

21.10



**Universidad Nacional Autónoma de México**

**Facultad de Química**

**“EVALUACION DEL PRIMER PLASMA  
CONTROL MEXICANO DE QUIMICA  
CLINICA”.**

**T E S I S**

Que para obtener el título de:  
**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

**P r e s e n t a :**

**Lourdes Griselda Balderrama Encinas**

**México, D. F.**



**1967**

**EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## I N D I C E

	Pág.
<b>I</b> Introducción .....	1
<b>II</b> Generalidades .....	2
<b>II.1</b> Composición de los materiales de control .....	3-4
<b>II.2</b> Preparación y manejo .....	5-7
<b>II.3</b> Especificaciones .....	8-9
<b>II.4</b> Asignación de valores al material de control ..	10
<b>III</b> Objetivo .....	11
<b>IV</b> Material y Métodos .....	12-15
<b>V</b> Resultados .....	16-25
<b>VI</b> Discusión .....	26
<b>VII</b> Conclusiones .....	27
<b>VIII</b> Bibliografía .....	28-29

## I N T R O D U C C I O N

La finalidad del laboratorio químico clínico es proporcionar datos analíticos exactos y precisos que ayuden a los médicos al pronóstico, diagnóstico y seguimiento terapéutico de las enfermedades. Por todo esto es necesario que los resultados sean confiables.

La confiabilidad de los resultados puede explicarse en términos estadísticos de precisión (la capacidad de repetir los resultados en una misma muestra) y de exactitud (la proximidad de los resultados al valor verdadero), así como de especificidad (capacidad de medir solamente el analito que pretendemos medir) y sensibilidad (capacidad de medir el analito a las concentraciones habituales en el material biológico en que se va a medir).

## GENERALIDADES

Los materiales de control son usados para demostrar la confiabilidad de un proceso analítico, particularmente precisión y exactitud.

Las especificaciones de los materiales de control dependen del uso - que se les quiera dar, ya que deben ser útiles para los métodos analíticos que se emplean y para las muestras que se analizan. Pero lo que sí es esencial es que los materiales de control y las muestras - sean homogéneas y estables.

Cuando se busca establecer la precisión, no necesita conocerse la -- concentración del analito en control, pero para evaluar la exactitud se necesita que los valores de los materiales de control sean conoci dos; por otra parte sí se pueden valorar los cambios relativos de -- exactitud con muestras control que no tengan un valor asignado.

A continuación trataremos de resumir lo actualmente preconizado en lo que respecta a materiales de control: esta información fue tomada de una serie de seis documentos de la IFCC (1-6) basándonos -- principalmente en el documento número tres.

En la fabricación de los materiales de control se recomienda tomar en cuenta los siguientes puntos:

- A) Composición
- B) Preparación y manejo
- C) Especificaciones
- D) Asignación de valores.

#### A) COMPOSICION DEL MATERIAL DE CONTROL

Los materiales para las muestras control son preparados de substancias puras (solutos y disolventes) de composición conocida (ejemplo NaCl y agua destilada), de substancias parcialmente purificadas (ejemplo enzimas y proteínas), o de productos naturales (ejemplo suero bovino).

La matriz es el medio en el cual los analitos, como por ejemplo una solución pura de NaCl en agua está compuesta del analito  $Na^+$  y la matriz  $Cl^-$  y agua.

Los materiales de control son preparados comunmente por combinaciones o tratamientos especiales para obtener las concentraciones adecuadas - del analito en una matriz determinada. Un proceso analítico ideal debe ser insensible a los "efectos de matriz", ó sea a los efectos del medio en que se encuentran los analitos.

Los efectos de matriz surgen de interferencias no específicas en los métodos analíticos, como por ejemplo, hay un efecto de  $K^+$  que decrece la flama de emisión del calcio; un efecto de  $Na^+$  que acrecenta la flama de  $K^+$ ; un efecto de las proteínas en algunos procedimientos de bilirrubina; etc. En todos estos casos las interferencias pueden afectar tanto a los resultados de las muestras control como a las muestras de los pacientes.

Los efectos de matriz pueden ser de dos tipos: físicos y químicos.

Los efectos físicos son a menudo difíciles de reconocer, como por ejemplo, efectos debidos a la viscosidad y la tensión superficial del material de análisis; la nebulización en un espectrofotómetro de flama; - el plomo en soluciones acuosas puras que es atomizado en proporción diferente a como lo es en sangre total en un aparato de absorción atómica (de allí que los materiales de control deben ser preparados adicionando plomo inorgánico a una matriz de sangre); etc.

