



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

"ELEMENTOS INTEGRANTES DE CONTROL DE CALIDAD
DIRIGIDOS AL MEJORAMIENTO DE CALIDAD DEL
LABORATORIO DE ANALISIS CLINICOS APLICADOS AL
AREA DE QUIMICA SANGUINEA".

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :
ROSALIA ARTEAGA DIAZ

ASESOR: O.F.B. IDALIA AVILA MIYAZAWA

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. MEX.

2000

279597



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de

Exámenes Profesionales
ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

" Elementos integrantes de Control de Calidad dirigidos al mejoramiento
de calidad del laboratorio de Análisis Clínicos, aplicados al área de
Química Sanguínea "

que presenta la pasante: Arteaga Díaz Rosalía
con número de cuenta: 8403392-9 para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO

ATENTAMENTE.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 22 de Octubre de 1999.

PRESIDENTE

Q.F.B. Ramón Cendejas Ramírez

VOCAL

Q.F.B. Idalia Avila Miyazawa

SECRETARIO

DRA. Raquel López Arellano

PRIMER SUPLENTE

Q.F.B. René Damián Santos

SEGUNDO SUPLENTE

Q.F.B. Marthá P. Campos Peón

**ELEMENTOS INTEGRANTES DEL CONTROL
DE CALIDAD DIRIGIDOS AL MEJORAMIENTO
DE CALIDAD DEL LABORATORIO DE
ANÁLISIS CLÍNICOS, APLICADOS AL ÁREA
DE QUÍMICA SANGUÍNEA**

AGRADECIMIENTOS

A Dios:

Que estuvo conmigo siempre, quitando todo obstáculo que pudiera detenerme.

A mis Padres.

Emilio, gracias por darme los valores que me hicieron la persona que soy. La vida no quiso que vieras mi logro, pero se que donde estés te enorgulleces por ello

Yolanda, gracias por dedicarme tus cuidados, desvelos, cariños, por darme tus consejos y regaños. Ojalá yo pudiera tener tu fuerza de espíritu para sobrellevar tan bien los golpes que la vida nos va dando.

A mis hermanos:

Maru, Emilio y Yola, gracias por el cariño y apoyo que siempre tengo de ustedes y que me reconfortan cuando necesito volver a la familia que somos.

A mi Esposo e Hija:

Oscar, gracias por aquel día que no dejaste que abandonara el camino que hoy me ha traído hasta aquí; aún no sabía que íbamos a estar juntos, pero desde entonces eres como el motor que siempre está impulsándome a seguir. No puedo expresar en este espacio tan corto tanta felicidad que siento de volver a estar juntos otra vez.

Adis, eres el ser que me ilumina todos los días; a pesar de corta edad, tus palabras llenas de madurez y tu cariño son mi mejor recompensa. Tengo que agradecer a la vida por el mejor regalo que jamás recibí: Tú.

A la Familia Morfín Álvarez:

Al Sr. Narciso Morfín, la Sra. Elvira Álvarez y sus hijos Norma, Adrián y Enka, que me recibieron en su casa y me dieron el apoyo para seguir estudiando, mil gracias.

A la profesora Idalia Ávila:

Por su gran disposición, paciencia y excelente guía para que yo pudiera realizar mi sueño.

A mis amigos:

Mónica, Saúl, Salud, Dinorah y Lilia, gracias por todas las vivencias, enseñanzas, momentos gratos y los no tan gratos, porque su amistad me hizo sentir que tenía otra familia en la casa que fue nuestra escuela.

ÍNDICE

	Hoja
RESUMEN	1
OBJETIVOS.....	5
I. INTRODUCCIÓN.....	6
1.1 CALIDAD EN EL LABORATORIO CLÍNICO.....	7
1.1.1. Control de Calidad	7
1.1.2. Control de Calidad Interno.....	8
1.1.3. Control de Calidad Externo.....	9
1.1.4. Garantía de Calidad.....	10
1.1.5. Ciencia del Manejo de la Calidad	10
1.1.6. Sistema de Calidad	12
1.2 RECONOCIMIENTOS DEL LABORATORIO	15
1.2.1. Certificación	15
1.2.2. Acreditación	17
1.3 NORMATIVIDAD	1.20
II. FASE PREANALÍTICA.....	25
2.1. TOMA DE MUESTRA	25
2.1.1 Área de toma de muestra.....	25
2.1.2 Equipo y material.....	26
2.1.3. Identificación del paciente.....	26
2.1.4. Identificación de la muestra y forma de solicitud.....	27
2.1.5. Punción Venosa.....	27
2.1.6. Punción cutánea.....	28
2.1.7. Precauciones especiales para evitar efectos sobre los resultados de las cantidades analíticas.....	30
2.1.8. Manejo general de muestras.....	31
2.1.9. Manipulación y procesamiento de muestras de sangre.....	32
2.1.10. Factores de Interferencia.....	34

2.2 EQUIPO.....	37
2.2.1. Termómetros de líquidos en vidrio.....	37
2.2.2. Neveras.....	39
2.2.3. Congeladores	39
2.2.4. Baños de Incubación	40
2.2.5. Bloques de Calefacción.....	40
2.2.6. Centrifugas	41
2.2.7. Balanzas Analíticas	42
2.2.8. Rotadores y agitadores.....	43
2.2.9. Material de vidrio.....	43
2.2.10 Lavado de material de vidrio.....	44
2.3. INSTRUMENTACIÓN.....	45
2.3.1. Espectrofotómetros.....	45
2.3.2. Espectrometría de Absorción Atómica (aa)	49
2.3.3. Fotometría de emisión	49
2.3.4. Fluorómetros.....	49
2.4. REACTIVOS.....	52
2.4.1. Etiquetas	53
2.4.2. Información adicional.....	54
2.4.3. Programación y abastecimiento.....	57
III. FASE ANALÍTICA.....	58
3.1 EVALUACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO	58
3.1.1. Herramientas Estadísticas.....	59
3.1.2. Características del desempeño analítico.....	61
3.2. CONTROL DE CALIDAD ANALÍTICO.....	67
3.3 FUENTES DE VARIACIÓN ANALÍTICAS	74
3.4 CÁLCULO DE RESULTADOS	75
IV. FASE POSTANALÍTICA	76
4.1. REPORTE.....	76
4.1.1. Relación entre la solicitud y el reporte	76
4.1.2. Requerimientos generales	77

4.1.3	Indicación de anomalía	77
4.1.4	Interferencias de medicamentos	78
4.1.5	Condiciones del examen	78
4.1.6	Límites de confianza analítica	78
4.1.7	Interpretación de los resultados	78
4.1.8	Fuma	79
4.1.9	Acción urgente	79
4.1.10	Entrega de resultados	80
4.1.11	Retrasos	80
4.2	INTERVALOS DE REFERENCIA	80
4.3	ARCHIVO Y RECUPERACIÓN DE DATOS	81
4.4	CONFIDENCIALIDAD	81
CONCLUSIÓN		82
APÉNDICE 1		
MANUAL DE CALIDAD		84
APÉNDICE 2		
INTERFERENCIAS ANALÍTICAS		102
APÉNDICE 3		
VALORES DE REFERENCIA		115
APÉNDICE 4		
GLOSARIO		128
BIBLIOGRAFÍA		134

ABREVIATURAS

CC Control de Calidad

CCE Control de Calidad Externo

CCI Control de Calidad Interno.

CV Coeficiente de variación.

EA Error Aleatorio.

ECCLS Comunidad Europea de Estandarización Clínica y del Laboratorio.

EMT Error máximo tolerable

EN Estándar Europeo.

ES Error sistemático.

ET Error total.

IEC Comisión Internacional Electrotécnica

IFCC Federación Internacional de Química Clínica

ISO Organización Internacional de Estandarización

IUPAC Unión Internacional de Química Pura y Aplicada

GC Garantía de Calidad

MC Mejoramiento de Calidad

OMS. Organización Mundial de la Salud

PC Planeación de Calidad

PCL Prácticas de Calidad del laboratorio

RESUMEN

El servicio que ofrece el Laboratorio de Química Clínica es de gran ayuda para el Sector Salud, porque gracias a las mediciones de metabolitos y otras sustancias en sangre que se llevan a cabo en él, se han podido entender, prevenir y diagnosticar enfermedades para luego dar al paciente el tratamiento más adecuado.

Es de vital importancia, que los resultados que dé el laboratorio proporcionen confiabilidad en sus resultados. Es para ello que el laboratorio realiza prácticas de Control de Calidad que le permiten detectar fuentes de error en todo el proceso de manejo de la muestra: preanalítico, analítico y postanalítico.

Pero la calidad no solo se refiere a la calidad analítica lograda, sino también al mantenimiento de esa calidad, de manera que pueda asegurarse siempre que el resultado es confiable.

La razón de este concepto ampliado de Calidad ha surgido por la necesidad de cumplir con los requerimientos que las normas nacionales e internacionales han dictado para el manejo y funcionamiento de los laboratorios clínicos, además de los reconocimientos que puede obtener el laboratorio al demostrar su satisfactoria capacidad de cumplir con el servicio que proporciona.

El laboratorio de análisis debe cumplir con las metas que se haya impuesto desde el principio. Para ello debe seleccionar el método que mejor las cumpla y con ello todos los insumos necesarios para lograrlo. Una vez que lo ha encontrado y establecido sus características, debe mantener su buen funcionamiento, para ello introduce procedimientos de Control de Calidad que le permitirán detectar cualquier desviación y solucionar el problema.

El procedimiento de control de calidad consiste en introducir muestras control diariamente, estas se procesan de la misma forma que las muestras de pacientes a lo largo de por lo menos 20 días. Posteriormente se calculan la media aritmética, desviación estándar y coeficiente de variación de los valores control, de esta manera se estima la precisión y la exactitud.

El procedimiento control nos ayuda a decidir si una corrida analítica está "en control" o "fuera de control", y de acuerdo a eso si el resultado puede o no reportarse. El procedimiento es localizar los valores control en una gráfica control en cuyo eje x se encuentra el periodo de tiempo de las observaciones (generalmente en días) y en el eje y se encuentran los límites establecidos alrededor del valor medio ($\bar{x} \pm 1s$, $\bar{x} \pm 2s$, $\bar{x} \pm 3s$). En esta gráfica control puede verse cuando un valor está dentro del límite aceptado, cuando está fuera y además nos proporciona un aviso de que se ha introducido un tipo de error y debe

inspeccionarse el método nuevamente para ver que sucede, antes de continuar con nuevas corridas analíticas.

Los métodos de control de calidad nos ayudan a detectar el tipo de error que está presente, es decir si es sistemático o aleatorio.

Es muy importante que el personal del laboratorio tenga conocimiento de los pasos del proceso en que pueden surgir errores y también que aspectos cuidar para evitarlos:

FASE PREANALÍTICA.

La responsabilidad del laboratorio empieza desde que el paciente llega al lugar de la toma de muestra. La atención del personal en este momento es muy importante ya que el paciente puede sentirse atemorizado y provocarse un estado de estrés. El personal puede explicarle el proceso de la toma de muestra, así el paciente no tendrá que preocuparse por situaciones que no sucederán.

El laboratorio debe ofrecer ciertas comodidades como son:

Una sala de recepción con un sanitario adecuado para pacientes en general y para pacientes que utilicen silla de ruedas u otros aparatos.

Un área privada para entrevistar al paciente.

Otra área para la toma de muestra que estará separada de otros pacientes y de ruidos, debe estar limpia, y provista de todo el material que se necesite para el muestreo.

El personal debe estar atento de no confundir datos del paciente con los datos de otros pacientes, identificando correctamente su muestra. También debe investigarse el estado de ayuno, si hubo ejercicio previo incluso tres días antes de la toma de muestra y si existe alguna farmacoterapia, además debe anotarse la hora del día en que se toma la muestra.

En el momento del muestreo deben cuidarse los siguientes aspectos:

- La posición del paciente.
- La limpieza de la zona a puncionar.
- El uso del torniquete.
- El calibre de la aguja que se va a utilizar.
- El contenedor que va a utilizarse.
- El anticoagulante.
- La velocidad y tiempo de centrifugación.
- El modo de mezclado.

El laboratorio debe poseer el equipo necesario para almacenar los reactivos a la temperatura requerida y en el contenedor adecuado. Los reactivos que utiliza el laboratorio deben estar debidamente etiquetados y organizados de modo que no se llegue a la fecha de vencimiento sin que se hayan utilizado.

Con respecto al equipo e instrumentos debe atenderse lo siguiente:

- Calibración (Deben tenerse registros de las calibraciones pasadas y futuras, así como los procedimientos de calibración, si se tiene un manual de calidad debe incluirse en él estas prácticas).
- Mantenimiento.
- Limpieza
- Guías para el uso correcto de los instrumentos

FASE ANALÍTICA.

En esta etapa se lleva a cabo el proceso de medición propiamente dicho.

El personal debe estar bien familiarizado con el procedimiento de medición, con el funcionamiento del equipo, las condiciones de los reactivos, con las temperaturas óptimas y los tiempos de medición.

En ocasiones el resultado obtenido puede no ser el esperado, la razón no es un error cometido durante la toma de muestra o en el proceso de medición, sino en algunas sustancias de interferencia analítica.

Estas sustancias pueden ser: medicamentos y/o sus metabolitos; sustancias tóxicas a las que el paciente ha sido expuesto; anticoagulantes; medios de contraste radiográfico y algunas veces otros metabolitos (bilirrubina, hemoglobina y otras proteínas) que también se encuentran presentes en la muestra junto con el analito que se desea medir.

El analista tiene que conocer las sustancias que interfieren con los exámenes que realiza.

Es importante que antes de analizar la muestra se tenga conocimiento de las situaciones que provoquen la existencia de estas sustancias en la muestra del paciente.

FASE POSTANALÍTICA.

Los resultados presentados en un reporte es el producto final del trabajo en el laboratorio clínico.

Los datos que se incluyen en el reporte son:

- Datos del Laboratorio
- Identificación del paciente (Nombre, edad, sexo, número de filiación, etc.)
- Fecha de la toma de muestra.
- Naturaleza de la muestra.
- Nombre del analito o analitos que se midieron.
- Valor numérico del resultado con sus respectivas unidades.
- Intervalo de Referencia, que debe ser coincidente en unidades con las del resultado.

Pueden incluirse otros aspectos como: límites de confianza, interferencia de medicamentos, condiciones del examen; algún comentario interpretativo.

El personal del laboratorio debe conocer las medidas de acciones urgentes, esto es, lo que hará en caso de un resultado que indique la gravedad de un paciente y que deba ser informado al médico inmediatamente.

Los resultados obtenidos deben ser confidenciales y entregarse solo al médico que los solicite o a quien el médico haya delegado su responsabilidad.

Los resultados que conserva el laboratorio con fines de registro de actividades deben conservarse el periodo de tiempo que esté indicado por la ley.

OBJETIVOS

Describir los elementos que integran el Control de Calidad y los métodos utilizados para asegurar la Calidad, aplicados al área de Química Sanguínea.

Enumerar las fuentes de error que pueden surgir en el proceso de análisis y las precauciones para evitarlos y de este modo lograr resultados confiables.

Enfatizar la importancia que tiene en la actualidad la Garantía de la Calidad y crear conciencia de la Buena Calidad como competencia profesional, motivación e integridad moral en los profesionales que están a cargo del Laboratorio de Análisis Clínicos.

I. INTRODUCCIÓN

Los laboratorios clínicos juegan un papel importante en el diagnóstico, el manejo y el seguimiento de las enfermedades que son típicas de cada sociedad.

La interpretación clínica motiva la cooperación entre el personal del laboratorio y el médico en su esfuerzo conjunto para el beneficio del paciente. (1)

Los profesionales del laboratorio son miembros importantes del equipo médico moderno.

El desempeño del químico del laboratorio siempre es mejor cuando comprende la aplicación de sus resultados. Tal entendimiento le da un sentido de participación en el esfuerzo médico total y elimina el sentimiento de ser como robots obteniendo números de significado desconocido.

El laboratorio de análisis realiza diferentes tipos de exámenes en cada área (hematología, química hemática, microbiología, inmunología, parasitología, etc.). Cerca de la mitad del trabajo de laboratorio de hospital involucra el laboratorio de Química Clínica.

(1)

La Química Clínica es una ciencia fundamental cuando se intenta comprender el proceso fisiológico y bioquímico operante en estados normales y anormales. Es una ciencia aplicada cuando se hacen análisis en fluidos del cuerpo o tejidos como especímenes para el diagnóstico de enfermedades.

La naturaleza dual de la Química Clínica requiere que sus practicantes sean expertos en ambas fases: deben tener un conocimiento del proceso fisiológico y bioquímico que ocurre en el organismo humano y también la habilidad técnica para realizar los diferentes exámenes.

