLÓGICAS NOS LABORATÓRIOS CLÍNICOS

John E. Leguizamón¹, Ivonne A. González², Luisa J. Bernal²

[1] Subdirección de Metrología Química y Biomedicina, Instituto Nacional de Metrología. Bogotá, Colombia. Av. Carrera 50 #26-55, interior 2. Tel: 2542222. Código postal: 111321.

[2] Subdirección de Metrología Química y Biomedicina, Instituto Nacional de Metrología. Bogotá, Colombia. Av. Carrera 50 #26-55, interior 2. Tel: 2542222. Código postal: 111321.

[2] Subdirección de Metrología Química y Biomedicina, Instituto Nacional de Metrología. Bogotá, Colombia. Av. Carrera 50 #26-55, interior 2. Tel: 2542222. Código postal: 111321.

Correo electrónico de contacto: jeleguizamon@inm.gov.co

RESUMEN

Los resultados generados por los laboratorios clínicos son elementos claves para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades, así como para el seguimiento de los pacientes, por lo tanto se requiere un control metrológico sobre el proceso de medición, el cual determinará el grado de comparabilidad y de confianza requerido sobre los resultados obtenidos. Esta revisión aborda el tema de comparabilidad de las mediciones y de cómo ésta se ve influenciada por factores como la conmutabilidad de los materiales de referencia,

los métodos de medición, la disponibilidad de materiales y procedimientos de referencia, además de los intervalos de referencia y límites de decisión para un mensurando en particular. Finalmente se exponen cuáles son los mecanismos adoptados que permitirán garantizar la comparabilidad de las mediciones en esta área.

Palabras clave: Metrología, Trazabilidad, Material de referencia, Medición, Química clínica.

ABSTRACT

The results produced by clinical laboratories are key elements in the diagnosis and treatment of diseases and to monitor patients, so, it requires a metrological control over the measurement process, which will determine the degree of comparability and trust required on the obtained measurement results. Therefore, in this paper we discuss about the comparability of measurements and how it is influenced by factors such as commutability of reference materials, measurement methods, availability of materials and reference procedures, in addition to reference intervals and decision limits for a particular measurand. Finally it is exposed what are the mechanisms that allow ensure measurements comparability on this area.

Keywords: Metrology, Traceability, Reference material, Measurement, Clinical chemistry

RESUMO

Os resultados gerados pelos laboratórios clínicos são elementos chaves para o diagnóstico e tratamento de doenças, assim como para o seguimento dos pacientes, sendo preciso um controle metrológico sobre o processo de medição, que determina o grau de comparabilidade e confiança requerido sobre os resultados obtidos. Neste documento trata-se o tópico de comparabilidade das medições e de como a mesma se encontra influenciada por fatores como a comutatividade dos materiais de referência, os métodos de medição, a disponibilidade de materiais e procedimentos de referência, além dos intervalos de referência e limites de decisão para um mensurando em particular. Finalmente, são expostos quais são os mecanismos adotados que permitirão garantir a comparabilidade das medições nesta área.

Palavras chave: Metrologia, Rastreabilidad, Material de referencia, Mediçao, Química clínica.

INTRODUCCIÓN

La metroología es la ciencia de las mediciones y sus aplicaciones e incluye todos los aspectos teóricos y prácticos del proceso de medición, cualquiera que sea su incertidumbre de medición y su campo de aplicación (1). Esta ciencia es transversal a todas las ciencias analíticas, entre ellas la química clínica, área encargada del estudio de matrices de origen biológico (sangre, orina, líquido cefalorraquídeo, heces, entre otros) y de sus componentes, a través de métodos químicos o bioquímicos, empleando técnicas de análisis convencionales, instrumentales o moleculares. Las mediciones que en esta área se llevan a

cabo son de gran impacto en la calidad de vida de las personas, los resultados obtenidos permiten establecer límites de decisión o intervalos de referencia para diagnosticar un paciente, referir un tratamiento médico y tomar decisiones. La necesidad de obtener resultados de medición de varios mensurandos en períodos muy cortos y de aumentar el número de muestras analizadas ha llevado a que en los últimos años el grado de automatización de los laboratorios clínicos crezca de forma exponencial sin sacrificar la confianza exigida en los resultados de medición que se reportan; para lograrlo los laboratorios deben asegurar el control metrológico de los procesos, de los métodos y las técnicas de medición; sin embargo, se han identificado algunas barreras que enfrenta este sector y que se resumen a continuación.

Comparabilidad de los resultados

La comparabilidad metrológica de resultados hace alusión a valores o resultados de medida para magnitudes de una naturaleza dada, que son metrológicamente trazables a la misma referencia, sin importar que los valores y sus incertidumbres sean o no del mismo orden de magnitud (1).

El obtener resultados confiables y comparables, es uno de los objetivos más importantes de cualquier laboratorio clínico (2), sin embargo, lo que se observa en varias ocasiones es que, a pesar de analizar la misma sustancia química por diferentes métodos, el resultado que se obtiene depende del método de medición y de las referencias que éste utilice. Es por esto que no es posible comparar directamente los resultados de las mediciones para obtener

intervalos de referencia (3) y límites de decisión comunes útiles en el diagnóstico y tratamiento del paciente (4, 5).