Los efectos químicos no son específicos: dan interferencias con el método analítico y son observados más frecuentemente que los físicos. Pueden ser endógenos (efectos de proteínas, hemoglobina, bilirrubina etc.), y exógenos (drogas, metabolitos y preservativos).

No se conoce la cuantificación de los efectos químicos que interfieren en la medición del analito que se encuentra en el plasma o suero.

Para superar los problemas de matriz se procura que la matriz del material control sea lo más similar a la matriz del suero problema, pero hay factores que impiden esta similitud, como pueden ser la liofilización, el almacenamiento a bajas temperaturas, el proceso de manufactura, la adición de preservativos, la gran variedad de componentes proteínicos interespecies, las diferencias en las estructuras moleculares de las diferentes especies, etc. Consecuentemente nunca puede descartarse un efecto de matriz en el material control.

## B) PREPARACION Y MANEJO DEL MATERIAL DE CONTROL

Los plasmas y los sueros humanos (material de base) pueden ser obtenidos de sangre total o por plasmaféresis de donadores seleccionados, pero por razones éticas deben ser usados en casos especiales, ya que se recomienda emplear como material de base preferentemente sueros de animales, pero al gunas veces se pueden emplear los excedentes de sueros del laboratorio - siempre y cuando no contengan alguna contaminación microbiana. )

Los plasmas y los sueros de animales, u otros flúidos biológicos, que son usados como materiales de base, casi siempre deben ser modificados "in vi vo", con tratamiento de acuerdo a la especie del animal, como por ejemplo: adiciones de colesterol y triglicéridos, eliminación de drogas, etc.

A continuación exponemos algunos puntos que deben ser considerados en el manejo y preparación de los materiales de control:

1. Se deben tomar precauciones de seguridad con los donadores y el manejo de plasmas y sueros tanto humanos como equinos, ya que pueden tener el virus de la hepatitis, paludismo, sífilis, brucelosis u otros agentes infecciosos, así como drogas (antihistamínicos, aspirinas, - etc.).
2. El material de base de los excedentes de laboratorio debe ser almacenado a menos 20°C o menos durante el período de la recolección y hasta que se requiera para su uso como suero control. Las existencias - del material de base animal y humano se deben almacenar en las mismas condiciones.
3. Es necesario realizar mediciones preliminares de las concentraciones de analitos en el material de base para decidir si se requiere alguna modificación específica.
4. Las muestras individuales del material de base pueden ser seleccionadas dentro de grupos y recolectadas de acuerdo a sus resultados analíticos, por ejemplo valores altos y bajos de colesterol.



5. Los materiales de base deben ser modificados "in vivo" por varios procedimientos: algunos de ellos nos permiten obtener analitos específicos dejando pasar a otros no específicos, por ejemplo, el tratamiento por filtración de membrana selectiva, con la cual se obtienen las concentraciones deseadas de algún analito específico, dejando pasar los analitos no deseados; otro tratamiento es la utilización de enzimas que destruyan al analito específico no deseado.
6. Los materiales de base líquidos son más combinables ya que se pueden modificar fácilmente por otros fluidos, y es posible adicionar algunos materiales sólidos. Algunos de los analitos sólidos que se agregan producen temporalmente depósitos de altas concentraciones que modifican o destruyen a otros componentes: estas dificultades son minimizadas agitando la solución a medida que se van haciendo las adiciones.

La adición de detergentes ayuda a la dispersión de materiales, como por ejemplo, los lípidos en una matriz biológica; debe evaluar se el efecto potencial de interferencia de estos aditivos en el proceso analítico que se va a usar.

7. Los factores de coagulación son los que más afectan la preparación del material de control; causen problemas los sueros y los plasmas coagulados incompletamente y las marcias de sueros y plasmas, cuales desarrollan grumos o coágulos algunas horas después del procesamiento final.

Cuando el material de control es almacenado en un frasco, generalmente no hay dificultad para mantenerlo estéril y libre de contaminación ambiental; pero cuando el material de control es dividido en volúmenes múltiples con alícuotas pequeñas de muestras, la homogeneidad de las alícuotas y el mantenimiento de la esterilización y de la no contaminación ambiental son mucho más difíciles de lograr. Las pruebas de esterilidad en el producto final líquido son fáciles de llevar a cabo, exponiendo un número de muestras a temperatura ambiente por unos días o semanas. El desarrollo de turbidez es

un indicador de contaminación microbiana, como también lo es una disminución en el contenido total de la glucosa.