El trabajo primario del profesional del laboratorio es la evaluación de varios constituyentes químicos en sangre, orina, otros fluidos y tejidos.

Normalmente las concentraciones de los constituyentes sanguíneos son relativamente constantes, pero en estados de enfermedad sus niveles pueden alterarse, la magnitud del cambio normalmente es paralelo al grado de enfermedad. El laboratorista debe tener en mente siempre que cada espécimen es tomado de una persona con un problema de salud real o potencial y que él es una parte esencial de un equipo altamente capacitado que contribuye a la evaluación de la condición del paciente (1).

En enfermedad avanzada, las anomalías son muy notables, fácilmente detectables y no presentan un reto analítico para el laboratorio. La detección temprana de disfunción es más difícil, debido a la magnitud de los cambios químicos característicos que a veces no pueden distinguirse de posibles errores en el desempeño de las pruebas. El laboratorio debe controlar sus métodos de modo que esté seguro que el resultado es el real y no un error, para ello ha de haber todo un sistema de Control de Calidad que garantice la certeza del resultado. El presente trabajo describirá todas las actividades que se realizan para obtener el resultado con la Calidad

que se requiere en el laboratorio de Química Clínica, específicamente en el área de Química sanguínea. La razón por la que sólo se estudiará esta área es porque el campo de la Química Clínica es muy extenso y el estudio de las otras áreas se dejará para futuras investigaciones.

I.1 CALIDAD EN EL LABORATORIO CLÍNICO

Hoy en día vivimos escuchando en todas partes términos tales como Garantía de Calidad, Mejoramiento Continuo de Calidad, Acreditación, Certificación ISO, etc. Que además de saber muy poco sobre ellos casi siempre los relacionamos con la Industria, es decir, con la fabricación de algún producto y poco se piensa en los servicios y mucho menos en los servicios de Salud.

El concepto de Calidad está definido por la Organización Internacional de Estandarización (ISO) como la totalidad de rasgos y características de un producto o servicio que conllevan por su capacidad a satisfacer lo establecido o las necesidades involucradas. (2) Tales necesidades naturalmente dependen de lo que exijan los diversos sectores de la sociedad.

Todos demandan que la evaluación sea segura para el individuo; que el resultado sea confiable y útil para tomar decisiones clínicas y que el ejercicio sea costo-efectivo.

El individuo sujeto a la estudio deseará no estar sujeto a estrés, ni a inconvenientes. El médico u otro profesional de la salud esperará oportunamente un mínimo de falsos negativos, falsos positivos y alguna ayuda para interpretar los resultados, tal como las medidas de incertidumbre y valores de referencia. (2)

En cuanto al lugar de trabajo, es importante saber si el proceso y el ambiente son seguros para el empleado. La administración de la Institución de Salud demandará que el proceso sea seguro para los empleados y el ambiente, libre de errores y que preferentemente genere ganancias.

Finalmente las organizaciones y los analistas insisten en los requerimientos metrológicos tales como la precisión / exactitud bajo las condiciones de medición. (2)

Todo laboratorio debe evaluarse a sí mismo para revisar si su misión está siendo cumplida, atendiendo a las necesidades de la sociedad. Para ello el laboratorio debe tener un desarrollo y un funcionamiento eficaz que se logra básicamente programando y planificando el servicio. (3) Esto implica que el laboratorio desarrolle sistemas de calidad que vigilen que los resultados son obtenidos con la mejor calidad posible.

I.1.1. Control de Calidad

El laboratorio introduce el Control de Calidad (CC) en los 60's para proporcionar una herramienta estadística y monitorear el desempeño analítico del proceso, identificar

problemas y corregir errores antes de entregar el resultado. (4)

El término Control de Calidad en Química Clínica está definido como el estudio de aquellas fuentes de variación, las cuales son responsabilidad del laboratorio, y de los procedimientos usados para reconocerlas y minimizarlas, en ellas se incluyen todos los errores que surgen dentro del laboratorio, entre que se recibe la muestra (aunque también es responsabilidad del laboratorio coleccionar la muestra, proporcionar el contenedor adecuado, transporte y almacenamiento etc.) y se entrega el reporte del resultado.

Por razones prácticas es bueno distinguir entre Control de Calidad Interno (CCI), Control de Calidad Externo (CCE) y Garantía de Calidad (GC).

1.1.2 Control de Calidad Interno.

Este término se refiere a los procedimientos que se llevan a cabo en un solo laboratorio, con el propósito de monitorear continuamente el desempeño del mismo en sus operaciones y resultados, a fin de decidir si los resultados son lo bastante confiables para ser entregados al paciente. Algunas veces el Control de Calidad Estadístico es utilizado como sinónimo de CCI, ya que en él se utilizan procedimientos que incluyen la estadística como herramienta. (5)

El objetivo general es asegurar un funcionamiento eficiente del laboratorio, de modo que el resultado sea entregado a tiempo y sea útil para las decisiones del médico, o bien para el equipo de salud que trabaja en beneficio del paciente.

Como objetivos específicos tiene:

- 1) Controlar la eficiencia de los métodos analíticos y prevenir su deterioro, evitando que surjan "vicios", más que mejorar su eficiencia.
- 2) Alertar al personal previniendo reportar resultados erróneos y remediar la acción inmediatamente.
- 3) Asegurar la apropiada obtención, transporte, almacenamiento, etc., de las muestras de estudio, en aquellos donde sea responsabilidad del laboratorio.
- 4) Detectar una variación en el proceso e identificar sus fuentes. Esta información puede permitir la mejora de la eficiencia a través de modificaciones del equipo, métodos, organización y entrenamiento.
- 5) Contribuir al mejor cuidado del paciente a través de la especificidad y sensibilidad diagnóstica.

Sin embargo, el CCI tiene algunas limitaciones:

- 1) La premisa fundamental de que el espécimen control debe ser exactamente como el espécimen del paciente en el sistema analítico, puede no satisfacerse. Las principales causas incluyen diferencias en la matriz (especímenes control que no son de origen humano); procesamiento

(Mezcla, filtración, diálisis, liofilización); errores de llenado y reconstitución (errores de pipeteo, manipulación).

2) Existen errores que no pueden ser detectados por medio de especímenes control, que pueden surgir en el espécimen del paciente debido a la presencia de substancias de interferencia ya sean endógenas (ejemplo: uremia) o exógenas (ejemplo: medicamentos o sus metabolitos).

3) Por la dificultad al asignar valores verdaderos a los especímenes control, estos son de valor limitado al medir la inexactitud.

4) El proceso abierto (cuando el analista conoce la identidad y el valor asignado) o semicerrado (el caso del analista que está enterado del analito de que se trata pero no conoce el valor asignado) de los especímenes control puede producir desviación (sobreestimaciones) de la eficiencia de las mediciones.

5) El CCI. puede ser de poca o nula ayuda al identificar la naturaleza y fuente de algunos errores (aquellos debidos a la colección, transporte o almacenamiento de las muestras de pacientes).

6) Cuando el personal que está a cargo del procedimiento control es el mismo que realiza el procedimiento a controlar, puede dificultarse y retardar el remedio de la acción o impedirlo.

7) El uso correcto del CC requiere de conocimientos básicos de Estadística de todas las operaciones, sin embargo, los criterios que más se utilizan involucran probabilidades de cambios ocurridos derivados de Distribuciones Gaussianas, pero pueden ocurrir otras en la práctica.

8) Es difícil verificar que un procedimiento de CCI. es efectivo. Para implementarlo se requiere de un desembolso considerable y el beneficio no es inmediato. (5)

1.1.3. Control de Calidad Externo.

Se refiere a un sistema de chequeo objetivo de resultados de laboratorio por medio de una agencia externa. (6). Es un proceso de comprobación de los resultados de mediciones generadas en el laboratorio, comparados con los resultados obtenidos por otros laboratorios, con las mismas muestras control distribuidas por una agencia externa que, por su parte, también analiza los datos estadísticamente. (7)

Los diseños de los esquemas constan de instrucciones claras para el laboratorio participante en cuanto al procedimiento que debe seguirse para la medición, La agencia organizadora proporciona la muestra, esta puede ser de origen humano, de materiales liofilizados o materiales sintéticos. Cualquiera que sea el origen se informan las condiciones de almacenamiento o las instrucciones de reconstitución y almacenamiento posterior.

El resultado del laboratorio es analizado junto con los resultados de los demás laboratorios participantes y el

resultado sirve para que el laboratorio encuentre evidencias de errores sistemáticos y aleatorios en su desempeño que no fueron evidenciados por sus propios métodos de control de calidad interno. (8)

1.1.4. Garantía de Calidad .

El concepto de Garantía de Calidad (GC) fue agregado en los 80's para medir y monitorear otras características de calidad, tales como el tiempo de entrega del resultado, identificación, etiquetado de la muestra.

En este tipo de programas se comprometen la práctica constante del CCI, la participación en esquemas de evaluación de calidad externa y de series adicionales de monitoreo, sistemas de educación y entrenamiento que conciernen no solo la evaluación del espécimen, sino también su colección, transporte, manipulación y métodos de reporte de resultados. El término Garantía de Calidad no implica que siempre sean asegurados resultados perfectamente confiables, pero si que un resultado esté siendo hecho para lograr la más alta calidad posible. (6) Esto implica que se invierta en educación continua para personal del laboratorio, en la introducción de avances tecnológicos y que se mejoren los actuales sistemas de calidad si es que estos ya no son adecuados, además que se desee participar en esquemas de evaluación externa de manera voluntaria.

1 1 5 Ciencia del manejo de la calidad.

Pero las actuales propuestas para la GC no serán adecuadas para satisfacer las necesidades en la próxima década. La Ciencia del Manejo de la Calidad proporciona la estructura necesaria para lograr el Mejoramiento Continuo de la Calidad del Cuidado de la Salud.

Hay que aceptar que el concepto tradicional de GC tiene ciertas limitaciones:

- 1) Su definición de calidad está limitada desde que se enfoca en el paciente como su único cliente;
- 2) Sus objetivos están pensados en las normas que representen la eficiencia, no para satisfacer las necesidades reales de los clientes;
- 3) El objetivo es mejorar primariamente el comportamiento y práctica médica más que la eficiencia de la organización como un todo;
- 4) La eficiencia está restringida a la materia técnica y no considera adecuadamente la eficiencia de la entrega del Servicio.

La Ciencia del Manejo de la Calidad moderna amplía la definición de clientes y considera al médico y las enfermeras como clientes inmediatos, aunque el paciente es el último cliente. Enfatiza el Mejoramiento Continuo de Calidad y considera al empleado como un recurso primario

que debe ser continuamente entrenado y educado. Proporciona mecanismos en los que participa todo el personal para involucrar a todos en la solución de los problemas y en el mejoramiento continuo. La calidad llega a ser la cultura de la organización y se refleja en toda su gente y todas sus acciones.

En la Ciencia del Manejo de la Calidad se toma en cuenta que el cliente juzga la calidad de nuestro servicio, acceso, cortesía, comunicación, credibilidad, seguridad, apariencia del personal, comprensión de las necesidades del cliente, etc.

El modelo tradicional del Manejo de Calidad en laboratorios clínicos incluye tres componentes: a) Prácticas de Calidad de laboratorio (PCL), que proporcionan una serie de políticas de producción del laboratorio; b) Control de Calidad (CC) y c) Garantía de Calidad (GC).

Es importante comprender que tanto la GC como el CC, están destinados para medir si el proceso del laboratorio está logrando sus metas. La diferencia entre ambas está relacionada generalmente a la característica particular que está siendo medida: el CC mide características de desempeño del proceso analítico dentro del laboratorio, por ejemplo, imprecisión e inexactitud; la GC mide características que extienden el proceso más allá de los límites del laboratorio a las áreas que conciernen directa e inmediatamente con el cliente, por ejemplo, tiempo de entrega del resultado.

Aunque el CC y la GC pueden identificar problemas, no incluyen un mecanismo para solucionarlos. Los problemas identificados por el CC tienden a solucionarse porque residen dentro de nuestro control en el laboratorio y tenemos la experiencia para solucionarlos. Los problemas identificados por la GC son mejor solucionados reuniendo la experiencia de varios sectores en forma de un "Equipo de Calidad", elemento muy necesario en nuestro actual sistema de Calidad.

Dos componentes adicionales completan la estructura del Manejo de Calidad: Mejoramiento de Calidad (MC) y Planeación de Calidad (PC).

El MC complementa la GC proporcionando la estructura necesaria para solucionar problemas que se extienden a través de secciones del laboratorio o departamentos del hospital, o a través de diferentes grupos de profesionales: Clínicos, Patólogos, Enfermeras, Farmacéuticos, Médicos y Técnicos. Ya que solucionar un problema requiere un equipo de Calidad que pueda identificar la causa y desarrollar e implementar la solución.

El MC permite solucionar problemas replaneando el proceso y su objetivo es prevenir problemas.

El PC proporciona el enfoque en el cliente, pues enfatiza la importancia de atender las necesidades y expectativas, y da como resultado la definición de las metas de calidad. Esas metas de calidad guían el planeamiento del nuevo proceso, la implementación de

políticas operacionales y procedimientos (PCL), la medición y monitoreo del desempeño para asegurar que la calidad sea satisfactoria (CC y GC), y la solución de problemas para mejorar la calidad cuando el desempeño no es satisfactorio (MC). El último paso permite replanear el proceso y repetir el ciclo de implementación: midiendo, monitoreando y mejorando.

Esta estructura es una simple extensión lógica del método científico que usamos en nuestro trabajo técnico. Planeamos el problema (PC), hacemos experimentos (PCL), colectamos datos (CC, GC), analizamos qué necesidades cubriremos (MC) y luego repetimos el ciclo, una y otra vez para lograr nuestras metas. (4)

1.1.6. Sistema de Calidad

Los tres aspectos clave de un sistema de calidad son: el manejo de responsabilidades; el personal con los recursos materiales y la estructura del sistema de calidad; todos ellos estarán enfocados en armonía en la interfase laboratorio-cliente. El sistema de calidad compromete todos los procesos necesarios para proporcionar un servicio efectivo, de una discusión de necesidades del cliente a través del diseño para mejorar el desempeño obtenido por retroalimentación con el cliente. El manejo debe establecer una política de calidad (identificando las metas y objetivos para la calidad del servicio), que proporcione la estructura y procedimientos necesarios para lograr los objetivos; monitorear y evaluar los mecanismos para asegurar que ellos sean alcanzados. (7)

El principal recurso en la organización de un servicio son los empleados, el personal podría ser motivado dándole educación continua y entrenamiento (en materia de calidad, en la producción del servicio y en la comunicación dentro y fuera de la organización). La implementación requiere de una inversión de tales entrenamientos, inicialmente para los jefes y supervisores inmediatos quienes dirigen el mejoramiento del proceso, luego para los individuos que participan en el equipo de Calidad, y por último para todos los demás empleados. (2)

Los recursos materiales podrían ser suficientes para lograr el servicio planeado, como sistemas de medición, equipo, reactivos, instrumentos de medición, etc. (2)

La estructura del sistema de calidad podría permitir el control y la garantía de todo el proceso operacional afectando la calidad del servicio, realzando la prevención del error y la retroalimentación del proveedor de servicio-cliente-auditor de calidad. Los documentos de calidad incluyen un manual de calidad, un plan de las prácticas de calidad, procedimientos escritos de evaluación, de otras actividades y registros de todos los aspectos relacionados con la calidad. El laboratorio debe participar en esquemas de evaluación externa. (2)

La fase entre la organización del personal y el cliente es crucial para la organización del servicio. El cliente podría sentir que sus necesidades, problemas y comentarios son atendidos y que ellos se mantienen informados de las características del servicio disponible.

(2) Con el sistema de calidad, la organización puede comenzar a operar y la calidad podría difundirse a todas las etapas del proceso de producción.

Para el laboratorio clínico, esto significa lo siguiente:

- 1) Investigación del método en forma de aplicabilidad;
- 2) Diseño del proceso en forma de requerimientos para la implementación;
- 3) Entrega en forma de transmisión y presentación del reporte de laboratorio al profesional de la Salud y Administración con Control de Calidad y Garantía de entrega por personal del laboratorio al cliente. Además de acciones correctivas en caso de reconocer el error y finalmente,
- 4) Evaluación continua de la operación completa enfocada al mejoramiento continuo de calidad basado en la recolección, análisis y diseminación de datos. (2)

Una vez que se logra un nivel de calidad aceptable, debe mantenerse por todo el personal como un verdadero equipo. Pero se tendrá en cuenta que las demandas de calidad pueden cambiar debido a las nuevas necesidades de la creciente sociedad y también por la llegada de nuevas tecnologías que hacen rápidamente obsoletos a los métodos de medición antiguos.

