

CONTROL INTERNO DE LA CALIDAD APLICADO AL CENMAST, PRODUCTO PARA DETECTAR MASTITIS

A. Betancourt, Anledys Ramírez*, Verónica Navarro, Daisy González, Yanet López, Anel Linares

*Dirección de Aseguramiento de la Calidad, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA),
Apartado 10, San José de las Lajas, La Habana, Cuba. Correo electrónico: arsenio@censa.edu.cu;*

**Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL), Ciudad de La Habana, Cuba*

RESUMEN: El CENMAST es un diagnosticador con un principio semejante a la prueba de California, durante su producción por el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, el laboratorio de control de la calidad comprueba las especificaciones del producto, con las determinaciones del principio activo, pH y densidad, cuyos resultados están bajo un programa de control interno de la calidad. Se evaluó un lote del diagnosticador como material de referencia de trabajo, para el uso como muestra de control de la calidad, también se empleó el mismo en la validación de la precisión de los ensayos en condiciones de repetibilidad y condiciones intermedias variando los analistas, día de trabajo, equipos y la calibración. Se halló una adecuada precisión entre las réplicas, se reportaron los rangos críticos 0,03, 0,30, 0,006 para el principio activo, el pH y la densidad respectivamente. La distribución de los valores de la muestra control ploteados en los gráficos de control, demostraron que los métodos analíticos están bajo control estadístico. El control interno de la calidad demostró la confiabilidad de los resultados en las muestras controles y en las muestras del producto ambas evaluadas en paralelo.

(Palabras clave: control interno de la calidad; diagnosticador; mastitis)

INTERNAL QUALITY CONTROL APPLIED TO CENMAST, A PRODUCT TO DETECT MASTITIS

ABSTRACT: CENMAST is a diagnostic test similar to the California Mastitis Test (CMT). During the production process at Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), the Quality control Laboratory tests the specifications of the product, determining the active substance, pH and density, the results are under Internal Quality Control Program. A batch was evaluated as a working reference material, to be used as a sample of quality control, also it was used for the validation of the assay precision under repeatability conditions and intermediate conditions changing the analysts, working days, equipments and calibration. A suitable precision among replicas was obtained and critical ranges of 0,03, 0,30, 0,006 were reported for the active substance, pH and density respectively. The distribution of the control sample values plotted on the control graphics demonstrated that the analytical methods are under statistic control. The quality internal control demonstrated the reliability of the results in control and product samples when evaluated in parallel.

(Key words: internal quality control; mastitis diagnosis)

INTRODUCCIÓN

La mastitis es considerada como la enfermedad más importante de la lechería a nivel mundial, provoca grandes pérdidas en la producción láctea fundamentalmente en su forma subclínica. Para su diagnóstico

se emplean métodos rápidos, como la prueba de California, sin embargo con el objetivo de ahorrar importaciones se desarrolló el CENMAST, un producto nacional que presenta el mismo desempeño que el reactivo de California (1). La planta de producción de este diagnosticador aplica las buenas prácticas de fa-

bricación(2), mientras que el laboratorio de control de la calidad siguiendo las buenas prácticas de laboratorio evalúa la conformidad con la especificación establecida, ambos procesos funcionan bajo el marco de un sistema de gestión de la calidad implantado en el centro (3).

El programa de control interno de la calidad es parte de las BPL, su objetivo esencial es controlar la calidad de los resultados analíticos, su implementación en cada laboratorio al igual que las restantes actividades del laboratorio están en continua mejora, por esto se decidió como objetivo de este trabajo introducir herramientas estadísticas que incrementan el control interno de la calidad del laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Evaluación de un material de referencia de trabajo

Se evaluó un material de referencia de trabajo (MR) formado por unidades de un lote del producto CENMAST y se determinaron el principio activo, la densidad y el pH. La homogeneidad se comprobó en 10 frascos con tres réplicas, los valores atípicos se detectaron por la prueba de Grubb (4), valores eliminados se sustituyeron por nuevas determinaciones hasta llegar al número propuesto, procedimiento que se repitió en todos los estudios realizados con grupos de muestras. Se utilizó la prueba de Fisher para demostrar homogeneidad cuando la varianza de las réplicas fue igual o menor que la varianza del método analítico y la varianza de los frascos fue igual o menor que la varianza de las réplicas (5). Se analizaron entre 15-30 determinaciones de pH, densidad y principio activo, para determinar el grado de homogeneidad que definió la confección de los intervalos de confianza, tolerancia o el rechazo del material no homogéneo. Se utilizó el MR como muestra control para determinar el rango crítico y los gráficos de control utilizados en el control interno del laboratorio.