La contaminación ambiental química sólo puede ser determinada - por análisis, como parte de un control de calidad durante la manufactura del material de control.

La liofilización aumenta la estabilidad de los constituyentes - del material de control si las muestras producidas son almacenadas a baja temperatura (4°C).

Para la obtención de una variabilidad mínima en las muestras liofilizadas, se deben controlar cuidadosamente las condiciones de liofilización, es decir, obtener un material sólido con bajos residuos de humedad y una consistencia física que permita su fácil reconstitución.

Normalmente se usa agua para reconstituir el material liofilizado pero algunos fabricantes proveen soluciones especiales para - tal efecto. En este caso debe seguirse el procedimiento de reconstitución recomendado por el fabricante.

Para algunos analitos es necesario un período de tiempo en reposo después de la reconstitución, por lo menos quince minutos antes de iniciar la medición (v.gr., Ca, Mg y ciertas enzimas).

### C) ESPECIFICACIONES

Las especificaciones de los materiales de control dependen de su aplicación y del tipo y concentración de analitos presentes en la muestra control.

Muchos métodos de rutina no son lo suficientemente precisos para detectar la variabilidad en las muestras control, por lo cual es necesario hacer un cuidadoso estudio de la variabilidad del peso del material liofilizado; tomando de 10 a 20 frascos, calculando su media y su coeficiente de variación. El resultado deberá contener la variación. El resultado deberá contener la variación tanto del material sólido liofilizado como de la humedad residual presente.

La variación del llenado y de la reconstitución no debe exceder a  $\pm 0.5\%$  de la media (en 95% o más de los frascos), correspondiendo a un coeficiente de variación (C.V.) de 0.25% (5). Cuando la variación de la muestra tiene estos límites, no hay efectos significativos sobre la precisión analítica de la mayoría de los métodos, pero cuando usamos material liofilizado es necesario tener mucho cuidado en la calidad y cantidad de líquido con el que se va a reconstituir. Pueden ocurrir errores debido a las variaciones en la cantidad del líquido usado en la reconstitución del material liofilizado y también variaciones en la cantidad de material de cada frasco. Estos errores pueden ser minimizados de la siguiente manera, por la reconstitución de varios frascos, contenido de pozales\*, almacenamiento de alícuotas bajo condiciones que aseguren su estabilidad.

Puede haber variabilidad del material control debido a la inestabilidad de las muestras control y a la turbidez del material liofilizado.

La estabilidad de las muestras control nos ayudan a determinar la capacidad del sistema control en el laboratorio detectando con el tiempo cambios en las diferentes muestras. También la estabilidad nos expresa la vida de cada analito del material liofilizado bajo las condiciones de almacenamiento adecuadas, evitándose así la contaminación -

\* Mezcla de diferentes plasmas (16).

microbiana y la turbidez; factores importantes en la variabilidad de los procesos analíticos. La vida media del material liofilizado va a depender de su aplicación (uso) y del grado de estabilidad de los análitos en la muestra control.

#### D) ASIGNACION DE VALORES

La asignación de valores al material de control depende del valor asignado de un estandar primario, de la precisión y exactitud del método utilizado para dar dicho valor. Algunos materiales de control con matrices biológicas complejas son preparados por adición del analito. En estos casos la incertidumbre del valor asignado puede aumentar por tres causas:

- a) El error en la pesada del analito.
- b) El volumen de medición del líquido de la matriz.
- c) El procedimiento del análisis de la matriz.

#### INCERTIDUMBRE DEL VALOR ASIGNADO

La incertidumbre del valor determinado por análisis debe calcularse por un protocolo estadístico apropiado. Las últimas dos recomendaciones publicadas (13,14) explican varios análisis de varios laboratorios independientes, con replicación de sus muestras, lo cual reduce el intervalo de confianza del valor final. El problema no es nada fácil ni trivial. La variación entre varios laboratorios se ve afectada tanto por la variabilidad al azar, como por la variabilidad sistemática. La variabilidad sistemática puede ocurrir entre métodos, entre laboratorios aplicando el mismo método y entre algunos laboratorios en diferentes tiempos.

La definición de un protocolo efectivo para asignar valores a los productos bajo estas circunstancias es estadísticamente difícil y un desafío operacional. Así que un intervalo de confianza deseable depende del estandar de calibración y del propósito para el cual el método analítico va a ser usado.

## OBJETIVOS

El objetivo de nuestro trabajo es la evaluación del plasma humano para su posible uso como un plasma control en química clínica.