Por todo esto el sistema de calidad debe evaluarse continuamente para que siempre cumpla con su función. Aunque es cierto que todo esto requiere de una fuerte inversión, a largo plazo los beneficios bien valen la pena pues disminuyen: el número de exámenes que requieren ser repetidos por resultar dudosos o equivocados, el número de interrupciones del servicio por fallas en los instrumentos o equipos y carencias de reactivos, el número de incumplimientos del procesamiento de muestras y disminución del tiempo de entrega, etc. (2)

Un primer paso en el desarrollo de un programa de GC podría ser la definición de las metas de calidad como especificaciones de calidad analítica y del servicio en relación a las características del procedimiento de medición y a ambos programas: CCI y CCE

Los requerimientos de calidad deben establecerse al comienzo, aún cuando se piense que son obvios:

- 1) Necesidades del cliente (requerimientos de Salubridad determinados por el beneficio al paciente, práctica clínica y costo a la comunidad) deben tomarse en cuenta para evitar errores en el manejo de decisiones. Por ejemplo, un método analítico puede ser el más eficiente para un componente dado, pero puede no ser lo bastante bueno para la aplicación clínica, contrariamente, un método puede ser

sensible, específico o más costeable para usarlo en una situación clínica particular.

2) La discusión no debe estar limitada a la precisión y exactitud, o a criterios de confiabilidad; la naturaleza del objetivo hace necesario incluir factores relacionados a la organización, interpretación y epidemiología.

3) Diferentes propósitos: clasificación de una anormalidad, seguimiento de un tratamiento, requieren diferentes niveles de desempeño. Por ejemplo, una determinación de glucosa en sangre puede hacerse para evaluar una diabetes, para diagnosticar hiperglucemia o coma hipoglucémico, como una parte de pruebas de tolerancia, o para otros propósitos. El nivel de desempeño requerido en cada caso puede ser diferente, dependiendo de la naturaleza de la situación clínica. Por lo tanto, es ilusorio estipular una sola serie de valores para las características de funcionamiento, que puedan hacer un método aceptable para todos los propósitos en química clínica. (9)

1.2 RECONOCIMIENTOS DEL LABORATORIO.

En muchas ciudades del mundo la necesidad de un reconocimiento formal ha ido en aumento debido a la competición para los servicios y la insistencia de la sociedad por el aseguramiento de la calidad en la industria de la salud, ahora el reconocimiento oficial está visto como un instrumento del mercado. (2)

1.2.1 Certificación

El más simple acercamiento para el reconocimiento es que las autoridades de la salud establezcan los requerimientos para la certificación del profesional que encabeza el servicio de laboratorio. Cuando esos requerimientos son cumplidos se asume que el laboratorio creará y mantendrá un sistema que produzca resultados adecuados. Tal laboratorio puede funcionar bien si se incorpora voluntariamente a programas de garantía de la calidad externos, además de realizar colaboraciones profesionales activas e intercambios científicos.

En algunas ciudades tales medidas se unen con programas de garantía de calidad externos obligatorios y pueden aplicarse sanciones si el desempeño es repetidamente insatisfactorio, la última pena puede ser la pérdida de la licencia.

La certificación del sistema de calidad es una propuesta hecha sobre el manejo de calidad que determina e implementa la vigilancia de la calidad e incluye: planeación, distribución de recursos, operaciones y evaluaciones.

Los principios y elementos están tratados en la serie ISO 9000 lo mismo que en la serie EN (European Standard) serie 29000. (2) Estas normas son las equivalentes a las normas mexicanas de la serie NMX-CC (que aparecerán entre paréntesis delante de su norma ISO equivalente). Ver tabla 1.2.1.

La serie ISO 9000 distingue varios tipos de normas para la certificación:

ISO 8402. (NMX-CC-001-1995 IMNC) Es la norma internacional que define los términos utilizados en toda la serie, con el fin de que exista una mutua comprensión en las comunidades internacionales.

ISO 9000. (NMX-CC-002/1 1995 IMNC) Gestión de Calidad y normas de aseguramiento de Calidad. Guía para su selección y uso.

Esta norma y la norma 9004, nos ayudan a preparar nuestros sistemas gerenciales internos de calidad y a seleccionar el modelo específico con base en las normas 9001, 9002, 9003 y 9004 parte 2. La diferencia entre la norma 9000 y 9004 parte 1 es que la primera nos ayuda a comprender los conceptos de calidad y a seleccionar el modelo apropiado (9001, 9002, 9003), mientras que la segunda es una extensión de la 9000.

ISO 9000-2. Este segundo agregado o revisión de la norma ISO 9000 original se titula Guía genérica para la aplicación de la ISO 9001, ISO 9002 e ISO 9003. Por lo tanto, contamos con la ISO 9000-1 y la ISO 9000 para ayudarnos a comprender las normas ISO 9001, 9002 y 9003. ISO 9004: Guías de la gestión de calidad y elementos del sistema de calidad.

Se toma esta norma como la siguiente, ya que es necesario tener la norma ISO 9000 y la ISO 9004 en una mano mientras se intenta seleccionar la apropiada norma ISO 9001, 9002, 9003.

ISO 9001. (NMX-CC-003- 1995 IMNC) Sistemas de Calidad. Modelo para el aseguramiento de la calidad en el diseño, desarrollo, producción, instalación y servicios.

Es para la compañía que desea asegurar a su clientela que sus productos se conforman a los requerimientos especificados durante todas las etapas, que pueden incluir diseño, desarrollo, producción, instalación y servicios.

ISO 9002. (NMX-CC-004- 1995 IMNC) Sistemas de Calidad. Modelo para el aseguramiento de calidad aplicado a la producción e instalación.

Esta es la norma más común para el fabricante y se aplica cuando ya hay un diseño o especificaciones establecidas, las cuales constituyen los requerimientos especificados del producto, también se supone que el sistema de calidad establecido demuestra que el proveedor puede continuar fabricando el producto de acuerdo con lo estipulado.

ISO 9003. (NMX-CC-005- 1995 IMNC) Sistemas de Calidad. Modelo para el aseguramiento de la calidad en la inspección y prueba final.

Esta norma es para quienes tienen que demostrar su capacidad para efectuar satisfactoriamente inspecciones y pruebas, aparte de los acostumbrados requerimientos de políticas y estructura organizacional, lo que necesitará es un sistema que incluya: control de documentos, identificación y marcado de productos, control de productos que no pase las pruebas especificadas, un sistema de manejo almacenamiento, técnicas estadísticas cuando sea apropiado y capacitación.

ISO 9004 parte 2. (NMX-CC-006/2- 1995 IMNC) Gestión de calidad y elementos del sistema de calidad. Guía para Servicios.

Esta norma se sigue para suministrar los elementos y aspectos requeridos para estructurar un sistema de calidad que sea relevante para una organización de servicios, es aplicable a todos estos, incluyendo tanto los que son exclusivamente servicios como los que involucran la fabricación y suministro de productos. Lo anterior hace que la norma sea ideal para un amplio espectro de actividades, desde máquinas vendedoras hasta consultorías; bancos y servicios a sistemas instalados de computadoras.

ISO 9000-3 Gestión de Calidad y normas para el aseguramiento de la calidad. Guía para la aplicación del ISO 9001 al desarrollo, suministro y mantenimiento de "Software".

En 1987 la comisión de la Comunidad Europea adoptó las normas internacionales de la ISO 9000 como las normas europeas apropiadas conocidas como EN 29000. (10)

Queda claro que la aplicación del manejo de calidad de servicios es tomada de la norma ISO 9004 parte 2, en la que se mencionan algunas veces laboratorios clínicos como ejemplos. (2)

1.2.2 Acreditación.

El concepto de acreditación de laboratorio está definido por ISO/IEC (International Electrotechnical Commission) como el reconocimiento formal de que un laboratorio es competente para llevar a cabo ensayos específicos o tipos específicos de pruebas.

La acreditación usualmente cuenta con una exitosa evaluación del laboratorio y es seguida de una apropiada vigilancia por un organismo independiente.

Hay varios tipos de programas de acreditación bajo organismos no gubernamentales, formados por profesionales de la Salud en algunas Ciudades e idealmente podrían ser la solución óptima. Ellos son generalmente no comerciales. Consisten de una mesa de acreditación, un conjunto de requerimientos (también llamados estándares) concernientes a la organización y administración; equipo de vigilancia y procedimientos; personal de desarrollo; educación y evaluación; asesores y visitas de sitio. Tales planes tienen una esencia educacional.

También existen sistemas de acreditación gubernamental.

Tarde o temprano muchas ciudades establecen un cuerpo de acreditación oficialmente certificado, operando de acuerdo a reglas detalladas y siendo evaluadas por una autoridad externa.

En México el Sistema Nacional de Acreditamiento de Laboratorios de Pruebas (SINALP) es el organismo de acreditamiento reconocido en las normas oficiales de la serie NOM-CC-. Específicamente en la Norma NOM-CC-13-1992 se establecen los criterios generales para la operación de los laboratorios de pruebas. En ella se encuentran los criterios para la competencia técnica:

Gestión y organización (Responsabilidades del personal en su área de responsabilidad, de los representantes autorizados así como de signatarios responsables de las operaciones técnicas del laboratorio); Personal (requisitos de preparación o capacitación de acuerdo a sus funciones); locales y equipos (disponibilidad, locales y condiciones ambientales, datos de registros de equipos, calibraciones etc.); procedimientos de trabajo (Métodos de prueba y procedimientos, sistemas de calidad, informe de resultados, registros de las disposiciones legales que deba cumplir, manejo de muestras, etc.); Cooperación (con los clientes, con el organismo de acreditación, con otros laboratorios y

organismos de normalización o reglamentación) y obligaciones resultantes de la acreditación.

Las características del cuerpo de acreditación se encuentran en la norma NOM-CC-15-1992.

En primer lugar el cuerpo de acreditación debe ser identificable legalmente, imparcial e independiente de influencias externas sobre sus resultados y juicios. Segundo, el criterio incluye una larga lista de requerimientos concernientes a la competencia técnica del laboratorio. Su organización consta de una autoridad técnica y una distribución de responsabilidades, debe estar documentado y debe proporcionarse una adecuada supervisión técnica. El personal debe ser suficiente, educado técnicamente, inteligente y debe conservar confidencialidad profesional. El lugar o la instalación debe estar sujeta a evaluaciones, con un ambiente monitoreado y examinado por personas ajenas al personal del laboratorio. El equipo debe tener registros individuales de calibración, procedimientos de mantenimiento y los artículos defectuosos deben etiquetarse de ese modo. La reproducibilidad o la comparación interlaboratorio debe ser demostrada. El procedimiento de trabajo para el equipo, manejo de la muestra y mediciones, deben ser enteramente documentadas, especialmente si son ó no estándar, la documentación disponible y los sistemas de datos manejados deben ser validados.

Una apropiada revisión periódica al sistema de calidad tal como ISO 9004-2, puede estar en operación y documentada en un manual de calidad actualizado. La evaluación de reportes puede contener información sobre señas, identificación, tipo de muestra, fecha, procedimientos de medición y alguna desviación del procedimiento normal, resultados, firma y una descripción que permita su reproducción. Además el reporte no debe contener avisos, recomendaciones o interpolaciones de una muestra a un sistema más grande, esto debe darse en un documento separado. Los registros deben incluir todos los datos originales, cálculos y datos de calibración. Los registros y reportes deben ser seguros y confidencialmente almacenados por un tiempo estipulado. El sistema para identificar las muestras deben excluir confusión, impedir anonimato y manipulación de documentación por parte del personal no autorizado. (2)

Son las reglas detalladas de cooperación con el cliente, cuerpo de acreditación y otros laboratorios, además de los cuerpos de estandarización, los que definen los criterios de como un laboratorio debe ser evaluado. En contraste con la certificación de un sistema de calidad donde el nivel de competencia lo establece el aspirante, el cuerpo de acreditación puede pedir al laboratorio demuestre cierto nivel de desempeño. (2)

TABLA 1.2.1 Normas Mexicanas y su equivalencia

Norma Mexicana	Equivalencia	Título
NMX-CC-001-1995 INMC	ISO-8402-1994	Administración de la calidad y aseguramiento de la calidad.- Vocabulario
NMX-CC-002/1-1995 INMC	ISO-9000/1-1994	Administración de la calidad y aseguramiento de la calidad - Parte 1: Guía para la selección y uso.
NMX-CC-002/4-1997 INMC	ISO-9000/4-1993	Normas de administración de la calidad y aseguramiento de la calidad Parte 4 Directrices para la administración del programa de seguridad de funcionamiento.
NMX-CC-003-1995 INMC	ISO-9001-1994	Sistemas de calidad - Modelo para el aseguramiento de la calidad en diseño, desarrollo, producción, instalación y servicio.
NMX-CC-004-1995 INMC	ISO-9002-1994	Sistemas de calidad.- Modelo para el aseguramiento de la calidad en producción, instalación y servicio.
NMX-CC-005-1995 INMC	ISO-9003-1994	Sistemas de calidad.- Modelo para el aseguramiento de la calidad en inspección y pruebas finales
NMX-CC-006/1-1995 INMC	ISO-9004/1-1994	Administración de la calidad y elementos del sistema de calidad. Parte 1: Directrices
NMX-CC-006/2-1995 INMC	ISO-9004/2-1991	Administración de la calidad y elementos del sistema de calidad. Parte 2 - Directrices para servicios
NMX-CC-006/2-1997 INMC	ISO-9004/3-1993	Administración de la calidad y elementos del sistema de calidad. Parte 3: Directrices para materiales procesados
NMX-CC-006/4-1996 INMC	ISO-9004/4-1993	Administración de la calidad y elementos del sistema de calidad. Parte 4: Directrices para el mejoramiento de calidad.
NMX-CC-013-1992	EN 45001, ISO/IEC Guía 25	Criterios generales para la operación de los laboratorios de prueba.
NMX-CC-014-1992	EN 45002	Criterios generales para la evaluación de los laboratorios

		de prueba
NMX-CC-015-1992	EN 45003. ISO/IEC Guía 58	Criterios generales relativos a los organismos de acreditamiento de laboratorios

1.3 NORMATIVIDAD

En el caso de que el laboratorio quiera obtener una certificación del sistema de calidad o un acreditamiento existen las normas mexicanas que ya se mencionaron, pero además existen normas que son obligatorias según la Ley General de Salud y el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Prestación de servicios de Atención Médica.

Existe un proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-166-SSA1-1997 Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos. En ella se establecen los requisitos que deben satisfacerse para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos.

Las especificaciones dictadas en este proyecto de norma se enuncian a continuación.

- Los laboratorios deben contar con un responsable sanitario cuyas funciones son: informar por escrito a la Secretaría de Salud, en los términos, forma y periodicidad que la misma determine, los casos de enfermedades transmisibles de notificación obligatoria, así como adoptar las medidas necesarias para la vigilancia epidemiológica, tomando en cuenta lo dispuesto en la Ley General de Salud y demás disposiciones generales aplicables; comunicar por escrito a la Secretaría el horario de asistencia al establecimiento, así como cualquier modificación al mismo; comunicar por escrito a la Secretaría la fecha de su designación renuncia o sustitución; notificar en su caso al Ministerio Público y demás autoridades competentes, de los casos en que se presuma la comisión de hechos ilícitos; atender en forma directa las reclamaciones que se formulen en la prestación de los servicios, y coadyuvar para su resolución, ya sea las originadas por el personal del establecimiento o por profesionales, técnicos o auxiliares independientes que en él presten sus servicios, por servicios de referencia, por el proveedor o por el usuario, sin perjuicio de la responsabilidad profesional en que se incurra; vigilar y mantener el buen funcionamiento de la recepción, toma, conservación, transporte y procesamiento de muestras dentro y fuera del establecimiento; vigilar que se lleven a cabo los sistemas de control, tanto internos como externos que determine esta Norma; firmar los reportes de los análisis realizados o en su caso, vigilar que sean firmados por el personal profesional o técnico por él autorizado y de manera autógrafa; vigilar dentro de los establecimientos a su cargo se apliquen las medidas de seguridad e higiene para la protección de la salud del

personal expuesto por su ocupación; mantener actualizada la documentación de su personal y las demás que señalen otras disposiciones generales aplicables.