Una forma de alcanzar la comparabilidad de los resultados, después del uso de materiales de referencia, es emplear metodologías establecidas por convenio internacional (6), Infusino y colaboradores exponen que el objetivo principal de los procedimientos de referencia en el campo clínico es permitir la comparación entre resultados de muestras humanas, independiente de los procedimientos comerciales, reactivos e instrumentos empleados para el análisis, así como de los laboratorios que realizan la determinación (7).

Junto con materiales de referencia, los procedimientos de referencia, consolidan una herramienta que permite establecer la comparabilidad de las mediciones a nivel global por medio de la trazabilidad, entendida como la propiedad del resultado de una medición, que puede ser relacionada con patrones de mayor jerarquía a través de una cadena ininterrumpida de calibraciones, todas con una incertidumbre establecida (1). La trazabilidad se da a través de un sistema de medición de referencia y un sistema de unidades de medición (8) como se muestra en la figura 1.

De acuerdo con la figura 1, en la cima de la cadena se encuentra la definición de la unidad de medida asociada a una magnitud dada por el Sistema Internacional de Unidades (SI), que a través de un procedimiento de medición primario establece un material de referencia (MR) primario; este eslabón es responsabilidad de los institutos nacionales de metroología (INM) y organismos internacionales como la Oficina Internacional de Pesas y Medidas

(BIPM), la Federación Internacional de Química Clínica y Laboratorio Clínico (IFCC), o la Organización Mundial de la Salud (OMS). A partir de estos MR primarios, los laboratorios de referencia (quienes normalmente prestan sus servicios a los fabricantes) desarrollan sus procedimientos de medición, con los cuales generan sus propios MR secundarios, normalmente asociados a un kit de ensayo, para luego ser empleados por los laboratorios de rutina para calibrar sus equipos y desarrollar metodologías (*in-house*) que les permitan analizar las muestras de los pacientes y cuyos resultados (materiales y métodos) son trazables al SI. En la medida que un resultado de medición dependa de varios eslabones en la cadena de trazabilidad, incrementa su incertidumbre, dado que cada calibración aporta su incertidumbre al resultado final.

Emplear MR trazables al SI y procedimientos de referencia, además de permitir la comparabilidad de los resultados de medición, resulta clave para establecer la confianza en el resultado de medición a través del aseguramiento del sistema de medición, compuesto por una sustancia o analito definido inequívocamente, un MR y un procedimiento de medición de referencia (8).

A pesar de los grandes avances en la automatización de los procedimientos de medición en algunos casos, y como barrera técnica, los métodos de rutina presentan una selectividad diferente a la del método de referencia, o los MR empleados por los laboratorios no son trazables al SI, lo que dificulta la comparabilidad de los resultados y la comutabilidad entre MR (11).

Comutabilidad de los materiales

Uno de los principales inconvenientes de las mediciones en el área clínica está relacionado con el tipo de matrices que trabaja y la amplia variedad de analitos que estudia, lo que se traduce en que el efecto matriz es uno de los responsables de generar un comportamiento analítico diferente del analito en solución y del mismo dentro de la matriz de análisis, es decir una falta de comutabilidad entre los materiales (12).

La comutabilidad de los materiales de referencia es entendida como la propiedad de un material de referencia expresada por la proximidad, por una parte, entre los resultados de medida obtenidos para una magnitud determinada de este material utilizando dos procedimientos de medida dados, y por otra, entre los resultados de medida para otros materiales especificados (1). Normalmente estos otros materiales corresponden a las muestras de los pacientes. En pocas palabras significa que el MR presente un comportamiento similar al de las muestras de los pacientes bajo los diferentes métodos de análisis. Mientras no exista comutabilidad no es posible establecer la trazabilidad a un sistema de referencia (13, 14).

Además del efecto matriz, la comutabilidad de los materiales de referencia depende de las características de los componentes al ser medidos (12), del procedimiento de purificación y preparación de la muestra (15, 16), de las características específicas del ensayo y de la técnica analítica usada, entre otras (17, 18). Un ejemplo de la ausencia de esta propiedad es el caso del análisis de lipasa en suero para el diagnóstico de pancreatitis, donde se ha

evidenciado que el tamaño de las micelas del sustrato y la presencia o ausencia de proteínas, pueden afectar el resultado de medición (19, 20).