Para la evaluación de nuestro plasma nos abocamos a los siguientes puntos:

- 1) Precisión de llenado de frascos. Evaluamos en este punto la variabilidad del material presente en frascos de un mismo lote.
- 2) Humedad remanente. Evaluamos la humedad residual a base de desecar el material a 60°C hasta peso constante.
- 3) Características de disolución del material liofilizado. En este punto observamos macroscópicamente la presencia del material insoluble en frascos reconstituidos.
- 4) Concentraciones de analitos. En este punto se hicieron mediciones de glucosa, urea, Na, K, y Cl.

## MATERIAL Y METODOS

En los meses de enero y febrero de 1964 se prepararon, en el Instituto Nacional de Higiene, 16 lotes de plasmas liofilizados a partir de dos - plasmas los cuales se codificaron de la siguiente manera:

<u>Código</u>	<u>Plasmas</u>	<u>No. de Lotes</u>	<u>Mes de preparación</u>
1H	Humano	8	Enero
2H	Humano	8	Febrero

Los 8 lotes de cada plasma llevaban diferentes proporciones de estabilizadores, por lo que se codificaron con una letra mayúscula adicional para identificar a los estabilizadores usados en el proceso de liofilización.

<u>Código adicional</u>	<u>Glicina g/dl*</u>	<u>Sacarosa g/dl*</u>
A	0	0
B	10	0
C	20	0
D	30	0
E	0	10
K	20	20
L	30	40
P	30	60

\* Concentración final.

Consecuentemente los 16 lotes eran: 1H-A, 1H-B, 1H-C, 1H-D, 1H-E, 1H-K, 1H-L, 1H-P, para el primer suero, y 2H-I, 2H-B, 2H-C, 2H-D, 2H-E, 2H-K, 2H-L, y 2H-P, para el segundo suero.

Los 8 lotes codificados como 1H fueron liofilizados en 24 horas y no se les agregó conservador. El segundo proceso de liofilización se realizó con los lotes de los plasmas codificados como 2H en el curso de 48 horas y a todos se les agregó asida de sodio como conservador a una concentración final de 0.01%.

Se prepararon 80 frascos de cada lote dando un total de 1 280 frascos (16 lotes por 80 frascos), de los cuales 40 frascos de cada lote fueron entregados al Departamento de Control de Calidad del INNSZ (Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán") para la evaluación de los siguientes aspectos:

- 1.- Cantidad de material presente en frascos de un mismo lote.
- 2.- Humedad remanente en frascos.
- 3.- Solubilización del material liofilizado.
- 4.- Concentración de analitos en los lotes.

- 1.- Cantidad de material presente en frascos de un mismo lote.

Se procedió a la evaluación del contenido del material presente con cada frasco de plasma liofilizado de la siguiente manera:

- a) Cada frasco con material era pesado por triplicado y obteniase un peso inicial promedio (se utilizaron pinzas para el manejo de los frascos y evitar así alterar el peso de los frascos por impurezas en las manos).
- b) Posteriormente los frascos eran lavados hasta eliminar todo residuo de material en frascos y taponas.
- c) Los frascos lavados se colocaban boca abajo sobre toallas absorbentes, de 15 a 20 minutos a temperatura ambiente, y a continuación se secaban en el horno durante 1 hora a 60°C. Posteriormente se dejaban enfriar los frascos y taponas a temperatura ambiente.
- d) Se pesaban nuevamente por triplicado cada uno de los frascos sin material, y se obtenía el peso final promedio.
- e) Se obtenía el peso de material por diferencia entre el promedio de pesadas de los pasos a y d.

A lo largo de todo este estudio se incluyó un mismo frasco en todas las sesiones de pesadas como control de la balanza: este control era un frasco vacío similar al que contenía el material y que se pesaba al inicio y al final de cada sesión. Los datos se corregían en función del cambio observado en el control (habitualmente de 0 a 0.5 mg por sesión). Se utilizó una balanza analítica (Sartorius) mod. Digital 2400.



2.- Humedad remanente presente en frascos con el material liofilizado. Para la evaluación de la humedad remanente, se tomaron 8 lotes codificados como 1H-A al 1H-F y se procedió de la siguiente manera:

- a) Se tomó un frasco de cada lote, se pesaron por triplicado y se colocaron destapados en el horno durante 2 horas a una temperatura de 60°C.
- b) Posteriormente se colocaron en el desecador para que se enfriaran sin absorber humedad del ambiente.
- c) Se pesaban nuevamente los frascos por triplicado procurando que no permanecieran mucho tiempo fuera del desecador para que no absorbieran humedad del ambiente en el momento de pesar.