- Los laboratorios llevarán un registro cronológico de los análisis que realicen. Estos deberán conservarse por un periodo mínimo de seis meses. Los informes de resultados de los análisis deberán tener impresos los valores de referencia conforme a las técnicas empleadas, salvo aquellos casos donde no se requiera.
- Para la obtención de licencia sanitaria o aviso de funcionamiento que ampare el legal funcionamiento del laboratorio, los propietarios y, en su caso, los responsables deberán presentar ante la autoridad sanitaria, el formato con los datos y requisitos que correspondan al trámite que se realiza, de conformidad con lo dispuesto en el Acuerdo por el que se dan a conocer los trámites inscritos en el Registro Federal de Trámites Empresariales que aplica la Secretaría de Salud y se establecen diversas medidas de mejora regulatoria y su Anexo Único.
- En cuanto a la organización, debe contar con los siguientes documentos actualizados:
 1. Manual de organización que deberá contener como mínimo: índice, introducción, atribuciones u objeto, estructura orgánica, objetivo y descripción de funciones.
 2. Manual de procedimientos administrativos conteniendo: índice, presentación, objetivo del manual, procedimientos, descripción de actividades, diagramas de flujo y formatos e instructivos.
 3. Manual de todos los métodos analíticos en idioma español que contenga: nombre de todos los métodos utilizados, fundamento, preparación, procedimientos, resultados, valores de referencia y bibliografía.
 4. Bitácora de mantenimiento y calibración de equipo que deberá incluir: nombre del equipo, fabricante y número de serie, fecha de recibo y fecha de inicio de operaciones del equipo / fechas de mantenimiento, especificando las calibraciones y verificaciones realizadas al equipo, de acuerdo a un programa de mantenimiento preventivo.
 5. Guía para la toma, manejo, conservación y transporte de muestras que deberá incluir: índice, introducción, relación de pruebas que se efectuarán, tipo de muestra que se requiere, instrucciones y precauciones especiales para la toma y conservación de cada tipo de muestras y en su caso, instrucciones para el transporte de las muestras.
 6. Manual de manejo de equipo en el idioma español que incluya: nombre del equipo, procedimientos de uso, cuidados especiales, mantenimiento preventivo y bibliografía.
 7. Manual de seguridad e higiene ocupacional y, en su caso, de seguridad radiológica.
 8. Manual de procedimientos para el manejo de desechos peligrosos, conforme a la NOM-087-ECOL-1995, "Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y

disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generen en establecimientos que presten atención médica".

9. Programa de mantenimiento preventivo de instrumentos de medición y equipo utilizado establecimiento.

10. Programa de desinfección y desinfestación del establecimiento.

Todos los documentos anteriores podrán integrarse con información en español que el fabricante envíe con los reactivos o equipos, o bien, ser elaborados por el propio laboratorio clínico y quedar contenidos en uno varios o volúmenes.

- Los laboratorios deberán contar con las siguientes áreas:
 1. Administrativa, para la recepción de solicitudes, entrega de resultados, registro de pacientes y sala de espera para toma de muestras.
 2. Área de laboratorios, en la que deberá existir, instalaciones eléctricas, hidráulicas, y de gas; área de lavado de material, esterilización o antisepsia y secciones para la realización de análisis.
 3. Almacén y
 4. Servicios sanitarios.

- En cuanto a Recursos humanos:

1. Debe contar con un responsable sanitario que podrá ser: Químico o Biólogo con grado de maestría o doctorado en las áreas de laboratorio clínico; Químico con curriculum orientado a laboratorio clínico y mínimo 5 años de experiencia comprobable con documentos oficiales en cualquier área de laboratorio clínico, o certificado de especialidad expedido por autoridad educativa competente; médico cirujano con certificado de la especialidad en patología clínica, expedido por el Consejo correspondiente o constancia de grado de maestría o doctorado en las áreas de laboratorio clínico expedida por una institución educativa competente.

2. Deberán contar en su caso con personal suficiente e idóneo incluyendo: Profesional del área de laboratorio clínico con título y cédula profesional legalmente expedidos y registrados por las autoridades educativas competentes; Técnico en laboratorio clínico con certificado o diplomas legalmente expedidos y registrados por las autoridades educativas competentes; de enfermería y auxiliar, y Administrativo.

- De recursos materiales y tecnológicos.

1. Los laboratorios deberán comprobar que cuentan con los recursos materiales y tecnológicos de acuerdo al tipo de análisis que realicen.

2. Las jeringas, agujas y lancetas utilizadas para la toma de muestras sanguíneas deberán ser desechables.

- Los principios científicos y éticos a los que debe sujetarse el laboratorio son:

1. Respetar la personalidad, dignidad e intimidad de todos los usuarios.
2. Brindar información completa, en términos comprensibles, sobre los servicios y procedimientos a los que se va a someter al paciente, así como los requisitos para su realización.
3. Mantener confidencialidad de toda la información relacionada con los resultados de los análisis realizados, excepto cuando sea solicitada por la autoridad competente.
4. Informar a los usuarios, en su caso, si los procedimientos a los que se va a someter serán utilizados en función de un proyecto de investigación o docencia. En estos, será imprescindible el consentimiento informado por escrito y ante dos testigos idóneos, con las formalidades que establecen los artículos 20, 21 y 22 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud.
5. El personal de laboratorio clínico no podrá emitir opiniones ni sugerir interpretaciones sobre los resultados obtenidos, excepto al médico o laboratorio que solicite el servicio de referencia.
6. Las técnicas y procedimientos realizados en los laboratorios clínicos se sujetarán a los principios científicos que los sustentan, y
7. Queda prohibida la dicotomía, entendiéndose como tal el pago en dinero o en especie, a los médicos o funcionarios de empresas o instituciones públicas sociales o privadas, en relación a los análisis practicados a usuarios que ellos remitieran.

• En cuanto a los servicios de referencia:

1. Se entenderá como servicios de referencia la realización de análisis clínicos por un laboratorio a solicitud de otro laboratorio.
2. Los contratos de servicios de referencia deberán ser por escrito y ajustarse a lo que establece esta Norma y otras disposiciones generales aplicables. En caso de que los servicios de referencia se realicen en el extranjero, los prestadores de los mismos deberán cumplir con las disposiciones reglamentarias del país en el que estén establecidos.
3. Los responsables que suscriban los contratos de servicios de referencia asumirán mancomunadamente la responsabilidad de los resultados. Los resultados podrán transmitirse por medios electrónicos.

• El laboratorio debe establecer programas de aseguramiento de calidad, esto es:

1. Deberán garantizar la calidad de los análisis que realicen a través de un programa interno de control de calidad que incluya las etapas preanalítica, analítica y postanalítica.

2. Deberán participar al menos en un programa de evaluación externa de la calidad en el cual deberán integrar los análisis que realice y que incluya el programa.

3. Acreditar la evaluación de cada una de las pruebas incluidas en programas externos y desarrollar una investigación dirigida para solucionar la problemática de aquellos análisis en los que la calidad no sea satisfactoria.

• Los lineamientos de higiene y seguridad son:

1. La superficie libre por trabajador no podrá ser menor de dos metros cuadrados.

2. Todo personal del laboratorio deberá adoptar las medidas preventivas para su protección en el almacenamiento, transporte y manejo de sustancias tóxicas, e infecciosas, al efecto, tomar en cuenta los requisitos que señalen las disposiciones generales aplicables en la materia, en particular la NOM-087-ECOL-1995, NOM-009-STPS-1993, NOM-012-STPS-1993 y NOM-114-STPS-1994.

3. El responsable deberá informar al personal sobre los riesgos que implica el uso y manejo de sustancias tóxicas, corrosivas o irritantes y , en su caso, fuentes de radiación ionizante; así como, los procesos de muestras con el fin de que cumplan con las normas de seguridad correspondiente y utilizar el equipo de protección personal.

• La publicidad del laboratorio estará sujeta a lo siguiente:

1. Será carácter informativo sobre el tipo, características y finalidades de la presentación de servicios. El mensaje deberá tener contenido orientador, educativo y en idioma español.

2. La publicidad no podrá ofrecer técnicas y tratamientos preventivos, curativos o rehabilitatorios, de carácter médico o paramédico.

La norma esta de acorde parcialmente con los lineamientos y recomendaciones internacionales para laboratorios de análisis clínicos.

II FASE PREANALÍTICA

Existen muchas variables preanalíticas durante la preparación del paciente, muestreo y manipulación de la muestra, las cuales influenciarán el resultado de la medición clínica y afectará la calidad del servicio ofrecido.

El hecho de que el proceso involucre muchas personas y sitios diferentes, hace que las variables preanalíticas sean difíciles de eliminar. Muchos individuos del personal es posible que no tengan el entrenamiento básico que les proporcione la información necesaria de aquellos factores que afectan los resultados de las mediciones, ellos desconocen, por lo tanto, las anomalías que pueden surgir con la manipulación impropia de las muestras. (11)

La siguiente información establece los procedimientos para minimizar el efecto de los errores preanalíticos y nos hará tomar conciencia de la necesidad de proporcionarle al paciente confort y seguridad.

2.1 TOMA DE MUESTRA (11)

2.1.1 Área de toma de muestra

El ambiente general y los alrededores pueden influenciar la calidad de los resultados sobre los fluidos del cuerpo; el estrés en un paciente ansioso puede dar como resultado que las concentraciones de los constituyentes sanguíneos se alteren. Por eso es importante tener un ambiente agradable y razonablemente tranquilo, callado y que tenga ciertas comodidades que le permitan al paciente relajarse antes de que se tome la muestra.

Esas comodidades estarán provistas en un área aislada de otros pacientes, esto con el fin de permitir que la toma sea fácil y convenientemente tomada, con un mínimo de inconvenientes para la persona que va realizar la toma y un mínimo de estrés para el paciente.

La *sala de recepción* debe proporcionar un área en la que el paciente pueda lavarse antes de la toma de muestra y evitar así la contaminación con microorganismos. Esta área también servirá al personal encargado de tomar la muestra para remover inmediatamente cualquier contaminación con material potencialmente infeccioso.

Las comodidades incluyen un *sanitario* para el uso general de los pacientes y que sea adecuado para la colección de orina y muestras fecales. Es importante adecuar un sanitario para pacientes incapacitados incluyendo aquellos que utilizan silla de ruedas.

Se necesita una *cama* para cuando se requiera de una evaluación en la que el paciente deba estar recostado. La postura del paciente afecta la concentración de ciertos constituyentes y puede ser importante para la conveniente toma de algunos tipos de muestra.

Es necesario tener un *área de recuperación* para pacientes que requieran descanso después de la toma de muestra.

Es conveniente tener también un *área privada* para entrevistar al paciente y obtener todos los datos relacionados a la identificación del paciente, detalles como: edad, sexo, terapia farmacológica, tipo de muestra y peso del paciente.

2.1.2. Equipo y material

Es adecuado tener una *silla de flebotomía* para el confort del paciente y con un diseño adecuado para el fácil acceso del flebotomista al paciente. El descanso para el brazo podría ser ajustable en altura y ángulo de inclinación, de modo que pueda lograrse la mejor flebotomía para cada paciente.

El área debe estar equipada con el material técnico necesario para la colección de cualquier tipo de muestra. Para la colección de sangre el material es listado en la tabla 2.1.1.

Para el personal que toma la muestra debe haber a su disposición *guantes, lentes protectores y batas*.

Debe existir un *manual de procedimientos* indicando la naturaleza de la muestra, tipo de tubo, el anticoagulante o preservativo según el procesamiento futuro de la muestra, los requerimientos mínimos de volumen, aspectos de la preparación del paciente, postura requerida durante la toma y cualquier cuidado en la manipulación o precaución.

La solicitud del examen deberá acompañar a cada muestra y esta a su vez, deberá ir correctamente marcada o numerada para su correcta identificación.

En cualquier sitio donde se tome la muestra será conveniente tener los utensilios ordenados en una *mesa de ruedas*.

2.1.3 Identificación del paciente.

La correcta identificación del paciente es esencial. La persona responsable para coleccionar la muestra debe asegurarse de que el paciente es quien está nombrado en la solicitud, para ello preguntará siempre al paciente su nombre completo y alguna otra forma de identificación inequívoca (fecha de nacimiento, dirección, número de afiliación, etc.)

TABLA 2.1.1 MATERIAL PARA LA COLECCIÓN DE SANGRE (11)

- Lancetas estériles para la punción cutánea; tubos capilares (Con el anticoagulante apropiado), sellos para cualquier tipo de contenedor de muestra.
 - Agujas estériles disponibles en los siguientes diámetros: 0.6 mm a 1.2 mm o 1.65 mm (23G a 18G o 16G), empacados en contenedores individuales codificados con colores diferentes de acuerdo al diámetro.
 - Jeringas plásticas estériles de capacidades apropiadas para la colección de sangre
 - Contenedores para diferentes propósitos para tubos de muestras, para desechos, para tubos con anticoagulantes o preservativos, etc (los tubos que contienen anticoagulante líquido deben almacenarse a 4°C).
 - Torniquetes de fácil liberación, esfigmomanómetro.
 - Desinfectantes para la piel, por ejemplo gasas con isopropanol 600 mL/L (60% (v/v)) para uso general; gasas con gluconato de clorhexidina 5g/L en isopropanol 760 mL/L (Hibitane[®]) para cultivo de sangre.
 - Desinfectante para usarse en caso de derrames, por ejemplo, solución de hipoclorito 10g/L preparada en el instante (Existen tabletas de hipoclorito estables para una rápida y segura preparación).
 - Contenedores para desechos como lancetas, agujas y jeringas, diseñados de acuerdo a los requerimientos de seguridad locales.
 - Bolsas plásticas con cierre automático.
 - Etiquetas de "Alto Riesgo" para los contenedores de muestras que se sospecha son altamente infecciosas como muestras con hepatitis B o HIV
-

2.1.4. Identificación de la muestra y forma de solicitud.

Es importante etiquetar todos los contenedores de la muestra, las etiquetas deberán ser del tipo que se adhiere en condiciones de refrigeración o congelamiento y la tinta resistente al agua.

Estas etiquetas deben diseñarse de modo que incluyan información básica del paciente y fecha de la toma de muestra, incluso podría especificar el metabolito o sustancia que va a ser medida.

Para muestras infecciosas será necesario una etiqueta que indique alto riesgo.

2.1.5 Punción venosa.

El procedimiento está descrito en el standar de la ECCLS (European Council of Clinical and Laboratory Standardization). Este procedimiento puede seguirse dondequiera que se colecte la muestra.

Los siguientes puntos requieren atención especial:

- Tranquilidad del paciente
- Posición del paciente
- Cierre de la mano del paciente. Las venas pueden hacerse más prominentes y más fácil de penetrar cuando el paciente forma un puño. El ejercicio vigoroso de la mano

(bombeo) no es recomendable porque este puede provocar el cambio en la concentración de ciertos componentes sanguíneos, por ejemplo del lactato.

- Luego de asear el sitio de la venipuntura con isopropanol (60% v/v), el sitio puede secarse con una gasa estéril para minimizar la contaminación de la muestra y evitar el dolor al momento de que la aguja penetre la piel.
- El uso del torniquete aumenta la distensión de las venas y facilita su localización. Su uso está contraindicado, sin embargo, para constituyentes que se afectan con la hemoconcentración, por ejemplo, concentración de proteínas, enzimas, calcio, lactato, hemoglobina y cualquiera que esté unido a proteínas o componentes celulares. El torniquete no debe aplicarse por más de un minuto antes de la toma de la sangre venosa. Este debe liberarse tan pronto como la sangre se vea correr por la jeringa o tubo según sea el caso. Si el torniquete es aplicado por un periodo prolongado durante la selección del sitio de la punción, este debe retirarse y volverse a aplicar después de 2 minutos para eliminar cualquier efecto de hemoconcentración antes de la punción.
- Debe elegirse una aguja de calibre apropiado: Por ejemplo, para determinar la concentración de células sanguíneas se necesita un diámetro mínimo de 8 mm (21G) para prevenir daño a las células; para volúmenes grandes de sangre se requiere un diámetro de 1.65 mm (16G). Se necesitan diámetros de .9 a 1.1 mm (20G o 19G) para la venipuntura en adultos.
- Si se usa un sistema aguja-jeringa, antes de ser evacuada la sangre debe retirarse la aguja y la sangre se libera suavemente y nunca permitir que se forme espuma.
- Si se desea obtener varias muestras de sangre usando una serie de tubos al vacío durante una sola punción, debe tenerse cuidado de evitar contaminación usando tubos en un orden definido. La secuencia recomendada es: sin aditivo o tubo separador de suero, tubo de coagulación, luego tubos con aditivo en el siguiente orden: citrato, heparina, EDTA, oxalato.
- Entre los muchos factores que pueden cambiar la composición de las muestras sanguíneas se hallan en la tabla 2.1.2 con ejemplos de componentes que pueden ser influenciados.

2.1.6. Punción cutánea.

El procedimiento estándar de la ECCLS para la colección de sangre por punción cutánea puede usarse.