Otro ejemplo es el caso de las determinaciones enzimáticas empleadas como herramienta de diagnóstico y monitoreo de enfermedades relacionadas con órganos vitales. Se observa que la actividad catalítica depende de la enzima activa presente, de la naturaleza y la concentración de los sustratos usados, de la presencia de cofactores, el pH, la temperatura, la fuerza iónica del medio de reacción, entre otros; en consecuencia el resultado es dependiente del método de ensayo empleado y es difícil implementar una metodología estándar que permita, con un mismo procedimiento, evaluar diferentes actividades enzimáticas. En estudios realizados por varios investigadores se encontró que los resultados obtenidos entre diferentes laboratorios presentan una alta dispersión debido a las diferentes metodologías usadas, las condiciones en que se lleva a cabo el análisis son las responsables de la no comutabilidad de los MR y comparabilidad de los resultados de medida para este tipo de mediciones (7). Recientemente, varias enzimas han sido purificadas y estabilizadas sin alteración significativa en sus actividades catalíticas, y algunas de ellas han sido certificadas a nivel internacional. Es bien conocido que las propiedades catalíticas dependen de la fuente del material, y por lo tanto la comutabilidad de una enzima de referencia puede depender de la matriz de origen seleccionada y de factores tales como interferentes presentes en la matriz (21, 22) y el procedimiento de purificación usado (23).

En pro de darle solución al problema de comutabilidad y comparabilidad, la IFCC junto con el Instituto para Materiales y Métodos de Referencia (IMMR) crearon un programa

colaborativo cuya misión fue la de establecer sistemas de medición de referencia para las enzimas clínicas de mayor importancia; el programa desarrolló procedimientos de medición de referencia, materiales de referencia certificados (MRC) y creó una red de laboratorios de referencia (23).

Límites de decisión e intervalos de referencia para el diagnóstico médico

En el esquema (figura 2) definido por el Comité Nacional de Normas para Laboratorios Clínicos (NCCLS) se muestra cómo se establecen los límites de decisión, y por ende, los intervalos de referencia en los laboratorios clínicos (5, 24).

Para realizar la determinación en primer lugar es necesario seleccionar, de la población general, unos individuos de referencia que cumplan con unas condiciones o criterios específicos establecidos según el estudio, por ejemplo: mujeres embarazadas, fumadores, prescripción de medicamentos, etc., quienes se denominan “población o individuos de referencia”; de este grupo se selecciona uno más pequeño llamado “grupo de muestras de referencia”, del que se obtienen los resultados del(los) mensurando(s) de interés, por ejemplo colesterol; por último, con los valores obtenidos, se grafica la distribución de los resultados y se definen los límites e intervalos de referencia (5).

En algunas ocasiones la determinación de los intervalos o límites de referencia puede ser equivocada, ya que se pueden presentar valores atípicos debidos a registros erróneos, fallas en los laboratorios, selección inadecuada de los individuos del grupo de muestras de referencia, entre otros (4). Es importante tener en cuenta que los intervalos de referencia y

los límites de decisión no pueden ser generalizados para toda la población debido a que dependen de la edad, sexo, raza, estado de salud (antecedentes de enfermedades), entre otros, relacionados con la muestra seleccionada y el método de medición empleado (25).

Es habitual que los límites de referencia los establezcan los fabricantes de los kits diagnósticos; los laboratorios clínicos, en algunos casos, adoptan toda la información suministrada y no realizan una verificación adecuada antes de usarlos debido, generalmente, a los costos que esto implica. Dentro de los parámetros que un laboratorio debe evaluar para validar un kit diagnóstico se encuentran: veracidad, precisión, intervalo dinámico, sensibilidad y selectividad analítica (26).

Métodos de medición y materiales de referencia en el campo clínico

Métodos de medición

Debido a la naturaleza, concentración, heterogeneidad y diversidad de sustancias o analitos de las muestras clínicas y de sus interacciones, existe un conjunto amplio de técnicas analíticas usadas por los laboratorios clínicos para su análisis. Además de los métodos de análisis instrumental convencional (cromatografía, espectrofotometría, electroforesis, etc.), se observa cómo en el área clínica cobran gran importancia los ensayos inmunológicos, que en términos generales están basados en el grado de interacción entre un antígeno y un anticuerpo, con la ventaja de ofrecer una alta selectividad y sensibilidad.

La estandarización de los inmunoensayos dentro de un laboratorio no es tan sencilla, ya que no existen métodos de referencia que faciliten las comparaciones entre resultados y MR de

comutabilidad demostrada, no es posible asegurar que el calibrador sea químicamente igual a la muestra u homogéneo debido a la naturaleza proteica de las sustancias o analitos de interés, por lo que la asignación del valor a partir de un estándar es difícil de realizar (27). Adicionalmente, en algunas ocasiones, para este tipo de ensayos, en la validación de los métodos de medición se emplean técnicas estadísticas diferentes a las empleadas en la validación de métodos analíticos químicos convencionales, por ejemplo, en el caso de las enzimas las respuestas de éstas no presentan comportamientos lineales, por lo que las regresiones planteadas (28) obligan a desarrollos estadísticos más complejos respecto a las calibraciones lineales.