3.- Solubilización del material liofilizado.

- a) A cada frasco con el material liofilizado se le agregaban 5 ml de agua bidestilada, se dejaba reposar el frasco por 10 minutos\*, y se agitaba durante un minuto cuidadosamente para que no formara espuma (este era el tiempo cero).
- b) La solubilidad del material fue examinado macroscópicamente a los 5 minutos después del tiempo cero.
- c) La presencia del material insoluble se daba en cruces:

- buena disolución.
- + poco material insoluble.
- ++ regular cantidad de material insoluble.
- +++ mucha cantidad de material insoluble.

\* Esta es una recomendación de la OMS para que el agua, al penetrar por capilaridad en el material liofilizado, logre una mejor disolución del material.

4.- Concentración de los analitos en el plasma liofilizado.

- a) Cada uno de los frascos con el material liofilizado se reconstituyó con 5 ml de agua destilada (se utilizó una pipeta volumétrica de 5 ml).
- b) Utilizando sólo los plasmas que no presentaron problemas de solubilización, se hicieron 2 posales: 1H (conteniendo alícuotas de 1H-A a 1H-P) y 2H (conteniendo alícuotas de 2H-A a 2H-P). Los dos posales se repartieron en alícuotas que se congelaron hasta el momento de hacer las mediciones.
- c) Las mediciones que se realizaron fueron las siguientes: glucosa, urea, Na, K y Cl. Las mediciones de glucosa y urea se hicieron por los métodos de Nelson-Somogy y de la diacetilmonoxima, respectivamente; las mediciones de Na y K se hicieron con un aparato de flourometría IL-446 (automatizado) y el de Cl con el método Shales & Shales en un aparato Beckman (automatizado)\*

METODOLOGIA ESTADISTICA

Se utilizaron métodos estadísticos paramétricos de tipo descriptivo (media, desviación estándar y coeficiente de variación), así como - de tipo inferencial (pruebas de diferencia de medias).

\* Se agradece la colaboración del Lab. de Urgencias para las medidas de glucosa y urea y del Depto. de Nefrología para Na, K y Cl.

## RESULTADOS

1. Cantidad del material liofilizado presente en los frascos de un mismo lote:

Las pesadas en miligramos del material liofilizado de los 16 lotes prototipo se exponen en la tabla No. 1; Se dan las medias de las pesadas por triplicado de cada uno de los 9 a 12 frascos de cada lote. En la tabla se presentan ordenados de menor a mayor peso de material.

Con los datos de la tabla 1, se calculó la media global  $\bar{X}$  (en miligramos) la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV), de cada lote los cuales se presentan en la tabla No. 2.

Con los datos de la tabla No. 2 clasificamos a los lotes en tres grupos en base a la magnitud del coeficiente de variación, tal como se muestra en la tabla No. 3: allí se puede observar que solamente hubo 2 lotes de grupo A esto es, con un coeficiente de variación - abajo de 1% lo cual indica una calidad de llenado de frascos suficientes para ser usados en un programa de control de calidad.

El aumento del coeficiente de variación en los demás lotes obedeció a que hubo subconjuntos de frascos dentro de los lotes que diferían en la cantidad de material, tal como se puede observar en las tablas No. 4 y 5. En la tabla No. 4 hacemos un desglose de los lotes del grupo B, presentando la participación de subconjuntos de los diferentes lotes ordenados de menor a mayor coeficiente de variación: el error de llenado es de 3 a 7%. En los lotes del grupo C, tabla No. 5, podemos observar que hay un error de llenado que va del 6 al 13%.

2. Humedad remanente presente en los frascos con el material liofilizado.

Los resultados obtenidos de la humedad remanente en los 8 frascos de los lotes INA a IMP se exponen en la tabla No. 6 en la que se incluyen los promedios de las pesadas por triplicado de cada --

frasco con el material liofilizado antes del secado, a las 2 y 26 horas de secado.

En la tabla No. 7 exponemos las diferencias en miligramos antes de meterlos al horno, a las 2 horas y a las 26 horas.

Se observó que la diferencia a las 2 horas de horneado, fue de 0.2 a -1 miligramos; y la diferencia global fue de 0.6 miligramos, a las 26 horas fue de -0.9 a -2.2, y la diferencia global fue de 1.5 miligramos.