Revalidación de los métodos analíticos

Se validó la precisión en condiciones de repetibilidad y condiciones intermedias de los métodos analíticos: Concentración del detergente empleado como principio activo por método titrimétrico (6), densidad por método gravimétrico (7) con una balanza analítica y medición del pH por método potenciométrico. Se evaluaron 15 o más muestras por triplicado de los indicadores mencionados en condiciones de repetibilidad y en condiciones intermedias variando el día (diferencia mínima de 5 días), el equipo y el analista en la determinación de la densidad, mientras que en la cuantificación del principio

activo no se consideró el equipo como fuente de variación. En la medición del pH las fuentes evaluadas fueron día y la calibración (diferencia mínima de 1 hora entre las calibraciones) del equipo (8). Se utilizó el paquete estadístico del Microsoft Office Excel 2007 para determinar el promedio, la desviación estándar (ds), varianzas, prueba de Fisher, el coeficiente de variación (CV) y el rango crítico. Se compararon por la prueba de Fisher las varianzas de repetibilidad y condiciones intermedias, para identificar las fuentes de variación que inciden de manera significativa en los resultados analíticos.

Utilización de gráficos de control interno de la calidad

Se confeccionaron los gráficos de control por variables: gráfico control de recorrido y el gráfico control de media, se emplearon los valores obtenidos del material de referencia de trabajo evaluado en condiciones de repetibilidad. Para el gráfico de control de media se determinaron la línea central (promedio), los intervalos de advertencia ($\text{promedio} \pm 2ds$) e intervalos de acción ($\text{promedio} \pm 3ds$), para el gráfico de recorrido se calcularon la línea central y el intervalo de acción según la NC ISO 8258: 2002 (9).

RESULTADOS Y DISCUSION

El material de referencia (Tabla 1) no mostró diferencias estadísticas significativas entre las varianzas del principio activo dentro de cada frasco con respecto a la varianza entre frascos. Además, la diferencia obtenida entre la varianza intrafrasco y el método analítico, resultó a favor de una menor variabilidad intrafrasco, lo que corroboró la homogeneidad del material, esto permitió reportar el intervalo de confianza (Tabla 2) de los indicadores con valores que cumplieron con la especificación del producto (5), lo que viabilizó su empleo como muestra control durante la validación y la confección de gráficos de control.

La validación de los métodos realizada con carácter de revalidación dirigida a la precisión determinó el rango crítico para cada indicador de calidad (Tabla 3), se estableció la diferencia máxima permisible entre las réplicas de la muestra control, así como la diferencia entre las réplicas de las muestras reales, esto significa que se controló la precisión del método y también la precisión de cada muestra de manera independiente (10). Los valores de los coeficientes de variación caracterizaron la precisión de cada método analítico, éstos resultaron menores que los reportados por métodos físico-químico similares con valores entre 3 y 5% (8).

TABLA 1. Comparación de las varianzas para evaluar la homogeneidad del material de referencia./ *Comparison of variances to evaluate the homogeneity of reference materials*

Prueba de Fisher	Probabilidad Calculada(p)		
	Principio activo	Densidad	pH
SF/SR	0,9602	0,2355	0,9005
SR/Smétodo	$7,4057 \times 10^{-6} *$	0,4366	0,0976

$p < 0,05$: *difieren las varianzas, SF: Varianza entre frascos, SR: Varianza intra frasco, Smétodo: Varianza del método analítico

TABLA 2. Caracterización del material de referencia./ *Characterization of reference material*

Material de referencia de trabajo	Principio activo (%) (n=18)	Densidad (g/ml) (n=18)	Medición del pH (n=17)
Intervalo de confianza	$2,89 \pm 0,00452$	$0,9994 \pm 0,00084$	$6,8 \pm 0,0511$

TABLA 3. Precisión del método en condiciones de repetibilidad./ *Accuracy of the method under repeatability*

Estadígrafo	Principio activo (%)	pH	Densidad (g/L)
Promedio	2,89	6,8	0,9994
Desviación estándar	0,010	0,092	0,0017
Coefficiente de variación	0,35	1,36	0,17
Rango crítico	0,03	0,30	0,006

El estudio de la precisión en condiciones intermedias en la determinación del principio activo, evidenció que el analista resultó la fuente de variación significativa estadísticamente sobre los resultados analíticos (Tabla 4), al comparar la precisión del analista principal (analista1) con los restantes analistas, se observó que el analista 2 registró los valores más elevados de CV y por ello una mayor variabilidad de sus resultados (Tabla 5).