En el sector clínico algunas de las sustancias o analitos evaluados se reportan en unidades diferentes a las del SI, generalmente se expresan en Unidades Internacionales (UI), las cuales están basadas en el efecto o actividad biológica del compuesto en cuestión; son establecidas por consenso a través de un estudio colaborativo internacional coordinado por la OMS a través del comité sobre estandarización biológica. Normalmente tienen una equivalencia con una determinada masa del compuesto en relación con el efecto que produce, dado los continuos avances en las técnicas de purificación es probable que éstos valores de masa cambien, por lo que cual no son trazables al SI. Es por esto que la IFCC recomienda aplicar el SI en química clínica cuando sea posible (29), pero autores como Doumas y colaboradores, argumentan que no es adecuado aplicar una interpretación muy estricta al SI (30, 31) dado que no siempre es factible hacerlo para esta área de la química.

En el caso de las técnicas de medición que involucran ácidos nucleicos como es el caso de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), la cuantificación de cantidades relativas de secuencias de ácido desoxirribonucleico (ADN) permanecen como un proceso analítico complejo supeditado tanto a la calidad de los reactivos, las condiciones de los equipos, pero principalmente a la calidad del ADN o ácido ribonucleico (ARN) de partida, y esta normalmente es función del proceso de extracción, de la matriz de análisis, lo que puede generar problemas de commutabilidad con los MR disponibles.

Normalmente las metodologías disponibles requieren de procesos de extracción, purificación, detección y cuantificación del ADN. Sin embargo, los estándares basados en ADN genómico o amplificaciones por PCR no son lo suficientemente estables, ya que dan como resultado un número de copias variable. La preparación de la curva de calibración al igual que en otros procedimientos analíticos está sujeta a errores, con una veracidad dependiente de la calidad del ADN que se emplea como MR y la precisión en la preparación en la curva de calibración (32).

Debido a la diversidad de analitos, así como al tipo de mediciones que se llevan a cabo en el área de química clínica, los sistemas de medición se pueden clasificar en dos: los que son trazables al SI (analitos libres y familias de analitos) y los que se expresan en UI, no trazables al SI.

Materiales de Referencia

El uso apropiado de un MRC es indispensable para asegurar la calidad de las mediciones, disminuir el sesgo y mejorar precisión de los resultados clínicos y de las técnicas analíticas (33, 34). Los MR clínicos con valores conocidos, según De Biévre (35), son destinados a la validación de un procedimiento y la verificación de un instrumento de medición (es decir, para asegurar que se proporciona adecuada, precisa y reproduciblemente la información), además son una herramienta ampliamente usada como control de calidad. Emplear MR en la etapa de validación, previo al análisis de muestras de rutina, permite evaluar las contribuciones a la incertidumbre de los resultados de medición según el procedimiento validado (36).

La exactitud global en los resultados de los ensayos clínicos de rutina es atribuida a un mecanismo de dos pasos, en primer lugar a la búsqueda de la veracidad por medio de la calibración, y en segundo lugar al aseguramiento de la coherencia de la veracidad a través del control de calidad. Ambos pasos implican una serie de actividades, de acuerdo con el desarrollo de la técnica de medición específica, que conectan los resultados con una referencia de mayor orden metrológico, como un MR o un método de referencia, trazable al SI. La calibración conlleva directamente al uso de calibradores que cumplen los requisitos de un MR: valores de las propiedades definidos y asignados por un procedimiento metrológicamente válido (37).

Un ejemplo de MR desarrollados para el área clínica son los 13 MRC en concentración o cantidad de materia de creatinina registrados en la base de datos de la Joint Committee for

Traceability in Laboratory Medicine (JCTLM), estos materiales, según se reporta, han sido elaborados por INM de países como Japón, EEUU y México en matrices como suero humano, suero bovino o certificados en pureza; tienen como objetivo ser utilizados en la validación de métodos analíticos. Sin embargo, la JCTLM también relaciona MR no trazables al SI, sino a protocolos reconocidos internacionalmente, un ejemplo son los factores de coagulación (38).

Mecanismos actuales para asegurar la trazabilidad

En Europa en 1998 se generó la directiva EC IVDD 98/79/EC con el objetivo de promover la estandarización y armonización global para los laboratorios clínicos, aplica para los productores de dispositivos de diagnóstico in vitro (IVDD); esta directiva establece que los productos empleados como instrumentos o aparatos de diagnóstico con función primaria de medición analítica deberán diseñarse y fabricarse de forma que proporcionen mediciones con una exactitud adecuada, dentro de unos márgenes convenientes de acuerdo con la finalidad prevista del producto, métodos de medición y materiales de referencia disponibles. Adicionalmente, esta directiva exige la aplicación de un sistema de calidad por parte de los fabricantes en el que se documenten los exámenes y ensayos que se efectúan antes, durante y después de la fabricación, la frecuencia y el equipo empleado, junto con la calibración realizada, para la cual se debe garantizar una correlación apropiada, entre otros requisitos (39). De acuerdo con esto, se observa que se hace necesario establecer una cadena de trazabilidad de los productos empleados en los laboratorios clínicos. Con el cumplimiento de los lineamientos de esta directiva los productores pueden portar en sus

productos el sello CE como garantía de la calidad del mismo, permitiéndoles la comercialización dentro de la Comunidad Europea.