### 3. Tiempo de solubilización del material liofilizado.

En la interpretación macroscópica de la solubilización de los 16 lotes observamos que la disolución se lograba a los 15 minutos, sin la presencia de material insoluble.

### 4. Concentración de los analitos en el plasma liofilizado.

Se hicieron 4 mediciones para glucosa y urea teniendo como resultados de 300 mg/dl y 34 mg/dl respectivamente.

Para las mediciones de Na, K y Cl fueron: 154 meq/l para el Na, 4.2 meq/l, para el K y 70 meq/l para el Cl.

En el momento de realizarse el estudio observamos la presencia de material insoluble a la semana de estar en congelación por lo que suspendimos las entregas a los laboratorios para la asignación de valores del plasma control.

**TABLA No. 1**

**MATERIAL LIOFILIZADO (mg) PRESENTE EN 9-12 FRASCOS DE LOS 16  
 LOTES PROTOTIPO.**

1A	1B	1C	1D	1E	1K	1L	1P
434	482	515	506	427	564	626	635
437	482	517	537	429	573	626	654
439	484	534	550	434	580	626	655
440	485	438	552	434	582	629	656
441	485	539	553	434	584	630	657
441	485	540	553	435	584	633	660
443	485	542	557	435	586	633	661
444	485	542	561	436	587	633	661
477	485	544	568	441	588	635	661
	486	552	569	444	588	641	661
			581		588		662
					593		664
2A	2B	2C	2D	2E	2K	2L	2P
431	467	514	583	444	567	606	632
431	478	527	583	445	576	610	634
437	479	533	584	450	581	613	645
438	479	534	596	451	581	617	646
439	484	534	598	453	585	646	667
440	486	546	599	467	587	648	673
441	486	547	599	472	588	650	680
441	486	548	600	472	594	655	680
445	486	548	602	475	598	655	681
449	485	550	603	478	599	655	682
	517	551	603		600		

**TABLA No. 2**

**MEDIA GLOBAL, DESVIACION ESTANDAR Y COEFICIENTE DE VARIACION  
DEL MATERIAL LIOFILIZADO EN LOS 16 LOTES EVALUADOS.**

<b>LOTE</b>	<b>N</b>	<b><math>\bar{X}</math> OBSERVADA</b>	<b>D.E.</b>	<b>C. V.</b>
1A	9	444	12.07	3.0
1B	10	484	1.35	0.3
1C	10	536	11.75	2.2
1D	11	553	19.25	3.5
1E	10	435	5.00	1.1
1K	12	583	7.81	1.3
1L	10	631	4.84	0.8
1P	12	657	7.65	1.2
2A	10	439	5.69	1.3
2B	11	485	12.14	2.5
2C	11	539	11.73	2.2
2D	11	595	7.09	1.3
2E	10	461	13.11	2.8
2K	11	587	10.11	1.7
2L	10	636	21.18	3.3
2P	10	664	19.83	3.0

**TABLA No. 3**

**CLASIFICACION DE LOS LOTES EN TRES GRUPOS DE ACUERDO A SU PRECISION DE LLENADO.**

<b>GRUPO</b>	<b>C.V.</b>	<b>LOTES 1H</b>	<b>LOTES 2H</b>	<b>TOTAL</b>
<b>A</b>	<b>0.4-0.8</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>2/16</b>
<b>B</b>	<b>1.1-1.8</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>6/16</b>
<b>C</b>	<b>2.2-3.5</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>8/16</b>

**TABLA No. 4**

**DIFERENCIAS INTRALOTES: EN LOS 6 LOTES DEL GRUPO B.**

LOTE	CV GLOBAL	N	MEDIA GLOBAL	CV GRUPAL
1E	1.1	2	428	0.3
		6	435	0.2
		2	443	0.5
1P	1.2	1	635	---
		4	656	0.2
		7	661	0.2
1K	1.3	1	564	---
		1	573	---
		4	582	0.4
		5	588	0.2
		1	593	---
2A	1.3	2	431	0.1
		7	440	0.6
		1	449	---
2D	1.3	3	583	0.9
		5	598	0.3
		3	603	0.1
2K	1.7	1	567	---
		3	579	0.6
		3	587	0.2
		4	598	0.5

**N= número de frascos.**



TABLA No. 5

DIFERENCIA INTRALOTE: EN LOS 8 LOTES DE GRUPO C.