Hay diferencias importantes entre la composición de sangre por punción cutánea y la que se obtiene por venipuntura. La sangre por punción cutánea es una mezcla de sangre principalmente de arteriolas y venulas más que de capilares. La composición de esta mezcla incluyendo la

proporción células rojas y plasma es determinada por algunos factores:

- La proporción de sangre arterial es mayor que aquella de sangre venosa porque la presión de arteriolas es mayor que en las venulas.
- La sangre venosa en la piel es más parecida a la sangre arterial que la sangre venosa en otras partes del cuerpo.
- La muestra por punción cutánea contiene fluidos inter e intracelulares.
- El estado de flujo sanguíneo a la piel en el momento de la toma de muestra puede variar.

Estas diferencias deben considerarse cuando se interpretan los resultados de cantidades químicas y hematológicas.

La colección de sangre por punción cutánea es especialmente útil cuando:

- * La venosección constituye un daño al paciente.
- * Las venas apropiadas no están disponibles
- * Las venas están reservadas para la administración de agentes terapéuticos.
- * El volumen de sangre requerido no justifica la venosección.
- * Las muestras de sangre arterial se requieren en pequeños volúmenes.

Tales circunstancias se aplican en:
Neonatos, infantes y niños.

• Adultos con quemaduras severas u obesidad; en terapia intravenosa que requieren monitoreo de cantidades en sangre o que requieren mediciones de gases sanguíneos y pH.

Si un paciente está deshidratado o tiene circulación periférica pobre por otras causas, por ejemplo shock, imposibilita obtener una muestra de sangre representativa especialmente por punción cutánea.

La punción cutánea puede obtenerse de:

- La superficie media y lateral de la planta del talón.
- La superficie del dedo grande del pie.
- La superficie distal de los dedos tercero o cuarto de la mano.
- El lóbulo de la oreja.

La punción del talón se recomienda en infantes de menos de un año y el dedo grande del pie en niños más grandes y adultos.

Un pobre flujo sanguíneo da como resultado cambios en la concentración de ciertos componentes, por ejemplo Fosfato y Potasio, debido a la contaminación con fluidos del tejido causado por la presión aplicada al obtener la muestra. Para obtener un adecuado flujo sanguíneo puede cubrirse el sitio con una toalla caliente a no más de 42°C por tres minutos.

TABLA 2 1 2 EJEMPLOS DE FACTORES QUE OCURREN DURANTE LA COLECCION DE SANGRE Y QUE INFLUENCIAN LA COMPOSICIÓN DE LA MISMA (11)

Factor	Ejemplos de componente afectados	Mecanismo
Tomiquete prolongado o forzado	Calcio (II) Células Fármacos (unidos a proteínas) Enzimas Hemoglobina Lípidos Proteínas Factores de la Coagulación Factores fibrinolíticos	Disminución de la fracción volumen de agua - sangre Activación de la Hemostasis
Hipoxia general Trauma	Lactato deshidrogenasa Fosfato Plaquetas Potasio	Contaminación con constituyentes de tejido
Limpieza inadecuada de la piel y secado (isopropanol) Diámetro de la aguja más pequeño vacío energético	Fosfatasa ácida Alanin-aminotransferasa Aspartato- aminotransferasa Bilirrubinas Células Lactato deshidrogenasa Fosfato Ion Potasio	Hemólisis
Impurezas exógenas Infusión Antisepsia	Amonio Amilasa Etanol Glucosa Iones inorgánicos Microbios Proteína	Contaminación
Muestreo muy lento Anticoagulante inapropiado Mezclado inadecuado	Factores de la Coagulación Degradación del Fibrinógeno Plaquetas	Proceso hemostático

2 1.7. Precauciones especiales para evitar efectos sobre los resultados de las cantidades analíticas.

Ø El sitio debe limpiarse con isopropanol (60% v/v) y luego secarse totalmente con una gasa estéril o con aire antes de la punción. El alcohol residual causa rápida hemólisis

y puede permitir resultados incorrectos en algunas circunstancias. El uso Povidone-iodo (USP XXI), puede provocar una aparente elevación de los niveles de uratos y fosfato.

- ◊ Después de que el sitio ha sido preparado y puncionado, la primera gota de sangre, la cual contiene fluidos del tejido, deberá descargarse sobre un material seco absorbente.
- √ En seguida a la toma de muestra, los tubos en los que se ha colocado la muestra deben sellarse con tapones que existen comercialmente para este propósito.
- ◊ Cuando la sangre se colecta para mediciones de pH o gaseometrías, las muestras deben colocarse en tubos de vidrio, heparinizados y la sangre no debe contener burbujas de aire. Inmediatamente después de sellar el tubo, colocarlo en un mezclador o agitador. La sangre se mezcla suavemente moviendo el magneto a lo largo del tubo. Cuando el análisis no sea inmediato, la muestra puede ponerse en agua con hielo cuidando que el agua no contamine la muestra.
- ◊ La sangre colectada en tubos que contienen anticoagulante deben invertirse por lo menos 10 veces suavemente.
- ◊ Los tubos deben etiquetarse individualmente para evitar errores de identificación.

2.1.8 Manejo general de muestras.

Todas las muestras son potencialmente infecciosas y deben tomarse precauciones para lograr la seguridad del operador, de otro personal y de pacientes, aún cuando no sea obvio o evidente el riesgo. Debe tenerse cuidado de no contaminar ya sea los contenedores o cualquier parte del ambiente con la muestra. Si ocurriera un derrame debe limpiarse inmediatamente con un desinfectante apropiado. Si se percibe un riesgo de infección, el contenedor de la muestra debe etiquetarse como alto riesgo, se colocará en una bolsa con la etiqueta de alto riesgo también.

En la mayoría de las ocasiones la muestra va acompañada (físicamente) de la solicitud del examen para indicar que la muestra corresponde a esa solicitud y pueden surgir derrames de la muestra en la solicitud, lo cual debe evitarse, para ello deben tenerse métodos de identificación de muestras y solicitudes de modo que el contenedor de la muestra y la solicitud puedan estar separados y no haber confusiones o extravíos.

El intervalo de tiempo entre la colección de la muestra y la medición debe ser lo más corto posible debido a los niveles de componentes lábiles, por ejemplo: Glucosa, que puede reducirse rápidamente.

La evaporación de las muestras podría ser evitada tapando el contenedor.

Si la muestra no va a ser medida inmediatamente, es necesario un preservativo, por ejemplo, Fluoruro para

inhibir la acción de enzimas glucolíticas antes de la medición de glucosa o ácido en orina colectada de un periodo de 24 horas.

Debe tenerse cuidado para prevenir contaminación con otros materiales como fluidos intravenosos. En muchos procedimientos se utilizan volúmenes muy pequeños de muestra y se miden concentraciones muy pequeñas de sustancia, en tales casos puede surgir la contaminación de la muestra tan solo con el contacto de los dedos con los tubos y tapones.

Si la muestra no va a ser medida inmediatamente, debe almacenarse a una temperatura apropiada. Normalmente puede conservarse frío de 2 a 6°C, pero esta temperatura puede inhibir la viabilidad de algunos microorganismos, componentes intracelulares, por ejemplo, ion potasio puede agotarse aún a bajas temperaturas.

Si la muestra se transfiere a otro contenedor antes de ser medido, ese recipiente debe marcarse claramente con la identificación del paciente y tipo de muestra, fecha de la colección, cantidad a medirse, indicación de alto riesgo, etc.

Cuando sea posible, el resto de la muestra debe retenerse de 2 hasta 7 días para otras investigaciones posibles o para comprobación del resultado por un laboratorio central.

2.1.9. Manipulación y procesamiento de muestras de sangre.

- Mantenimiento de los tubos de sangre seguramente tapados. Ciertos resultados podrían ser inexactos si el tapón es removido prematuramente. Manteniendo el tubo seguramente tapado también se elimina la posibilidad de contaminación de la muestra o del ambiente y se previene la evaporación.
- Los tubos de sangre deben mantenerse en una posición vertical con el tapón hacia arriba no horizontal. La posición vertical reduce la agitación del contenido de los tubos y en este caso evita la hemólisis. Así mismo el tapón no puede contaminarse con material infeccioso y es menos probable que la sangre salga del tubo por accidente.
- La exposición a la luz provoca descomposición de ciertos componente, bilirrubinas en particular. En estos casos debe protegerse la muestra de la luz, por ejemplo con papel aluminio o usar un envase color ámbar.
- La hemólisis de la sangre puede evitarse. La hemólisis puede ocurrir por el trauma causado por agujas de calibre fino, por vaciar rápidamente la sangre de la jeringa, por contaminación con agentes antisépticos, por un mezclado vigoroso, por dejar la muestra mucho tiempo antes del análisis, o remover células. Si hay hemólisis visible, no debe hacerse la medición de concentraciones celulares.

- Si se requiere plasma de una muestra de sangre debe añadirse un anticoagulante. El anticoagulante particular dependerá del procedimiento que se efectuará y las instrucciones escritas dadas. Si el anticoagulante está presente en los contenedores de la muestra debe agregarse siempre la cantidad de muestra correcta. El contenedor debe invertirse suavemente por lo menos 10 veces inmediatamente para permitir el mezclado. El uso de un anticoagulante inadecuado, una concentración inadecuada o un mezclado inadecuado puede afectar los resultados, por ejemplo, el excederse de EDTA causa concentración y cambios degenerativos en las células rojas y leucocitos y desintegración de plaquetas.
- Si se requiere suero o plasma, la centrifugación de la sangre es necesaria. Esta debe desarrollarse de acuerdo a las instrucciones que indican la aceleración (gn) (fuerza centrífuga) necesaria y tiempo requerido sin cambios rápidos en la frecuencia de rotación. De otro modo puede ocurrir hemólisis.
- Cuando las muestras son tomadas sin anticoagulante, el suero se obtiene permitiendo que el tubo permanezca por lo menos 20 min. a temperatura ambiente para que ocurra la formación del coágulo. Este tiempo puede extenderse de 30 a 60 min. si la muestra está a temperatura de 2 a 8°C.
- Cuando la colección contiene un activador de la coagulación, el tiempo mínimo de espera antes de la centrifugación de la muestra puede ser 5 min. (trombina) ó 15 min. para partículas de vidrio o sílica.
- Los tubos que contienen anticoagulante pueden ser centrifugados luego de la colección.
- Todos las muestras para suero o plasma pueden mantenerse a temperatura ambiente y centrifugarse dentro de los siguientes 30 min. de la toma de muestra.
- El procedimiento recomendado para la centrifugación en muchas mediciones es 5 a 15 min. a 1000 a 1500 g. Las recomendaciones de los fabricantes para diferentes tipos de tubos podrían seguirse. La centrifugación prolongada puede causar calentamiento y deterioro de la muestra.
- No debe centrifugarse la muestra de sangre por más de una vez. Usando una pipeta Pasteur remover el suero o plasma en un tubo apropiadamente etiquetado. No debe pipetearse con la boca. Tomando más suero o plasma de una centrifugación de la muestra primaria puede dar resultados inexactos.
- Después de la centrifugación, suero o plasma podría separarse de las células dentro de 60 min., pero algunos componentes requieren separación en un período de tiempo más corto.
- Algunos tubos para la colección de sangre contienen un gel y un activador de la coagulación. Una vez centrifugados, esos tubos tendrán una barrera de gel

entre el suero y las células. El suero puede normalmente ser almacenado sobre la barrera del gel por las siguientes 48 horas dentro del tubo tapado, pero puede haber interferencias con ciertos procedimientos por ejemplo, métodos inmunológicos.

- La determinación del analito en suero separado o plasma debe hacerse en 1 hr. Si esto no es posible, la muestra puede ser refrigerada por no más de 48 hrs. Las muestras pueden permanecer por más de 48 hrs si se congelan a -15°C o menos.
- Todas las muestras que se mandan a un laboratorio central o de referencia deben remitirse de acuerdo con las instrucciones del laboratorio.

2.1.10. Factores de interferencia.

1) El estado dietético del paciente es importante para la sustancia que va a ser medida. Muchas cantidades requieren que el paciente esté en ayuno de 12 horas para el procedimiento de medición e interpretación del resultado. Otras requieren una dieta especial o abstinencia de ciertos alimentos previamente al momento de la medición. Si este es el caso, se proporcionarán al paciente las instrucciones claras orales y escritas, y se verificarán antes de la toma de la muestra. Ejemplos de componentes sanguíneos afectados se encuentra en la tabla 2.1.3.

2) De igual manera la ingesta de alcohol o fumar produce resultados erróneos para algunas sustancias y deben darse las instrucciones adecuadas antes de obtener la muestra.

3) El estrés puede afectar los niveles de muchos constituyentes de los fluidos del cuerpo, el paciente debe relajarse y quedar tranquilo en el momento de la toma de muestra. Si el paciente está agitado puede necesitar sentarse o acostarse por 15 min. antes de obtener la muestra.

4) El ejercicio vigoroso dentro de los 3 días previos a la toma de muestra puede influenciar ciertas cantidades, por lo tanto debe evitarse. El ejercicio ligero no debería hacerse momentos antes de la toma de muestra, pero si no puede evitarse debe dejarse pasar 10-30 min. antes de tomar la muestra.

5) Muchos constituyentes de fluidos del cuerpo siguen ritmos circadianos y es necesario tomar la muestra a horas determinadas del día. Por la mañana entre las 7:00 y 9:00 se recomienda el muestreo. Pero si no es posible en este horario debe anotarse y tomarse en cuenta para la interpretación de resultados. (11, 12, 13)

6) La farmacoterapia es la causa más frecuente de resultados erróneos y para algunas cosas debe discontinuarse un periodo antes de la toma de muestra. La muestra debe tomarse antes de comenzar la terapia o restablecerla. Deben darse al paciente instrucciones orales y escritas previamente.

7) La postura del paciente inmediatamente antes y durante el muestreo es importante ya que hay alteraciones en los constituyentes de fluidos corporales debido a la hemoconcentración o hemodilución. Los valores de algunas cantidades pueden variar si el paciente estuvo sentado o recostado antes de la toma de muestra. (14, 15)

8) Los procedimientos médicos tales como masajes palpación o inyección, puede causar cambios en constituyentes sanguíneos y deben enterarse antes de la toma de muestra. Si el paciente ha recibido infusiones intravenosas debe tenerse cuidado de no tomar la muestra de la misma extremidad.

9) Si una serie de muestras están siendo tomadas, por ejemplo para monitorear un tratamiento, es importante que el tiempo de la toma se estandarice en relación a la terapia. Esto es importante si los niveles de fármaco circulante están siendo medidos y se requieren condiciones iniciales estables o constantes. Deben proporcionarse procedimientos escritos.

10) El tiempo de muestreo para cualquier investigación debe elegirse con cuidado. Una muestra de sangre puede ser arterial, venosa o arteriolar; los resultados de algunas cantidades difieren dependiendo de donde sean tomadas.

Los pacientes pueden ser colocados en posición cuidadosa para colectar la muestra correctamente o dar instrucciones claras escritas y orales para muestras que ellos mismos colecten, por ejemplo orina de 24 horas.

TABLA 2.13. EJEMPLOS DE FACTORES FISIOLÓGICOS QUE INTERFIEREN CON LOS RESULTADOS DE CIERTAS CANTIDADES EN SANGRE Y ORINA DE LOS PACIENTES. (11)

Factor	Ejemplo Sistema-Componente afectado.	Recomendación
Toma de alimentos	P- Fosfatasa alcalina P- Carbamida (= urea) B- Glucosa P- Fosfato P- Triglicéridos P- Uratos	Muestrear después de 12 horas de ayuno
Ayuno prolongado	P- Bilirrubinas P- Factores de la coagulación Pt- Tolerancia a la Glucosa (oral)	3 días de dieta antes del muestreo
Etanol	P- Amilasa B- Glucosa P- gamma-	Reducir el consumo de alcohol

Fumar	<p>Glutamyltransferasa</p> <p>P- Urato</p> <p>P- Amilasa</p> <p>B- Carboxihemoglobina</p> <p>P- colesterol</p> <p>B- Glucosa</p> <p>Pt- Tolerancia a la Glucosa (oral)</p> <p>P lipasa</p>	Reducir el consumo de cigarro
Estrés	<p>P- Catecolaminas</p> <p>B- Células</p> <p>P- Factores de la coagulación</p> <p>P- Cortisol</p> <p>B- Glucosa</p> <p>P- Prolactina</p> <p>P Somatotropina</p>	Muestrear después del descanso o relajación
Actividad muscular	<p>B- Células</p> <p>P- Factores de coagulación</p> <p>P- Creatin cinasa</p> <p>B- Glucosa</p> <p>P- Lactato</p> <p>P- Lactato deshidrogenasa</p> <p>P- Ion Potasio</p>	No hacer esfuerzo exhaustivo por 3 días
Ritmos circadianos	<p>B- Células</p> <p>P- Cortisol</p> <p>P- Fibrinógeno</p> <p>B- Glucosa</p> <p>Pt- Tolerancia a la Glucosa (oral)</p> <p>P- Hierro (III) (unido a transferrina)</p> <p>P- Ion Potasio</p>	Muestrear entre las 07 00 y 09:00

2.2 EQUIPO.

El equipo de laboratorio no se usa directamente en el análisis clínico, es decir en el método analítico, pero juega un papel muy importante en la exactitud y precisión de los resultados. Un baño de agua que debe mantener una temperatura de 37°C uniformemente en toda la tina puede dar lugar a resultados inexactos si se desvía de esa temperatura, especialmente en mediciones enzimáticas. De la misma manera un termómetro defectuoso producirá resultados inexactos en todos los casos en que este se use. Las neveras podrían no proteger del deterioro de los reactivos si no está a la temperatura requerida. El equipo de laboratorio requiere de cuidados y atención para dar un nivel máximo de desempeño. (16)

Es de suma importancia calibrar este equipo periódicamente para asegurar que se tienen las condiciones indicadas para el desarrollo del método analítico. Por lo tanto es necesario conocer el significado de la palabra calibración:

Definiremos calibración como una serie de operaciones que establecen, bajo condiciones específicas, la relación entre los valores obtenidos ya sea, de un instrumento, un sistema de medición, un material de referencia o de una medición material* y los valores de una cantidad mensurable, llevadas a cabo por un estándar de medición. Un estándar de medición es una medida que sirve como referencia para dicho material, instrumento o sistema de medición.