La precisión en condiciones intermedias para la determinación de la densidad indicó que el analista resultó la fuente significativa sobre los resultados (Ta-

TABLA 4. Comparación de las varianzas durante los estudios de precisión intermedia. Determinación del principio activo./ *Comparison of the variances for the intermediate precision studies. Determination of the active ingredient*

Prueba de Fisher	Probabilidad Calculada (p)
Sdía/Sr	0,225503766
Sanalistas/Sr	$4,23507E-11 *$
Sanalista1/Sanalista2	$3,78907E-09 *$
Sanalista1/Sanalista3	0,237927817

$p < 0,05$: *difieren las varianzas

bla 6), la comparación entre analistas determinó que el analista 2 presentó mayor variabilidad (Tabla 7), aunque con valores del CV que están de acuerdo con los reportados para métodos semejantes (8). Se consideró que el analista 2 debe recibir mayor entrenamiento, sin embargo debido a que el mismo influyó sobre la precisión de dos métodos analíticos, donde la observación visual es esencial, se le indicó al analista asistir a una consulta médica de oftalmología.

Las mediciones del pH sometidas a las diferentes fuentes de variación en condiciones intermedias no presentaron cambios significativos en la precisión de los resultados (Tabla 8, 9). Esto se debe a que en este tipo de método, los analistas tienen poca intervención porque están basados en mediciones directas de los instrumentos de medición. La alta precisión es una característica ventajosa que posee la automatización de las determinaciones.

En los gráficos de control de media y recorrido confeccionados en condiciones de repetibilidad se plotearon los resultados de las muestras controles en condiciones de trabajo diario, esto permite conocer la distribución real de los valores del control y el reajuste del gráfico a las condiciones de rutina.

TABLA 5. Precisión en condiciones intermedias en la determinación de principio activo./ *Accuracy in intermediate conditions in the active ingredient measurement*

Estadígrafo	Analista 1 (día 1)	Analista 1 (día 2)	Analista 2	Analista 3
Promedio	2,87	2,89	2,77	2,79
ds	0,012	0,010	0,072	0,014
CV (%)	0,42	0,35	2,60	0,50

TABLA 6. Comparación de las varianzas durante los estudios de precisión intermedia. Determinación de la densidad./ *Comparison of the variances for the intermediate precision studies. Determination of density*

Prueba de Fisher	Probabilidad Calculada(p)
Sdía/Sr	0,1337
Sanalista/Sr	0,0036*
Sequipo/Sr	0,0811
Sanalista1/Sanalista2	0,0006*

p<0,05:*difieren las varianzas

El gráfico de media del principio activo (Figura 1) mostró un comportamiento que se acerca al control estadístico definido como «bajo control» (11), aunque se debe señalar la ocurrencia de valores situados entre los límites inferiores de advertencia y acción, que alertó sobre incrementos de la variabilidad de los resultados, sin una tendencia definida hacia un cambio en la exactitud, con valores comprendidos en la especificación del producto. El comportamiento mencionado puede asociarse a las condiciones de precisión intermedias del ensayo donde variaron el día y el analista.

TABLA 7. Precisión en condiciones intermedias en la determinación de la densidad./ *Accuracy in intermediate conditions in the density measurement*

Estadígrafo	Analista 1			Analista 2
	día1/equipo1	día2/equipo1	día2/equipo2	
Promedio	0,9984	1,0008	1,0022	0,9988
ds	0,0012	0,0012	0,0021	0,0028
CV	0,12	0,12	0,21	0,28

TABLA 8. Comparación de las varianzas durante los estudios de precisión intermedia. Medición del pH./ *Comparison of the variances for the intermediate precision studies. Measurement of pH*

Prueba de Fisher	Probabilidad Calculada(p)
Sdía/Sr	0,1100
Scalibración/Sr	0,2292
Scalibración1/Scalibración2	0,9702

El gráfico de recorrido (Figura 2) confirmó una precisión dentro del límite establecido. Los intervalos de advertencia y acción mostraron su utilidad para detectar discretos desvíos de los valores y facilitaron la aplicación de las reglas de Wesgard (12) para la interpretación de los gráficos.