LOTE	CV GLOBAL	N	MEDIA GLOBAL	CV GRUPAL
1C	2.2	2	516	0.3
		4	548	0.5
		3	543	0.2
		1	552	---
2C	2.2	1	514	---
		1	527	---
		3	533	0.2
		6	548	0.3
2D	2.2	1	467	---
		3	479	0.1
		6	486	0.2
		1	517	---
2E	2.8	2	445	0.2
		3	451	0.3
		3	470	0.6
		2	476	0.3
1A	3.0	2	436	0.5
		6	441	0.4
		1	477	---
2F	3.0	2	632	0.1
		1	645	---
		2	667	0.2
		1	673	---
2L	3.3	4	681	0.1
		1	606	---
		3	613	0.5
		3	648	0.3
1D	3.5	3	655	0.2
		1	508	---
		1	537	---
		4	551	0.3
		2	559	0.5
		2	569	0.1
		1	581	---

TABLA No. 5

PROMEDIO DE LAS PESADAS DE LOS FRASCOS ANTES DEL SECADO, A LAS 2 y 26 HRS. DE SECADO.

LOTE	$\bar{x}_1$ (ANTES DEL SECADO)	$\bar{x}_2$ (CON 2 HORAS DE SECADO)	$\bar{x}_3$ (CON 26 HORAS DE SECADO)
IA	22.2292	22.2282	22.2270
B	22.4097	22.4088	22.4081
C	22.2296	22.2279	22.2271
D	22.6700	22.6698	22.6691
E	22.3773	22.3764	22.3755
K	22.7418	22.7413	22.7400
L	22.5347	22.5346	22.5338
P	22.8406	22.8400	22.8396

TABLA No. 7

DIFERENCIAS EN MILIGRAMOS DESPUES DE CADA SECADO.

LOTE	2 HORAS		26 HORAS	
	$\bar{X}$	- $\bar{X}$	$\bar{X}$	- $\bar{X}$
1A		-1.0		-2.2
B		-0.9		-1.6
C		-0.7		-1.5
D		-0.2		-0.9
E		-0.9		-1.8
K		-0.5		-1.8
L		-0.2		-0.9
P		-0.6		-1.1

Global

Bajó 0.6 mg

Bajó 1.5 mg

TABLA No. 8

TIEMPO DE SOLUBILIZACION

LOTE	N	TIEMPO DE SOLUBILIZACION	PRESENCIA DE MATERIAL INSOLUBLE
1A	5	15 Min.	-
"B	"	15 Min.	-
"C	"	15 "	-
"D	"	15 "	-
"E	"	15 "	-
"K	"	15 "	-
"L	"	15 "	-
"P	"	15 "	-
2A	"	15 "	-
"B	"	15 "	-
"C	"	15 "	-
"D	"	16 "	-
"E	"	15 "	-
"K	"	15 "	-
"L	"	15 "	-
"P	"	15 "	-

N= no. de Frascos.

## DISCUSION

Se realizó un convenio de trabajo entre el Instituto Nacional de Higiene (INH) y el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ) para la evaluación del primer plasma control; siendo responsable el INH de las condiciones, los aditivos y preservativos empleados en la producción del material de control liofilizado, y el INN, responsable del control de calidad de dicho material.

Nuestro estudio se realizó con 16 lotes de plasma humano liofilizado proporcionado por el INH, los cuales se codificaron 1H y 2H. Estos lotes fueron enviados al departamento de Control de Calidad del INNSZ.

Uno de los aspectos más importantes en la evaluación de un plasma control es la cantidad de material liofilizado depositado en cada frasco, aceptándose un coeficiente de variación de 0.25X (5).

Hubo sólo 2 lotes con CV abajo de 1X y de los 14 lotes restantes, 6 tienen un CV de 1.1 a 1.7 y 8 lotes con un CV de 1.8 a 3.5.

Otro de los aspectos para la evaluación de un plasma control fue la presencia de la humedad residual presente en cada uno de los frascos.

Las diferencias de peso en los frascos con el material liofilizado antes y después del secado se observó, que a las 2 y 26 horas presentaban los frascos disminuciones de peso muy pequeñas del orden de 1.5 miligramos; por lo que prácticamente no contribuye la humedad remanente a la variabilidad en el llenado de frascos.

En la solubilidad del material estudiado se observó que la disolución se lograba a los 15 minutos, no presentando mayor problema.

De las mediciones realizadas en los pozales encontramos que la glucosa y el Na tenían valores muy altos; esto se debe a que en la obtención del plasma se utiliza ACD como anticoagulante, el cual contiene dextrosa y citrato de sodio. Para la urea y potasio los valores fueron normales; para los cloruros los valores fueron bajos, debido a que la concentración de los cloruros probablemente disminuye cuando se le agrega el anticoagulante al paquete de sangre para así formar el plasma.