Es importante que todos los datos de calibraciones sean anotados en registros, ya sea en el propio manual de calidad o como libretas de registros o bitácoras para cada equipo, instrumento o material de laboratorio que requiera calibración.

A continuación daremos algunos consejos para el mantenimiento y mejor uso del equipo más común del laboratorio.

* Una medición material es la obtención por un instrumento de medición que reproduce permanentemente durante su uso, uno o más valores de una cantidad determinada; por ejemplo, una balanza, la regla, una medida de capacidad de volumen. (17)

2.2.1 Termómetros de líquidos en vidrio.

Los termómetros de mercurio en vidrio son aceptados para su uso en el laboratorio clínico porque miden temperaturas entre -10°C y 350°C. Pero es bueno tener además termómetros de alcohol o pentano en vidrio para medir temperaturas entre -10°C y -50°C. (16)

Para elegir un termómetro deben tenerse en cuenta los siguientes criterios.

1) El diámetro del capilar no debe ser muy pequeño para que el líquido dentro se mueva continuamente y no de forma

espasmódica, además que es menos probable que se rompa al ascender el líquido por la columna.

2) El bulbo no debe ser muy grande para que no soporte demasiado mercurio (u otro líquido) sobre sus paredes delgadas y además no elimine grandes cantidades de calor del baño. (16)

La exactitud de los termómetros depende de tres factores:

1) Condiciones de la columna. Los termómetros con una columna de líquido rota, dan resultados completamente erróneos y no deben usarse nunca. Cuando no hay continuidad en la columna ésta puede regenerarse enfriando la columna para arrastrar todo el líquido al bulbo. Los termómetros con columnas rotas o con líquido condensado en la parte superior del pequeño bulbo deben desecharse.

2) Cualidades térmicas del vidrio. Un termómetro está construido con una clase especial de vidrio que tiene la capacidad de volver a su volumen original rápidamente después de una exposición a altas o bajas temperaturas, a pesar de estos cuidados para obtener calidades térmicas buenas, algunos termómetros experimentan un cambio en el volumen del bulbo, lo cual da resultados de lecturas erróneas. por lo tanto, esta calidad debe probarse al utilizar un termómetro nuevo en el laboratorio en los primeros meses de su adquisición.

3) Exactitud de la calibración. Todos los termómetros de laboratorio deben calibrarse por medio de un termómetro de referencia como el que suministra el National Bureau of Standards.

Resulta más fácil calibrar un termómetro a una sola temperatura. Por ejemplo el termómetro que se utiliza para controlar el baño de agua a 37°C debe calibrarse a 37°C. Otro que controle un baño de agua a 30°C se calibrará a 30°C. Por otro lado el mismo termómetro debe calibrarse a distintos puntos de interés (el error a 30°C no será el mismo a 37°C o a 65°C sobre el termómetro). El método aceptado es calibrar con un menisco creciente, esto es, la calibración empezará con una temperatura más baja; por ejemplo si se quiere calibrar a 37°C, la lectura del termómetro en principio debe ser más baja de 37°C y entonces la columna de mercurio se eleva lentamente hasta la temperatura requerida. Debe tenerse un registro de calibración para cada termómetro y tenerlo accesible junto a cada termómetro, o pueden numerarse los termómetros y registrarse en un libro. (16)

2.2.1.1. ATENCIONES ESPECIALES Y CORRECTO USO DE TERMÓMETROS DE LÍQUIDO EN VIDRIO.

1) Usar los termómetros en posición vertical, ya que han sido calibrados en esa posición.

2) En el momento de la medición sostener el termómetro en posición vertical por el anillo del tope en lugar de

colocarlo dentro del baño, de otra forma el bulbo soportará todo el peso del termómetro.

3) Cuando se miden temperaturas altas, el termómetro deberá enfriarse antes de medir una temperatura baja, esto para obtener una medida exacta.

4) Después de cada medición permitir que el termómetro regrese a la temperatura ambiente en posición vertical antes de guardarlo.

5) Recalibrar los termómetros como mínimo dos veces al año por medio de un termómetro de referencia.

6) Sumergir el bulbo completamente en el baño antes de hacer las lecturas.

7) No usar termómetros con columnas de líquido rotas.

8) No usar termómetros con líquido acumulado en el bulbo fíral.

9) No dejar un termómetro en un baño que tienda a solidificar o que se encuentre a una temperatura más alta que el límite del termómetro.

10) Guardar el termómetro soportándolo en posición vertical por el mango del tope.

11) Obtener la lectura después de que el líquido del termómetro se haya estabilizado.

12) No exponer los termómetros a altas o bajas temperaturas innecesariamente.

13) Anotar en registros las temperaturas que se leen de los termómetros para su control diario. (16)

2.2.2. Neveras

Las neveras tienen la finalidad de guardar reactivos o sangre a una temperatura de 4°C para retardar el crecimiento microbiano o el deterioro. Pero muchas veces una nevera ajustada a 4 a 8°C se abre muchas veces al día para tomar o reemplazar reactivos y la temperatura dentro puede estar tan alta como 12 a 15°C, dependiendo de la frecuencia del uso. Esto puede solucionarse si una parte de los refrigeradores se utiliza para almacenar reactivos por largo tiempo y la otra parte para guardar reactivos de análisis de rutina.

Debe anotarse la temperatura diaria de todas las neveras en un registro al final del día. Las neveras que se abren varias veces a lo largo del día deben ajustarse a temperaturas más bajas para que la temperatura no sobrepase los 8°C.

Los reactivos más utilizados deben colocarse cerca de la puerta y los menos frecuentes situarlos al fondo de la nevera. (16)

2.2.3. Congeladores

Los requerimientos para los congeladores son los siguientes:

- 1) Mantener la temperatura por debajo de -20°C y preferentemente a -30°C .
- 2) Mantener en el congelador algún dispositivo que pueda indicar cualquier falta de refrigeración.
Por ejemplo: se llenan pequeños frascos de plástico con una solución coloreada (como una disolución de CuSO_4), luego marcarlos y congelarlos. Se colocan con la tapa hacia abajo en diferentes lugares del congelador con la disolución coloreada congelada en el final del frasco. Cuando se ha producido un deshielo, la disolución se licúa y fluye hacia abajo, por lo tanto, una disolución coloreada en la parte más baja del frasco indica un deshielo.
- 3) Reservar algunos congeladores para almacenamiento a largo plazo y usar un número de identificación para guardar productos usados diariamente para análisis de rutina.
- 4) Colocar un termómetro en el congelador y anotar la temperatura diariamente.
- 5) Realizar descongelamientos a intervalos regulares y cuando se requiera como parte del programa de mantenimiento. (16)

2.2.4. Baños de incubación

Puntos a considerar para los baños de agua.

- 1) La temperatura del baño de agua debe especificarse y los límites de tolerancia marcarse en éste.
- 2) Dejar un termómetro en el baño de agua.
- 3) Anotar la temperatura del baño de agua cada día en una bitácora o libro de registros
- 4) Debe marcarse el nivel de agua apropiado; controlar el nivel una vez a la semana y llenar con agua destilada reciente hasta la marca cuando sea necesario.
- 5) Limpiar el baño una vez al mes y llenarlo con agua destilada reciente hasta la marca, debe limpiarse también cuando algo se derrame o cuando se rompa un tubo dentro. (16)

2.2.5. Bloques de calefacción.

Los bloques de calefacción son bloques con agujeros de diferentes tamaños para acomodar tubos de ensayo. El equipo calienta el bloque y se supone que lo mantiene a temperatura constante.

Estos bloques tienen las siguientes ventajas sobre los baños de agua:

- 1) Son compactos y no ocupan tanto espacio como los baños de agua.
- 2) Como no utilizan agua se evita la tarea de cambiarla ya sea por mantenimiento o por causa de algún derrame. El entorno permanece limpio todo el tiempo.
- 3) Los tubos de ensayo permanecen secos después de calentarlos.
- 4) Su precio es competitivo con el de los baños de agua.

Las desventajas son:

- 1) La temperatura varía con la situación del agujero: los de la periferia tienen temperaturas más bajas (hasta 1 a 1.9°C) que los agujeros centrales.
- 2) Varía la temperatura si están algunos agujeros desocupados, probablemente porque hay mayor pérdida de calor por el bloque cuando algunos agujeros están vacíos.
- 3) Si se utilizan diferentes volúmenes la temperatura es mayor a volúmenes pequeños.
- 4) Estos baños no pueden mantener la temperatura constante en cada ciclo de calentamiento.

Es evidente que los bloques de calentamiento no deben usarse en las pruebas donde se requieren las mismas temperaturas entre los patrones y las muestras desconocidas y donde se requiera una temperatura exacta como el análisis de enzimas. (16)

2.2.6. Centrífugas.

Las centrífugas tienen 3 usos principalmente: (1) Obtención de suero o plasma, (2) Recogida de complejos antígeno-anticuerpo en radioinmunoensayo y (3) ensayos de aglutinación.

En las reacciones de aglutinación y la separación cuantitativa de pequeñas cantidades de precipitado, como en radioinmunoensayos, las revoluciones por minuto o la fuerza centrífuga pueden influir en la calidad del análisis. Las centrífugas usadas para estos propósitos deben controlarse para la velocidad deseada, como mínimo una vez al mes. En algunos casos, puede ser la fuerza centrífuga relativa (RFC) o el valor de g el que se recomienda para un procedimiento. A partir del valor en revoluciones por minuto, pueden calcularse RFC o g usando la siguiente fórmula:

$$RFC = g = rxn^2 \times 1.18 \times 10^{-5}$$

donde r = radio de rotación en centímetros

n = velocidad de rotación en revoluciones

por minuto. (16)

La medida de velocidad en las centrífugas debe medirse con un estroboscopio, un fototaquímetro o un taquímetro.

El estroboscopio es el más apropiado para medir la velocidad y es tan caro como bueno. Funciona relampagueando rápidamente una luz de alta intensidad un número medido de veces por segundo. Se hace una marca en el eje de la centrífuga y se ve con los relámpagos del estroboscopio, deben apagarse todas las luces especialmente las fluorescentes, que pueden interferir en la medida. La velocidad de la centrífuga es igual a la velocidad de los destellos, como indica el estroboscopio cuando la marca puesta en el eje se encuentra estacionaria.

El fototaquímetro se utiliza poniendo una cinta reflectante en la parte de arriba de la centrífuga. La luz reflejada es captada por el fototaquímetro el cual integra

los destellos producidos por la cinta reflectante durante la rotación y da una lectura en revoluciones por minuto. Este aparato es más económico que el estroboscopio y se obtienen lecturas con solo un 5% de error.

El taquímetro es el menos caro pero el más inconveniente. Cuando se coloca en el eje un taquímetro da una lectura directa en revoluciones por minuto o en revoluciones. La desventaja es que este aparato ejerce un peso sobre el eje lo que hace que gire más lento, de lo que realmente gira, esto es, la velocidad sin el peso es más alta. (16)

Si una centrífuga tiene un reloj que se usa en los procedimientos, debe ser controlado también con un cronómetro una vez cada dos meses, además de las comprobaciones de funcionamiento, deben seguirse las recomendaciones de mantenimiento hechos por el fabricante. (16)

2.2.7. Balanzas analíticas.

La pesada es una operación del laboratorio clínico muy crítica, especialmente si los patrones se preparan en el propio laboratorio.

Al usar la balanza deben tenerse las siguientes precauciones.

1.- Ver que la balanza esté nivelada. Debe estar en una mesa donde no pueda haber vibraciones y sin corrientes de aire o ventiladores.

2.- El platillo de la balanza así como el interior deben estar limpios.

3.- Evitar las oscilaciones durante la pesada y cuando estas ocurren deben detenerse suave y cuidadosamente.

4.- No añadir más materia al platillo hasta que la balanza pare.

5.- Poner el objeto que se desea pesar al centro del platillo

6.- Añadir los pesos sistemáticamente, en orden decreciente de magnitud y añadiendo un peso mayor al requerido.

7.- No exceder el límite de peso de la balanza.

8.- No pesar objetos calientes ya que estos pueden generar corrientes de aire en el interior y dar como resultado lecturas inexactas.

Los objetos fríos pueden también condensar humedad, lo cual puede incrementar el peso.

9.- No pesar sustancias que humeen o absorban humedad.

10.- Evitar frotar o rozar el material en el que va a pesarse con objeto de no generar electricidad estática que puede originar atracciones o repulsiones entre distintas partes de la balanza, dando como resultado lecturas inexactas.

11.- En el momento de hacer la pesada debe asegurarse de que no haya nada sobre el pesasustancias o sobre el platillo.

12.- Mantener la balanza limpia y con la puerta cerrada después de usarla; mantenerla libre de polvo, usando una funda para la misma.

13.- Controlar las pesas y balanzas frente a pesas del National Bureau of Standards para su exactitud. (16)

2.2.8. Rotadores y agitadores.

El control de la calidad en ellos es mínimo. Deben guardarse limpios y la velocidad y radio del tubo que gira debe medirse con los medios adecuados una vez cada 3 meses. Y por supuesto seguir las indicaciones de los fabricantes para su mantenimiento. (16)

2.2.9. Material de vidrio.

Las medidas en química clínica se requiere que sean exactas, ya sea de muestras o de reactivos. Para que los resultados sean válidos es necesario que el laboratorio posea vidriería volumétrica, la cual es verificada cada cierto tiempo. (16)

La tolerancia estándar del material de vidrio volumétrico se ha definido por dos grados de tolerancia: A y B. La tolerancia en material de vidrio B es el doble que del tipo A. El material volumétrico que se requiere para el laboratorio debe ser del tipo A. (7)

2.2.9.1 MATRACES.

Para matraces volumétricos de tipo A los límites de desviación fraccional aceptables son 0.2% para un matraz de 10 ml. (0.02 ml) y 0,025% para uno de 2 L (0.5 ml).

Para verificar el volumen nominal, el método es pesar la cantidad de agua pura contenida en el matraz hasta la marca y luego calcular el volumen a partir de la masa de agua, de su temperatura y su densidad. La temperatura estándar para verificar estos volúmenes es de 20 °C.

Para vidriería con capacidad mayor de 200 ml se utiliza una balanza con resolución de 0.01g. Para volúmenes menores debe ser de 0.001g. (16)

2.2.9.2. PIPETAS.

En el laboratorio se utilizan dos tipos de pipetas de vidrio, las pipetas volumétricas y las pipetas serológicas. Las primeras deben ser del tipo A y el volumen nominal se obtiene sin soplar la gota que permanece en la punta. Los límites de tolerancia de error fraccionales van de 0.2% en una pipeta de 10 ml a 0.6% en una de 1 ml. (16)

Las pipetas serológicas no son para medir volúmenes, solo se utilizan para tomar el suero ya se parado y no requieren de verificación, ya que prácticamente son desechables.

La calibración de las pipetas se hace pesando una solución de densidad conocida, que ha sido previamente medida con la pipeta. Puede usarse para este fin agua o

mercurio. El volumen real, medido en mililitros, se obtiene dividiendo el peso en gramos, por la densidad. (7,16,)

2.2.9.3. MICROPIPETAS.

Las micropipetas miden volúmenes de 1 μ l a 1000 μ l. Hay de varios tipos. Pueden ser de vidrio de contracción autoajustable, mecánicas, o de pistón con interfase de aire o desplazamiento positivo. Estas últimas pueden ser de volumen fijo o variable. Requieren de cuidados y verificaciones de volumen periódicos, así como cambios de la punta de teflón.