Con el objetivo de apoyar y soportar la directiva EC IVDD 98/79/EC, a través de la identificación de materiales y métodos de referencia, en el 2002 se estableció una declaración de cooperación entre BIPM, IFCC, y la Cooperación Internacional de Acreditación de Laboratorios (ILAC), dando origen al JCTLM, cuya principal función es la de satisfacer la necesidad de una plataforma internacional que promueva y brinde directivas para el reconocimiento y la aceptación de equivalencias de las mediciones en laboratorios clínicos, así como la trazabilidad a estándares de medición apropiados. Dicha labor se ha venido desarrollando a través del establecimiento de una base de datos de laboratorios de medición de referencia, MR y procedimientos de medición del más alto orden jerárquico, de modo que puedan ser usados por la industria de los IVDD y los usuarios interesados (organizaciones para el aseguramiento de la calidad en el área de los laboratorios clínicos, entidades regulatorias, organizaciones internacionales, institutos nacionales de metrología e investigadores).

El JCTLM está conformado por dos grupos de trabajo: WG1 (por sus siglas en inglés), responsable de identificar procedimientos de medición y MR internacionalmente aceptados, y WG2, encargado de identificar laboratorios de referencia para proveer procedimientos de medición de referencia aceptados internacionalmente para ser usados en la asignación de valores para MR y la evaluación de la conmutabilidad (40).

En cuanto a los MR, el JCTLM hace una clasificación en dos grupos: tipo A, aquellos compuestos bien caracterizados, disponibles en forma pura y que pueden ser expresados en unidades del SI, y tipo B, donde el mensurando no está completamente definido, normalmente hace referencia a mezclas heterogéneas, expresados en unidades arbitrarias como las UI.

No todos los mensurandos evaluados en los laboratorios clínicos cuentan con un MRC disponible, ya que su naturaleza, las metodologías diseñadas, los efectos matriciales asociados, entre otros, no lo permiten. La ISO 17511 (41) establece cinco casos donde expone todas las posibilidades en cuanto a la manera de generar trazabilidad y a su vez una comparabilidad de las mediciones. La Tabla 1 describe cada uno de los casos y presenta algunos ejemplos:

El caso 1 se da para los MR tipo A, que corresponden a compuestos químicamente puros, para los que se han desarrollado procedimientos de medición de referencia independientes de los procesos analíticos de rutina.

Los casos 2 a 5, son característicos de analitos tipo B, donde los procesos de estandarización son más complejos dada su naturaleza heterogénea, tanto los MR como los procedimientos de medición, normalmente, se obtienen por consenso entre representantes de las partes interesadas. En el caso 4 se encuentra una limitante adicional, a varios de los MR no se les ha evaluado su comutabilidad con matrices reales o muestras clínicas o ya se ha demostrado que no son comutables (42). En el caso 5, donde no existen materiales ni

procedimientos de referencia, el mecanismo de trabajo consiste en establecer procesos de medición bajo consenso de tal forma que se logre la armonización de los resultados, de esta forma la trazabilidad está dada a los procedimientos desarrollados por cada uno de los fabricantes de los IVDD.

De acuerdo con la base de datos de JCTLM, cerca del 20% de los mensurandos son tipo A, y el 80% son tipo B. Dada la importancia de los analitos tipos B en el campo médico, específicamente en áreas como oncología, la necesidad de establecer los mecanismos que conduzcan a la armonización de los procedimientos de medición para los casos 4 y 5 es crítica.

CONCLUSIONES

En un esfuerzo por solucionar el problema actual de comparabilidad de resultados, la comunidad científica del área clínica, busca desarrollar procesos de medición estandarizados y materiales de referencia trazables y de comutabilidad demostrada, que permitan obtener resultados de medición confiables, facilitando su interpretación clínica y permitiendo continuidad en el diagnóstico de un paciente. Uno de los mecanismos encontrados es la implementación de procedimientos reconocidos internacionalmente que se relacionen con referencias metrológicas aceptadas; en este desarrollo se han identificado varios actores claves: institutos de metrología, fabricantes de dispositivos de diagnóstico *in vitro*, laboratorios clínicos, organizaciones profesionales del área, los organismos de gobierno, universidades y los proveedores de programas de evaluación externa de la calidad.

REFERENCIAS

1. BIPM. *International vocabulary of metrology - Basic and general concepts and associated terms (VIM)*.; 2012.
2. Panteghini M.; Forest J.C. Standardization in laboratory medicine: new challenges. *Clin. Chim. Acta*. 2005. **355**(1-2): 1–12.
3. Murat J.B.; Dard C.; Fricker Hidalgo H.; Dardé M.L.; Brenier-Pinchart M.P.; Pelloux H. Comparison of the Vidas system and two recent fully automated assays for diagnosis and follow-up of toxoplasmosis in pregnant women and newborns. *Clin. Vaccine Immunol.* 2013. **20**(8): 1203–1212.
4. Horn P.S.; Pesce A.J. Reference intervals: an update. *Clin. Chim. Acta*. 2003. **334**(1-2): 5–23.
5. Aytekin M.; Emerk K. Accurate reference intervals are required for accurate diagnosis and monitoring of patients. *Electron. J. Int. Fed. Clin. Chem. Lab. Med.* 2008. **19**(2): 1–5.
6. Dufour D.R.; Lott J.A.; Nolte F.S.; Gretch D.R.; Koff R.S.; Seeff L.B. Diagnosis and monitoring of hepatic injury. I. Performance characteristics of laboratory tests. *Clin. Chem.* 2000. **46**(12): 2027–2049.
7. Infusino I.; Bonora R.; Panteghini M. Traceability in clinical enzymology. *Clin. Biochem. Rev.* 2007. **28**(4): 155–161.
8. Thienpont L.M.; Van Uytfanghe K.; De Leenheer A.P. Reference measurement systems in clinical chemistry. *Clin. Chim. Acta*. 2002. **323**(1-2): 73–87.