El gráfico de media de la densidad (Figura 3) mantuvo un comportamiento semejante al principio activo de estado «bajo control», con dos valores en los lími-

TABLA 9. Precisión en condiciones intermedias en la medición del pH./ *Accuracy in intermediate conditions in pH measurement*

Estadígrafos	Analista		
	Día1/calibración1	Día 2/calibración 2	Día2/calibración 3
Media	6,9	6,8	6,6
Ds	0,052	0,093	0,092
CV	0,76	1,36	1,39

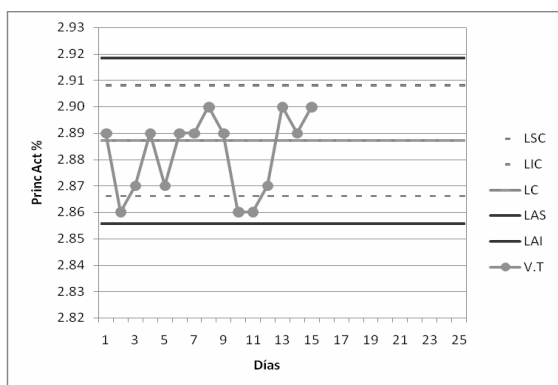


FIGURA 1. Gráfico de control de media del principio activo./ *Control chart average active ingredient.*

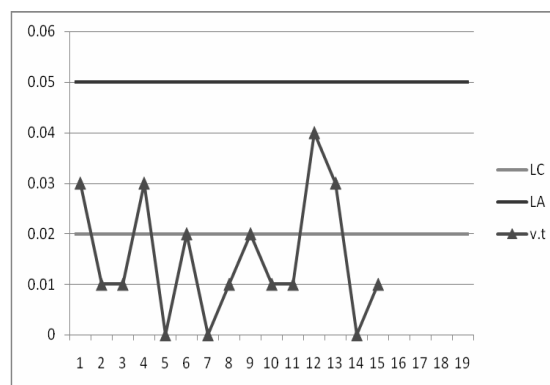


FIGURA 2. Gráfico de control de recorrido del principio activo./ *Control chart range active ingredient.*

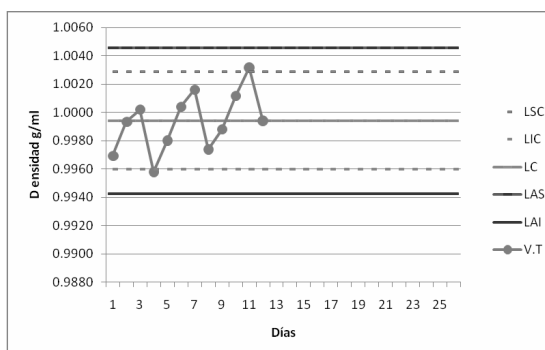


FIGURA 3. Gráfico de control de media de la densidad./ *Control chart average density.*

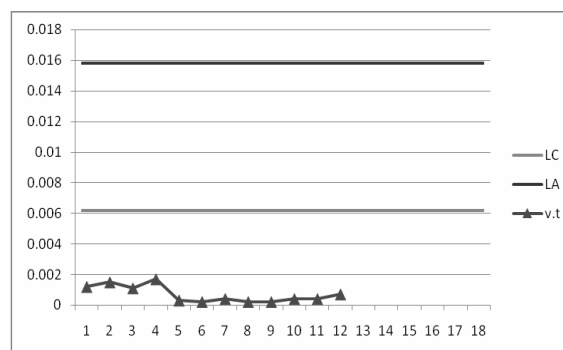


FIGURA 4. Gráfico de control de recorrido de la densidad./ *Control chart range density.*

tes de advertencia que reflejan un discreto aumento de la variabilidad, que esta de acuerdo con lo esperado para valores obtenidos en condiciones de precisión intermedia. El gráfico de recorrido (Figura 4) mostró valores aceptables de precisión entre las réplicas.

En el comportamiento del pH se observaron puntos que sobrepasaron el límite de advertencia inferior (Fi-

gura 5) e incluso que llegan al límite de acción inferior. Se observó una discreta tendencia a la disminución de los valores mantenida por debajo de la línea central, lo que puede influir en el nuevo gráfico en condiciones intermedias, la causa puede estar relacionada con un cambio del pH del producto o cambio en la calibración del equipo de medición, aspectos que serán