Las micropipetas se calibran pesando un volumen de mercurio medido con ellas y luego obteniendo el volumen real con los datos de densidad y peso en gramos. Debe utilizarse mercurio porque su alta densidad evita errores en el momento de pesar. (7)

2.2.9.4. PIPETORES.

Los pipetores son botellas acondicionadas con un dispositivo en la boca de las mismas para dispensar diferentes volúmenes y son muy útiles cuando se procesan cantidades grandes de muestras. Se verifican los volúmenes dispensados de igual manera que se hace con las pipetas. (7)

2.2 10. Lavado de material de vidrio.

La vidriería debe estar limpia. Para verificar que esté realmente limpia, en el último enjuague el agua debe moverse en una capa fina que cubre totalmente la superficie. Si la capa se rompe en gotas finas o no moja uniformemente la superficie del vidrio aún no está limpio.

Anteriormente se recomendaba el uso de una mezcla de ácido crómico en H_2SO_4 . Luego de lavar el material con esta mezcla debe enjuagarse unas seis veces con agua destilada, el último enjuague es con agua desionizada y luego dejar secar. Actualmente, se recomienda el uso de detergentes no iónicos que son fácilmente eliminables. (3)

2.3 INSTRUMENTACIÓN.

En el laboratorio de análisis clínicos los instrumentos analíticos juegan un papel muy importante, ya que la confiabilidad de los datos que suministran es parte vital de las mediciones hechas por el Químico Clínico. Por lo tanto, es una obligación conocer tanto como sea posible acerca de los instrumentos, las características, potencialidades, limitaciones y particularidades.

Los instrumentos en la actualidad son cada vez más complejos y la mayoría de los Químicos Clínicos más experimentados y estudiantes recién graduados tienen una brecha considerable para llenar entre lo que ha sido su entrenamiento académico y lo que encuentran en su práctica profesional. Los fabricantes de aparatos han puesto a disposición de los Químicos Clínicos un cúmulo de aparatos nuevos sensibles y eficaces que han extendido el espectro, la versatilidad y la precisión de los métodos analíticos, pero que exigen cuidados y mantenimiento preventivo diferente y novedoso. (7)

Los principios básicos de las medidas que incluyen el uso de instrumentos ya sean simples o muy complejos son los mismos. (3, 16)

2.3.1. Espectrofotómetros.

Todas las medidas espectrofotométricas se basan en la ley de Beer. Esto es, cuando la luz de una apropiada longitud de onda pasa a través de una solución coloreada, parte de esa luz es absorbida por la solución, y el resto es transmitida por la muestra hasta llegar a un detector. La proporción de luz que llega al detector se conoce como el % de transmitancia (%T) y se representa por la ecuación:

$$I_t / I_0 \times 100 = \%T$$

donde I_0 es la intensidad de luz que llega a la muestra. I_t es la intensidad de luz transmitida por la muestra. I_0 puede ser también la luz transmitida por un blanco, por ejemplo agua o el contenido total de la mezcla de reacción, excepto la muestra.

A medida que aumenta la concentración de la muestra el %T disminuye. La relación entre la concentración y %T no es lineal, pero si se gráfica el logaritmo del %T contra concentración se obtiene una recta. El término absorbancia se usa para representar el logaritmo del %T o $(-\log \%T)$. La absorbancia aumenta linealmente con la concentración:

$$A = abc = 2 - \log \%T$$

A= absorbancia

a= absorptividad, o coeficiente de extinción

b= longitud del paso de luz en centímetros

c= concentración

Usando esta fórmula se puede calcular la concentración de una sustancia, como sigue:

$$c = A / ab$$

La concentración dependerá entonces de la Absorbancia (A) la absorptividad (a) y la longitud del paso de luz (b). Para obtener la concentración con buena exactitud y precisión deben obtenerse medidas exactas de A, a y b. (3, 16)

Cada solución coloreada tiene un espectro de absorción característica que se establece midiendo la absorbancia a diferentes longitudes de onda. La longitud de onda a la cual se analiza una sustancia es generalmente, pero no siempre, aquella a la cual se obtiene la máxima absorbancia en algunas ocasiones se selecciona aquella que dé la mayor sensibilidad y que más se aproxime a la ley de Beer.

La ley de Beer es válida sólo cuando la fuente de luz del instrumento es monocromática o cuando se acerca a la monocromasia tanto como sea posible. (16)

La luz monocromática usada por los espectrofotómetros en el análisis, no es realmente una luz monocromática en el sentido estricto de la palabra, sino una mezcla de varias longitudes de onda con una cantidad máxima de luz de una longitud de onda. El ancho de banda indica el rango de longitudes de onda comprendidas en el rayo que aísla el monocromador. Cuanto más pequeño es el ancho de banda espectral mayor es la absorptividad y mejor es el análisis. Ya que la absorptividad es la única propiedad particular de una sustancia química o cromóforo que depende de la longitud de onda de modo que la absorptividad específica puede garantizarse sólo si se mantiene la exactitud en la longitud de onda. Sin embargo, cuando el ancho de banda espectral es demasiado estrecho, la luz que entra en la cubeta es muy débil y da lugar a un ruido de fondo que es indeseable, por tanto, muchos instrumentos tienen un ancho de banda óptimo fijado.

Los aparatos que tienen un ancho de banda estrecho tienen costos muy elevados, ya que la rejilla debe ser prácticamente perfecta, los elementos ópticos deben ser más precisos y el sistema de detección de luz debe ser más sensible. (16)

Existen otras interferencias en la medida de absorbancias, por ejemplo, la luz espúrea, que es cualquier luz dentro del espectrofotómetro que causa resultados erróneos. Esto incluye la luz que llega a la muestra, y que tiene una longitud de onda diferente a la que indica la graduación del monocromador, a la par que cualquier luz que llega al fotodetector por vía distinta a la deseada. La luz espúrea puede deberse a imperfecciones en la rejilla de difracción o en el prisma, a luz refractada por el sistema óptico o a fugas de luz y efectos de segundo orden. (3)

La resolución de un espectrofotómetro es otro factor importante; este hace referencia a la capacidad de un instrumento para detectar cambios de absorbancia que

ocurren dentro de límites estrechos de longitud de onda. Esta capacidad depende en gran medida del ancho de banda del instrumento. (3)

Tipos de espectrómetros.

Los espectrómetros disponibles para el uso en el laboratorio de química clínica (espectrómetros de absorción para el rango visible y ultravioleta cercano) varían considerablemente en su complejidad:

Espectrómetros de Absorción son clasificados en química clínica por el modo de selección de longitud de onda; filtro o monocromador). Los espectrómetros de filtro pueden estar provistos de una fuente de espectro continuo o con una fuente de radiación de espectro lineal, sin embargo es común en la práctica usar el término filtrofotómetro para instrumentos con una fuente de radiación de espectro continuo.

a) Espectrómetro con una fuente de radiación emitiendo un espectro continuo o una línea espectral diferente y con un monocromador selector de la longitud de onda de la radiación usada para el análisis de la muestra (más comúnmente conocido como espectrofotómetro).

b) Espectrómetro con una fuente radiante que emite una línea espectral continua o un espectro distinto y con uno o varios filtros selectores de la longitud de onda de la radiación usada para el análisis de la muestra.

i) Filtro espectrómetro con fuente de radiación de espectro continuo (Conocido más comúnmente como filtrofotómetro).

ii) Filtro espectrómetro con fuente de radiación de espectro lineal (término usado: fotómetro de espectro lineal). (17)

Configuración óptica.

1) Haz de luz simple. La muestra y la referencia son medidos consecutivamente en el mismo haz de luz.

2) Haz de luz doble. La muestra y la referencia son medidos en dos diferentes haces de luz, a la misma o a diferentes longitudes de onda. (17)

Fuente de radiación.

Ejemplo de tipos de fuentes de radiación usada en un espectrómetro son: tungsteno, vapor metálico o lámpara de Deuterio.

Rango espectral utilizable.

El rango espectral utilizable dentro del cual se realizan las mediciones espectrométricas se da de acuerdo a las especificaciones del fabricante.

Selección de la longitud de onda.

Para la espectrometría de absorción, la energía radiante, la cual pasa a través de la muestra puede ser elegida de la energía radiante emitida de la lámpara. La verdadera radiación monocromática no puede lograrse en la práctica y la energía radiante elegida consiste de una banda de ondas,

las estrechez de esa banda es un criterio importante para la calidad de un fotómetro. (17)

Modo de selección de la longitud de onda (tipo):
monocromador o filtro.

Un monocromador es un aparato o un instrumento que, con una fuente de energía apropiada, puede usarse para delimitar bandas continuas de energía electromagnética calibradas en términos de longitud de onda (en nm) o número de onda (en m^{-1}) dentro del rango espectral utilizable, por medio de una reja o prisma. Los filtros están diseñados para transmitir energía de una banda de longitud de onda preseleccionada. (17)

Celda.

Hay varios tipos de celdas: de embudo, de succión, de flujo a través de la celda; y de diferentes materiales: vidrio sintético, vidrio de cuarzo natural, vidrio óptico especial, poliacril, poliestireno. La geometría puede ser rectangular o cilíndrica. (17)

Calibración de la longitud de onda.

Es necesario calibrar la longitud de onda como mínimo una vez al mes. Esta puede hacerse usando un filtro de didimio en espectrofotómetros que tengan un ancho de banda espectral de 20 nm. Este filtro tiene una absorbancia máxima a 585 nm; para aquellos que tienen un ancho de banda de 2 a 8 nm, es útil un filtro de óxido de holmio que tiene una absorbancia máxima a 360 nm. (16)

Calibración de la absorbancia.

Se utilizan soluciones con absorbancias conocidas a ciertas concentraciones. Una solución de 500 mg de dicromato potásico ($K_2Cr_2O_7$) en un litro de H_2SO_4 , 0.01 N, debe dar una absorbancia de 0.535 ± 2 a 350 nm frente a un blanco de H_2SO_4 , 0.01 N; el dicromato potásico debe ser un material de referencia normalizado, secado durante toda la noche a $110^\circ C$ y enfriado a temperatura ambiente en un desecador. Algunas otras disoluciones usadas en medida de absorbancia son las siguientes:

1) Disolución de sulfato de cobre: 20,00 g de sulfato de cobre ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) + 10 ml de ácido sulfúrico concentrado, cuando se diluyen en 1000 ml, dan una disolución con las siguientes absorbancias a las longitudes de onda especificadas :

400 nm - 0,002 A

600 nm - 0,068 A

650 nm - 0,224 A

700 nm - 0,527 A

2) Disolución de sulfato de amonio y cobalto: 14,481g de sulfato de amonio y cobalto ($CoSO_4 [NH_4] SO_4 \cdot 6H_2O$) + 10 ml de ácido sulfúrico concentrado, cuando se diluyen en 1000 ml con agua de pureza analítica, dan una disolución con las absorbancias siguientes en las longitudes de onda especificadas:

400 nm - 0.012 A
450 nm - 0.077 A
500 nm - 0.163 A
550 nm - 0.077 A

3) Disolución de cromato potásico: 40 mg de cromato potásico (K_2CrO_4) en 1000 ml de hidróxido potásico 0.05 N 83,3g/litro), dan una disolución con las siguientes absorbancias en las longitudes de onda especificadas:

340 nm - 0.316 A
375 nm - 0.991 A
400 nm - 0.396 A
450 nm - 0.033 A

La absorbancia debe comprobarse una vez al mes; la longitud de onda debe calibrarse antes que la absorbancia.
(16)

2.3.2. Espectrometría de absorción atómica (aa).

Esta técnica está basada en el hecho de que casi todos los átomos metálicos permanecen en estado no excitado en la llama, por lo tanto, se les aplica la energía necesaria para lograr la excitación mediante una lámpara de cátodo hueco en forma de luz monocromática. Los átomos absorben esta energía y sus electrones pasan a un nivel de energía mayor. La cantidad de energía que se absorbe es proporcional al número de átomos y por lo tanto a la concentración de dicho metal.

Es una técnica muy sensible, los límites de detección están en el orden de 0.01 a 0.1 ppm. Se utiliza en el laboratorio para medir metales como Plomo, Litio, Cobre, Calcio, Magnesio y Zinc, ya sea en sangre, suero u orina.
(16)

2.3.3 Fotometría de emisión.

Se utiliza para medir Na y K en líquidos biológicos. En esta técnica se excitan los electrones de los átomos mediante la energía térmica de una llama. Los electrones de los átomos pasan a un nivel más alto de energía, luego, a medida que los electrones regresan a su nivel inicial emiten esa energía en forma de luz con una longitud de onda característica, siendo la intensidad de la luz proporcional a la concentración del elemento. Es una técnica muy sensible para Na y K, pero es inadecuada para los demás metales ya que no se excitan cuando son expuestos a la llama. (3)

2.3.4. Fluorómetros

La fluorometría es 1000 veces más sensible que la espectrofotometría, pero también es más sensible al error, ya que el error en las técnicas se multiplicará por 1000.
(16) Este tipo de mediciones es muy valioso en el análisis químico cuantitativo y la principal ventaja de la

fluorometría es la habilidad para obtener la longitud de onda deseada y confirmar la identidad del material comparando el espectro con el de un estándar si así se desea.

La técnica es más sensible pero hay muchos compuestos que no fluorescen. Usando absorbanza podemos medir concentraciones de una parte por 10^6 , mientras que por fluorescencia podemos medir concentraciones de una parte por 10^{12} .

La ecuación de la fluorescencia en soluciones diluidas es :

$$F_m = K I_0 E C d \phi$$

donde:

F_m = la fluorescencia medida

K = factor de amplificación del fotodetector (incluye ciertas constantes)

I_0 = la intensidad de la luz excitada

E = el coeficiente de extinción del compuesto (constante para una longitud de onda I_0 .)

C = la concentración

d = es el paso de luz (una constante)

ϕ = el quantum (una constante)

Otra de las ventajas es que la fluorometría es muy versátil, esto es, si la concentración es muy pequeña, puede aumentarse el factor de amplificación K o la intensidad de la luz I_0 . Este hecho se puede usar para ajustar la sensibilidad del instrumento a las concentraciones deseadas como en cualquier técnica. Las impurezas en los reactivos, agua o recipiente de vidrio pueden introducir un error en el análisis fluorométrico a causa de la posible fluorescencia de las mismas. Los reactivos usados deben ser de la mejor calidad alcanzable y estar el recipiente escrupulosamente limpio y exento de detergente. Cuando se tiene un lote de reactivos, patrones y disolventes deben comprobarse para la fluorescencia antes de ponerlos en uso. (3)

Existen impurezas como cromóforos orgánicos que son capaces de desactivar o extinguir las moléculas fluorescentes, dando lugar el ensayo a una fluorescencia baja. (16)

La fluorometría es extremadamente específica. Esto se debe a que mientras todos los compuestos fluorescentes absorben luz no todos los compuestos que absorben luz emiten luz, hay menos compuestos que fluorescen que los que absorben. Una sustancia que absorbe luz pero que no fluoresce causa interferencia positiva en un espectrofotómetro pero no en un fluorómetro.

Otro factor que hace a la fluorometría específica es que mientras que en la absorbanza se escoge solo una longitud de onda, en la fluorometría se escogen dos longitudes de onda y da un mayor grado de libertad. Dos

compuestos que absorben a la misma longitud de onda no necesariamente emiten a la misma longitud de onda.

Un tercer factor es que no se necesita hacer las mediciones en el pico o en la meseta máxima del espectro tal como se prefiere en espectrofotometría. Y para evitar sustancias interferentes se usan longitudes de onda que no produzcan picos máximos de activación o emisión. (3)

2.4 REACTIVOS.

La evaluación de un analito requiere de un método que implica la utilización de reactivos, equipo o instrumentos y materiales control. Todos ellos pueden adquirirse comercialmente.

Específicamente los reactivos existen de muchas formas y para diferentes propósitos. Algunos existen para usarse con equipos especializados o sistemas analíticos cerrados que producen un resultado con solo introducir una pequeña cantidad de muestra. Otros son utilizados para el trabajo manual, ya sea en forma de Kit o como reactivos que se preparan en el mismo laboratorio.