9. Siekmann L. Establishing measurement traceability in clinical chemistry. *Accredit. Qual. Assur.* 2004. **9**(1-2): 5–17.
10. Bock J.L; Eckfeldt J.H. Advances in standardization of laboratory measurement procedures : implications for measuring biomarkers of folate and vitamin B-12 status in NHANES. *Am. J. Clin. Nutr.* 2011. **94**(1): 332S-336S.
11. Férand G.; Edwards J.; Kanno T.; Lessinger J.M.; Moss D.W.; Schiele F.; Tietz N.W.; Vassault A. Interassay calibration as a major contribution to the comparability of results in clinical enzymology. *Clin. Biochem.* 1998. **31**(6): 489–494.
12. Franzini C.; Ceriotti F. Impact of reference materials on accuracy in clinical chemistry. *Clin. Biochem.* 1998. **31**(6): 449–457.
13. Ricós C.; Juvany R.; Simón M.; Hernandez A.; Alvarez V.; Jimenez C.V.; Minchinela J.; Perich C. Commutability and traceability: their repercussions on analytical bias and inaccuracy. *Clin. Chim. Acta.* 1999. **280**(1-2): 135–145.
14. Miller W.G. Specimen materials, target values and commutability for external quality assessment (proficiency testing) schemes. *Clin. Chim. Acta.* 2003. **327**(1-2): 25–37.
15. Panteghini M.; Ceriotti F.; Schumann G.; Siekmann L. Establishing a reference system in clinical enzymology. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2001. **39**(9): 795–800.
16. Vesper H.W.; Miller W.G.; Myers G.L. Reference materials and commutability. *Clin. Biochem. Rev.* 2007. **28**(4): 139–147.
17. Van Nevel L.; Örnemark U.; Smeyers P.; Harper C.; Taylor P.D.P. *IMEP-17 Trace and Minor Constituents EUR 20657 EN Report to Participants.*; 2003.

18. Panteghini M.; Myers G.L.; Miller W.G.; Greenberg N. La importancia de la trazabilidad metrológica en la validez de la medición de creatinina como índice de función renal. *Acta Bioquim. Clin. Latinoam.* 2009. **43**(2): 271–277.
19. Lawson N.S.; Williams T.L.; Long T. Matrix effects and accuracy assessment. Identifying matrix-sensitive methods from real-time proficiency testing data. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1993. **117**(4): 401–411.
20. Eckfeldt J.H.; Copeland K.R. Accuracy verification and identification of matrix effects. The College of American Pathologists' Protocol. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1993. **117**(4): 381–386.
21. Sánchez M.; Canalias F.; Palencia T.; Gella F.J. Creatine kinase 2 mass measurement: methods comparison and study of the matrix effect. *Clin. Chim. Acta.* 1999. **288**(1-2): 111–119.
22. Jackson C.M.; Esnouf M.P.; Winzor D.J.; Duewer D.L. Defining and measuring biological activity: applying the principles of metrology. *Accredit. Qual. Assur.* 2007. **12**(6): 283–294.
23. Férand G.; Lessinger J.M. Preparation of enzyme calibration materials. *Clin. Chim. Acta.* 1998. **278**(2): 151–162.
24. National Committee for Clinical Laboratory Standards - NCCLS. *C28-A2: How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline.* Second. 2000: 172.
25. Schnabl K.; Khun M.; Adeli K. Pediatric reference intervals: critical gap analysis and establishment of a national initiative. *Electron. J. Int. Fed. Clin. Chem. Lab. Med.* 2008. **19**(2): 1 – 8.