## CONCLUSIONES

- 1.- De los 16 lotes evaluados se deduce que el sistema de llenado de frascos no cuenta con buena precisión por lo cual se recomienda que dicho sistema de llenado sea mejorado o cambiado.
- 2.- Se observó que el sistema de liofilización es aceptable, ya que se obtiene remanentes de humedad en décimas y centésimas de miligramo.
- 3.- Este material liofilizado presentó muy buena solubilización en el momento de su reconstitución tanto de los plasmas 1H como los 2H.
- 4.- Para lograr un control adecuado es necesario que en la próxima producción de los controles sea utilizado preferentemente suero en vez de plasma y así evitamos aumentos en las concentraciones de los analitos a estudiar en un suero control para Química Clínica.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Buttner J., Borth R., Boutwell J.H. & Broughton P.M.G.:  
Approved recommendation quality control in clinical chemistry.  
Part 1. General principles and terminology.  
Clin Chim Acta 98: 129F-143F (1979).
- 2.- Buttner J., Borth R., Boutwell J.H. & Broughton P.M.G.:  
Approved recommendation on quality control in clinical chemistry.  
Part 2. Assessment of analytical methods for routine use Clin Chim  
Acta 98: 145F-162F (1979).
- 3.- Buttner J., Borth R., Broughton P.M.G. & Bowyer R.C.:  
Provisional recommendation on quality control in clinical chemis-  
try.  
Part 3. Calibration and control materials. Clin Chim Acta 102:  
115F-124F (1977).
- 4.- Buttner J., Borth R., Broughton P.M.G. & Bowyer R.C.:  
Quality Control in clinical chemistry.  
Part 4. Internal quality control in clinical chemistry. Clin Chim  
Acta 106: 109F-120F (1980).
- 5.- Buttner J., Borth R., Broughton P.M.G. & Bowyer R.C.:  
Quality Control in clinical chemistry.  
Part 5. External quality control. Clin Chim Acta 106:  
191F-202F. (1980).
- 6.- Buttner J., Borth R., Boutwell J.H., Broughton P.M.G. & Bowyer -  
R.C.:  
Approved recommendation on quality control in clinical chemistry.  
Part 6. Quality requirements from the point of view of health ca  
re. Clin Chim Acta 102: 115F-124F (1986).

- 7.- Bowers G.N., Burnett, R. W. and Mc Comb, R.B.:  
Selected Method: Preparation and use of Human Serum Control  
Materials for monitoring precision in clinical chemistry  
Clin Chem 21, 1830-1836 (1975).
- 8.- Hollender, A. : Simple Method for concentrating serum by freezing  
and thawing. Second I  
Clin Lab Invest 25, 63-64 (1970).
- 9.- Daniel Wayne W. : Bioestadística. Base para el Análisis de las -  
ciencias de la Salud, Ed. Limusa, México, 11-30 (1983).
- 10.- Clark P.M.S. Kricka LJ, Alfred R.Z., Thomas P. Whitehead, Bullock  
D.F.: Characterization of the protein matrix of quality control  
sera by a high resolution two-dimensional electrophoresis Techni-  
que. Clin Chim Acta 103: 219-228 (1980).
- 11.- Bowers, G.N., Burnett, R.W, and Robert B. Mc Comb, R.B.:  
Clinical Preparation and use of human serum control materials.  
No. 12, 1830-1836 (1975).
- 12.- Berry, R.E.: Frozen resus lyophilized serum in the quality con-  
trol of clinical chemistry. Am J. of clinical pathology. 50 -  
No. 6 (1968).
- 13.- NCCLS: Standard for Calibration Reference and Control Materials  
in Clinical Chemistry National committee for clinical Laboratory  
Standards, (1974).
- 14.- Stamm, D : Calibration an quality control materials.  
draft 2. Klin Chem. Klin Biochem. 12, 137-145, (1974).
- 15.- Leassing, R.H. & Pakey, T.A. : Critical evaluation of the effecti-  
venness of commercial quality control data analogies Programs -  
for clinical chemistry.  
Clin Chem 21, 962, (1975) (abstract).



16.- Hainline JR, A : Garantía de Calidad: Aspectos teóricos y -  
prácticos. En: E. Zavala de Serratos & C Pérez Moreno (eds).  
Métodos Selectos para el Peq Laboratorio de Química Clínica.  
Asoc. Mex. Bioq. Clín., Méx. 1984 p 16