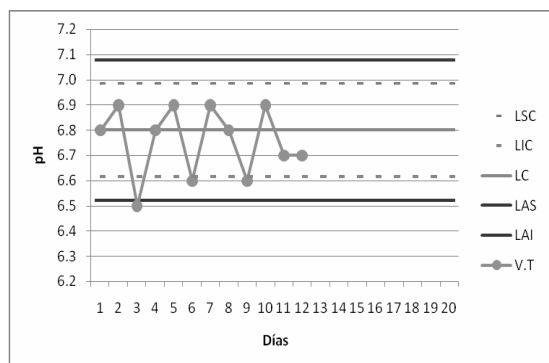


FIGURA 5. Gráfico de control de media del pH./ *Control chart average pH.*

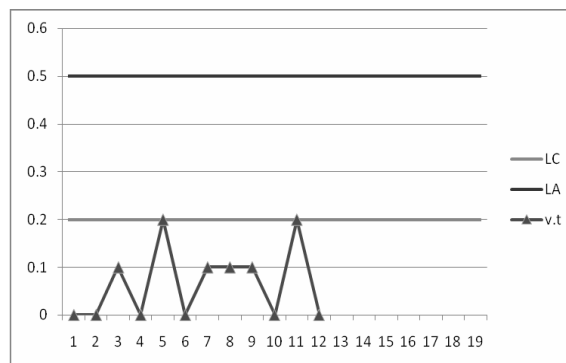


FIGURA 6. Gráfico de control de recorridode la medición del pH. / *Control chart range pH.*

chequeados para evitar un desvío de resultados que lleven a resultados fuera de las especificaciones del producto. Los valores del gráfico de recorrido (Figura 6) ratificaron una precisión aceptable entre las réplicas.

El uso de materiales de referencia de trabajo en la validación de ensayos y en el control interno, permitió disponer de muestras controles caracterizadas, similares a las muestras reales. El empleo de MR de trabajo para el control de ensayos cualitativos o cuantitativos se aplica con éxito en el control de la calidad de los laboratorios y resulta una alternativa frente a las limitaciones de financiamiento para adquirir MR certificados o la carencia de los mismos en el mercado (13,14).

Se coincidió con otros autores (1, 15) en el empleo de métodos estadísticos como los rangos críticos para el control de la precisión que resultaron sencillos de aplicar por el analista, así como los gráficos de control de media que visualizaron de forma rápida el comportamiento de la precisión y exactitud del ensayo.

La aplicación métodos estadísticos en forma de intervalos y gráficos de control, resultaron herramientas que permitieron una evaluación rápida de la calidad del ensayo realizado. El valor obtenido de la muestra control dentro de los intervalos establecidos en cada serie de trabajo, se empleó como criterio de aceptación del resultado del lote de producto analizado. El uso combinado de las diferentes actividades de buenas prácticas mencionadas, han sido citadas como imprescindibles para los laboratorios de ensayo (15). Un adecuado control interno de la calidad, es la base para participar con éxito en un programa de control externo.

REFERENCIAS

1. Escobar A, Ponce P. Obtención y evaluación de un diagnosticador químico para la determinación de la Mastitis. *Rev Salud Anim* Vol. 2001;23(2):97-101.
2. CECMED, Regulación16. Directrices sobre Buenas Prácticas de Fabricación de productos farmacéuticos 2006. Capítulo 12.
3. CECMED, Regulación37. Buenas Prácticas de Laboratorio para el Control de la Calidad. 2004.
4. ISO5725-2. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Part2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method 1994. p. 9-13.
5. NC.ISOGuía35. Certificación de Materiales de Referencia. Principios Generales y Estadísticos. 1998.
6. INCOTEC. Norma Colombiana 2123. Industria Farmacéutica y de cosmético. Tenso activos aniónicos alquil eter sulfatos y alquil sulfato para la fabricación de champu.1986.
7. USP23-NF18. U.S Pharmacopeia National Farmilary. Specific gravity 1995 [841]; pg: 1830].
8. CEMED, Regulación41. Validación de métodos analíticos. 2007.
9. NC.ISO8258. Gráficos de Control de Shewhart. 2002.
- 10.ISO5725-3. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. 1994.
- 11.Thielmann K. Principios de Metodología en Bioquímica Clínica: Editorial Organismos, Instituto Cubano del Libro; 1973.
- 12.Westgard JO, Barry P, Hunt M, Groth T. A multi-rule Shewhart chart for quality control in clinical chemistry. *Clinical Chemistry*. 1981;27(3):493.
- 13.Cailliat MC. Control de Calidad Interno en la Cuantificación de Hemoglobina. *Acta bioquím clín latinoam*. 2006;40(3).
- 14.Travieso M, Díaz E, Villoch A. Obtención de un candidato a material de referencia interno para el método de gazapos inmaduros. *Rev Salud Anim* 2006;28(2):79-84.
- 15.Betancourt A, Villoch A, Travieso M, Dávila N, Escobar A. Vínculo entre la validación, el control interno de la calidad y la determinación de la incertidumbre de los métodos analíticos en los laboratorios de ensayo de la rama Agropecuaria. *Rev Salud Anim* Vol. 2004;26(2):89-91.

(Recibido 27-8-2010; Aceptado 28-10-2010)