26. Horowitz G.L. Reference intervals : Practical aspects. *Electron. J. Int. Fed. Clin. Chem. Lab. Med.* 2008. **19**(2): 1–11.
27. Stenman U.H. Immunoassay Standardization : Is It Possible , Who Is Responsible , Who Is Capable ? *Clin. Chem.* 2001. **47**(5): 815–820.
28. Miller J.N.; Miller J.C. *Estadistica y quimiometria para quimica analitica.* 4a ed. Madrid: Pearson Educacion S.A. 2002: pp. 296.
29. IUPAC IU of P and AC, Chemistry, IFCC IF of C. Expert panel on quantities and units in clinical chemistry (recommendations 1979). *Pure Appl. Chem. Chem.* 1979. **1**: 2451–2479.
30. Rigg J.C.; Brown S.S.; Dybkaer R.; Olsen H. *Compendio de terminología y nomenclatura de propiedades en las ciencias de laboratorio clínico.* IUPAC, Union Internacional de Quimica Pura y Aplicada, e IFCC, Federacion Internacional de Quimica Clinica; 1993: pp. 125.
31. Doumas B.T.; Laessig R.H.; Larson F.C. The sanitized Système International (SI) d'Unités. Opinion. *Clin. Chim. Acta.* 1987. **167**: 113 – 116.
32. Rutledge R.G.; Côté C. Mathematics of quantitative kinetic PCR and the application of standard curves. *Nucleic Acids Res.* 2003. **31**(16): e93.
33. Davies K.W.; Park H. Quality assurance in clinical chemistry laboratories in the UK. *Accredit. Qual. Assur.* 1999. **4**: 18–26.
34. Ibáñez C.; López J.F.; Sahuquillo A. Certified reference materials for analytical mercury speciation in biological and environmental matrices: do they meet user needs?; a review. *Anal. Chim. Acta.* 2012. **720**: 9–15.

35. De Biévre P.; Dybkaer R.; Fajgelj A.; Hibbert D.B. Metrological traceability of measurement results in chemistry: Concepts and implementation (IUPAC Technical Report)*. 2011. **83**(10): 1873–1935.
36. Buzoianu M.; Aboul-Enein H.Y. Clinical reference materials for the validation of the performance of photometric systems used for clinical analyses. *Accredit. Qual. Assur.* 1997. **2**(8): 375–380.
37. International Organization for Standardization. ISO Guide 35:2006 Reference materials — General and statistical principles for certification. 2006: 72.
38. JCTLM Laboratory medicine and in vitro diagnostics. *List of all available certified reference materials*. 2013: 1–76.
39. Parlamento Europeo y del Consejo. Directiva 98/79/CE. 1998. (6): 37.
40. BIPM - Bureau International des Poids et Mesures. BIPM. Disponible en: <http://www.bipm.org/>. [Consultado el 17 de Febrero de 2014].
41. International Organization for Standardization. ISO 17511:2003 In diagnostic medical devices - Measurement of quantities in biological samples - Metrological traceability of values assigned to calibrators and control materials. 2003: 23
42. Greg Miller W.; Myers G.L.; Lou Gantzer M.; Kahn S.E.; Schönbrunner E.R.; Thienpont L.M.; Bunk D.M.; Christenson R.H.; Eckfeldt J.H.; Lo S.F.; Nübling C.M.; Sturgeon C.M. Roadmap for harmonization of clinical laboratory measurement procedures. *Clin. Chem.* 2011. **57**(8): 1108–1117.

Tabla 1 Casos posibles estipulados por la ISO 17511 (41).

Caso	Se encuentran MR	Procedimiento de medición de referencia	Ejemplo
1	Si ^a	Si ^a	Glucosa
2	Si ^b	Si ^b	Hemoglobina glicosilada
3	No	Si ^b	Factores de coagulación
4	Si ^b	No	Inmunoglobulinas
5	No	No	Marcadores tumorales

^a Trazable al SI; ^b No es trazable al SI.

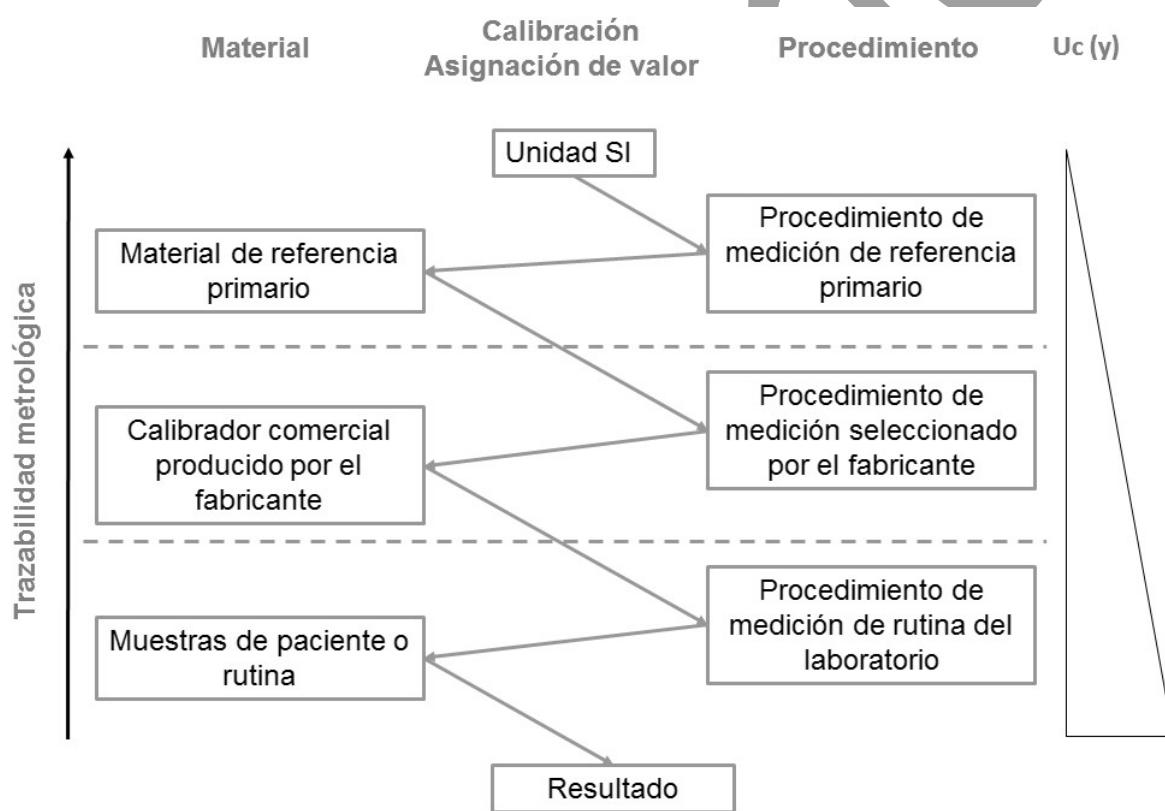


Figura 1. Cadena de trazabilidad (9, 10).

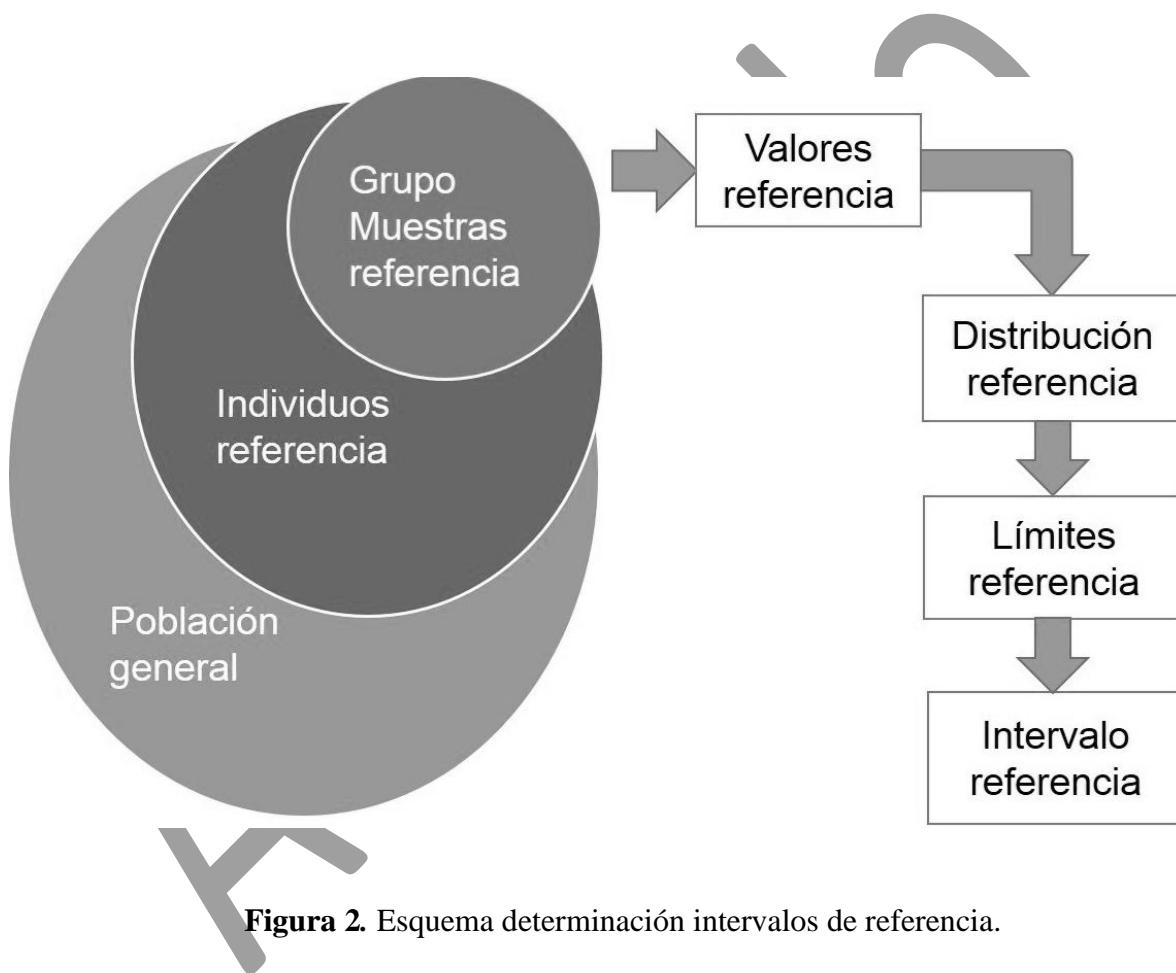


Figura 2. Esquema determinación intervalos de referencia.

Aceptado