En general, los materiales que se utilizan en el laboratorio clínico son:

Materiales del laboratorio clínico. Son todas aquellas sustancias, químicas y biológicas que son ofrecidas por el fabricante o proveedor como una ayuda en el laboratorio para la determinación de enfermedades o del estado de salud, que no es administrado al paciente para obtener dichos propósitos. (18)

Materiales de laboratorio generales. Sustancias químicas y biológicas que tienen múltiples propósitos en el laboratorio y no tienen usos específicos. Ejemplos de ellos son: NaOH, KOH, H₂SO₄, fenol. (18)

Kit. Dos o más materiales de laboratorio clínico o generales (excluyendo materiales reconstituidos) con o sin otros componentes empaquetados juntos, diseñados para el desarrollo de un procedimiento para el cual las indicaciones están disponibles en el empaque. Los materiales para investigación y los fabricados especialmente para un propósito no se incluyen. Ejemplo de Kit reactivo:

UREA Merckotest[®], equipo para 80 determinaciones.
Reactivos:

- (1) Suspensión de Ureasa.
- (2) Solución patrón de Urea.
- (3) Reactivo de fenol (concentrado).
- (4) Solución de hipoclorito

Materiales referencia. Materiales químicos y biológicos que están hechos para auxiliar en el establecimiento de la exactitud de los procedimientos de laboratorio o evaluar la exactitud de los valores asignados para materiales de laboratorio clínico, calibradores u otros materiales. Ejemplo, Un estándar biológico internacional de la OMS. (18)

Calibradores. Materiales que están destinados a usarse para auxiliar a adaptar o estandarizar procedimientos de laboratorio clínico o instrumentos. Ciertos calibradores

son llamados frecuentemente estándares en la práctica del laboratorio clínico. (18)

Materiales control. Son los materiales que están destinados a usarse en procedimientos de laboratorio clínico como auxiliar en la evaluación de la precisión u otros aspectos de tales procedimientos. Ejemplo, Qualitrol Path y Qualitrol Norm para Calcio de Merck.

Materiales hechos especialmente para un propósito. Materiales preparados por el fabricante a petición de un individuo, grupo de investigación o laboratorio y no están disponibles para la distribución o venta general. Ejemplo: Albúmina sérica Bovina. Liofilizado de alta calidad para propósitos de investigación en biología celular. pureza 98%.

Materiales de laboratorio de investigación. Materiales que están en proceso de desarrollo, claramente etiquetados "sólo para investigación". Las características de desempeño de este producto no han sido establecidas. (18)

2.4 I. Etiquetas.

Es importante que al adquirir un producto se indiquen los datos necesarios para realizar la metodología por la cual se ha optado.

Las siguientes especificaciones se aplican a etiquetas de materiales de laboratorio clínico, kits, componentes de kits, materiales de referencias, calibradores, materiales control, y todos los materiales aplicables al laboratorio generales. Tales especificaciones deben darse en el contenedor inmediato. Si el contenedor es pequeño para acomodar toda la información o si el marbete pudiera interferir con la lectura de los resultados, el fabricante debe proporcionar tanta información como sea posible, incluso usando abreviaturas sobre la etiqueta del contenedor inmediato, si no es posible puede darse en otro contenedor (como el empaque) o en algún tipo de folleto que acompañe al producto. (18)

2.4.1.1. Nombre del producto. Se requiere de un nombre no comercial (puede ser descriptivo). El nombre comercial es opcional. Para un producto derivado de material biológico, debe proporcionarse la fuente genérica como información cuando sea relevante para el desempeño propio del procedimiento. (18)

2.4.1.2. Cantidad. Masa, volumen, concentración, cantidad numérica u otra designación aplicable a la cantidad. Se recomienda como mínimo el uso del Sistema Internacional de Unidades (SI). En algunos casos es apropiado indicar el número de pruebas que pueden desarrollarse o el volumen de un material reconstituido.

2.4.1.3. Número de lote o número control. Una designación alfabética y/o numérica por medio de la cual es trazada la historia de la fabricación del producto. (18)

2.4.1.4. Información de almacenamiento. Aquellas condiciones de almacenamiento necesarias para proteger la estabilidad del producto, ejemplos son:

2 a 30 °C (o 16 °C ± 14)

2 a 10 °C (o 6 °C ± 4)

-18 °C o menos

-40 °C o menos.

Evitar congelamiento

Otras condiciones puede afectar la estabilidad (por ejemplo luz y humedad) y pueden establecerse. Si las condiciones de almacenamiento del producto abierto o reconstituido son diferentes del producto no abierto también deben darse. (18)

2.4.1.5. Fecha de expiración. Una fecha de expiración basada en las instrucciones de almacenamiento. Debe indicarse si el periodo de estabilidad del producto abierto o reconstituido son diferentes del producto no abierto.

2.4.1.6. Proveedor. Nombre y dirección del fabricante, emparador o distribuidor. Si esta no es la dirección a la cual el usuario puede informarse directamente, debe darse la información en algún folleto que acompañe al producto. (18)

2.4.1.7. Precauciones. Si un producto puede ser confundido con un producto para administración al paciente o con un medicamento o una preparación biológica, debe indicarse como "Solo para uso de laboratorio". Si existe algún daño asociado al producto debe indicarse, por ejemplo, PELIGRO RADIATIVO, o con símbolos internacionalmente adoptados. (18)

2.4.1.8. Uso destinado. El uso destinado del producto puede establecerse posiblemente por el nombre del producto. Por ejemplo: Salmonella polivalente, antisuero aglutinante. Este párrafo no se aplica a materiales de laboratorio generales.

2.4.1.9. Potencia y pureza. Cuando es necesario para el propio desempeño del procedimiento la potencia y la pureza del producto pueden darse en términos usuales. (18)

2.4.2. Información adicional.

Para materiales de laboratorio clínico y kits toda la información esencial no provista en la etiqueta del contenedor debe darse en un folleto como la siguiente.

- Nombre del producto
- Uso
- Principio de la prueba. Una explicación concisa de la reacción química, técnicas y literatura de referencia.
- Precauciones
 - Conveniencia para su uso. Si es apropiado, deben proporcionarse las indicaciones físicas, biológicas y químicas de inestabilidad o deterioro. También se proporcionan aquí descripciones de pruebas apropiadas que el usuario puede aplicar para asegurar el desempeño satisfactorio del reactivo o reactivos.
- Reactivos
 - a. Para aquellos materiales ofrecidos por el fabricante.
 - (i) Nombre, cantidad, proporción o concentración de cada ingrediente reactivo para productos derivados de materia o materiales biológicos. Establecer también cuando sea necesario para el desarrollo propio del procedimiento, las fuentes genéricas, potencia, especificidad, sensibilidad, etc. Establecimiento del material que ha sido calibrado nuevamente con un material de referencia reconocido.
 - (ii) La presencia y cambio de cualquier ingrediente catalítico o no reactivo tal como buffer, preservativo, estabilizador, que el usuario podría desconocer y que puede afectar el desempeño de la prueba o influenciar los resultados.
 - (iii) Para los kits, una lista de materiales provistos por el fabricante. Si los componentes de un Kit son intercambiables con otro Kit, el fabricante podría indicar esta característica en el producto.
 - b. Lista de aquellos materiales no ofrecidos por el fabricante pero requerido para el desarrollo de la prueba. Una descripción de pureza, procedimiento de dilución o mezclado y cualquier otra información pertinente. (18)
 - Equipo. Cualquier requerimiento especial de equipo descrito para que el usuario elija el más adecuado.
 - Espécimen. Cuando sea posible una descripción de :
 - a) Precauciones especiales en cuanto a la colección del espécimen incluyendo preparación del paciente.
 - b) Aditivos (ejemplo anticoagulantes, preservativos, etc.) necesarios para mantener la integridad del espécimen .
 - c) Sustancias de interferencia.
 - d) almacenamiento recomendado e instrucciones de manipulación para la protección y mantenimiento de la estabilidad del espécimen. (18)
 - Procedimiento. Una descripción detallada de cada paso requerido para el propio desempeño de la prueba. Puntos a ser considerados:
 - a) Procesamiento especial o manipulación necesaria para especímenes que pueden contener sustancias de interferencia.
 - b) Dilución, reconstitución, mezclado u otros pasos necesarios para aquellos reactivos proporcionados por el fabricante, incluyendo condiciones de almacenamiento y

estabilidad de materiales reconstituidos. El tipo exacto de fluido que debe usarse para la dilución o reconstitución.

c) Procedimiento de calibración incluyendo la selección y preparación de calibradores, uso de blancos, preparación de una curva estándar.

d) Uso de procedimientos de control de calidad incluyendo uso recomendado de controles apropiados.

e) Una lista de condiciones precisas experimentales las cuales se requieren como, pH, temperatura, tiempo de pasos específicos, estabilidad de reacción final.

f) Cálculo de resultados incluyendo una explicación de cada factor y paso en el cálculo. Es apropiado dar un ejemplo del cálculo.

g) Técnicas del procedimiento las cuales pueden ayudar al usuario a desarrollar la prueba más efectivamente.

- Especificaciones y características especiales. Una discusión de las ventajas, limitaciones, exactitud, etc. del método. Puntos a considerar incluye:

a) Informes de la exactitud (comparado con un método de referencia reconocido, si es posible o el método usado en la evaluación del producto) precisión, especificidad, linealidad, y sensibilidad del producto.

b) Resultados esperados y detalles de como los datos fueron derivados incluyendo la población estudiada.

c) Limitaciones del procedimiento. (18)

- Proveedor. Nombre y dirección del fabricante, empacador o distribuidor. Esto es, la dirección en la cual el usuario puede obtener información complementaria concerniente al producto.

- Fecha. El mes y año de cuando fue elaborado el inserto. (18)

Para materiales referencia, calibradores y materiales control la información adicional que puede incluirse en un folleto es:

- Nombre del producto.

- Uso. Por ejemplo, Calibrador para Glucosa, determinación en suero.

- Composición y fuente. Composición y/ o fuente biológica del analito o sustancia reactiva. Para materiales referencia, cualquier aditivo, tal como preservativo o estabilizador deben listarse y describirse. Para calibradores y materiales control, los aditivos pueden listarse y describirse para su uso apropiado.

-Asignación del valor. En el se lista:

a) Analito o sustancia reactiva, valor y unidades en términos usuales.

b) Método por el cual se obtuvo el valor asignado.

d) límites de confianza para el valor asignado. Para materiales referencia, el protocolo del cálculos de los límites de confianza puede describirse.

- Precauciones. Una descripción de peligros conocidos y precauciones que es necesario tomar.

- Preparación para su uso. Una descripción de cómo tratar el material para su uso posterior. Incluye datos de estabilidad y condiciones de almacenamiento recomendados para el material reconstituido.
 - Proveedor.
 - Fecha de elaboración del inserto
- (18)

2.4 3. Programación y abastecimiento

En el laboratorio deben analizarse las necesidades de los reactivos de modo que no se agoten tempranamente o que no se almacenen demasiado tiempo.

Para programar correctamente la compra de reactivos o la preparación de soluciones reactivas se necesita la siguiente información:

La cantidad de mediciones requeridas en un período de tiempo determinado para cada procedimiento y en ellas se incluyen las que se necesitan para calibración y control.

La frecuencia con que se realiza dicha medición.

El tiempo de trabajo que logra cubrirse con una sola preparación o dotación del reactivo.

La estabilidad del reactivo.

Quando se tiene el correcto control del almacén puede obtenerse en cualquier momento la siguiente información:

Si el material ordenado ya ha sido entregado.

Cuanto material ya se ha usado y cuánto queda.

La cantidad de mediciones realizadas con el material utilizado.

El abastecimiento bien organizado es un prerrequisito esencial para el óptimo de los materiales, para su recuperación rápida y evitar el desperdicio de materiales vencidos. Es importante que haya suficiente espacio disponible (congeladores y armarios a temperatura adecuada). Los reactivos más cercanos a la fecha de caducidad es mejor almacenarlos en primera fila. (16)

Debe tenerse en cuenta que la calidad de los reactivos en Latinoamérica es la misma de los que se distribuyen en países más desarrollados. Aunque en ocasiones por trámites de importación que demoran el transporte, hacen que éstos se deterioren y se acorte su vida útil por el mal almacenamiento. Cada país debe poseer mecanismos que verifiquen la calidad de los productos que se distribuyen para su uso en los laboratorios clínicos. (16)

III FASE ANALÍTICA.

En la fase analítica es donde se lleva a cabo la medición propiamente, mediante un procedimiento de medición.

En la Química Clínica la mayoría de los valores que se obtienen son variables continuas, es decir, se obtienen valores a partir de métodos cuantitativos. La eficiencia de esos métodos debe evaluarse para decidir cuál de ellos es el más adecuado para cumplir con las metas que el laboratorio se ha fijado en un principio. Luego que se ha encontrado el método indicado se introduce para su uso en el trabajo de rutina.

3.1 EVALUACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.

Los métodos analíticos utilizados en el Laboratorio de Química Clínica están descritos por sus características de desempeño: especificidad, exactitud, precisión y sensibilidad (términos que están referidos al criterio de confiabilidad); tiempo, costo, requerimientos técnicos etc. (términos referidos al criterio de viabilidad); reuniendo todas estas características adecuadamente logramos un método que pueda medir eficientemente aquellas sustancias deseadas que representarán la condición clínica del paciente. (19)

Muchos procedimientos de Control de Calidad están implicados con el monitoreo de la precisión y exactitud de los métodos analíticos. Estos procedimientos deben ser capaces de detectar cambios en el desempeño, pero no hay un sistema de Control de Calidad que mejore un método que es fundamentalmente erróneo. La información del desempeño de un método analítico debe obtenerse antes de introducirlo al uso rutinario con especímenes de pacientes. (20)

Estas características de los métodos analíticos son de dos tipos: características funcionales y características analíticas.

Las características funcionales o de practicabilidad están determinadas por las necesidades clínicas y los recursos del laboratorio:

- Condiciones ambientales y disponibilidad de personal calificado según la complejidad del análisis.
- Requerimientos de espacio para suministro y almacenamiento de reactivos.
- Costos de equipo, reactivos, suministros y personal.
- Seguridad y peligros ambientales por reactivos químicos, muestras y desechos.
- Disponibilidad y garantía de servicio y suministro de repuestos por parte del fabricante.
- Frecuencia de calibración
- Mantenimiento de equipo, etc.

Las características analíticas o de confiabilidad son: Exactitud, precisión, linealidad, sensibilidad, especificidad, estas características están determinadas por la aplicación clínica y las condiciones particulares en que se usará el método. (3)

3.1.1. Herramientas estadísticas

La evaluación de los métodos analíticos requiere de diseños de experimentos para evaluar las características analíticas. Para ello es necesario entender ciertos principios estadísticos elementales que son la herramienta matemática para el análisis de los resultados de tales diseños. A continuación se explicarán brevemente algunas definiciones para la comprensión estadística.

Distribución normal.

El análisis repetido de una muestra no dará siempre el mismo valor, sino una serie de valores que conforman un rango. Si graficamos los valores vs la frecuencia obtendremos una distribución de frecuencias aproximadamente acampanada o también denominada distribución de probabilidad normal. (Fig. 3.1.1)

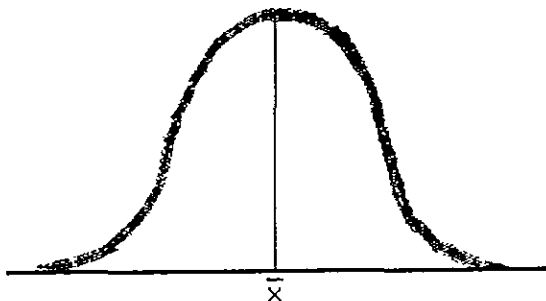


Fig. 3.1.1. Distribución de probabilidad normal.

Esta se caracteriza por la distribución de valores alrededor del valor promedio o media aritmética.

La media es una medida descriptiva de interés y se calcula con la siguiente fórmula:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

donde X_i son las observaciones y n el número de observaciones.

Habiendo localizado el centro de una distribución de datos, el siguiente paso es proporcionar una medida de la variabilidad o dispersión de los datos. Una de esas medidas de variabilidad (la más simple) es la amplitud o recorrido

que se define como la diferencia entre la observación mayor y la menor. Esta medida por sí sola no nos dice mucho de la variabilidad para esto introducimos otro concepto: la varianza.

La varianza de una población de N observaciones $x_1, x_2, x_3, \dots, x_n$, se define como el promedio del cuadrado de las desviaciones de las observaciones con respecto a su media \bar{x} . La varianza se denota por S^2 y está dada por la fórmula:

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n - 1}$$

Así, varianzas grandes implican gran variación, pero esto sólo permite la comparación de varios conjuntos de datos.

Una última definición nos ayudará a describir un conjunto de datos: la desviación estándar, que es igual a la raíz cuadrada positiva de la varianza:

$$S = \sqrt{S^2} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

Una regla que describe con precisión la variabilidad de una distribución particular en forma de campana y que describe razonablemente bien la variabilidad de otras distribuciones de datos de forma monticular es la regla empírica (fig. 3.1.2.):

- Dada una distribución de observaciones que es aproximadamente acampanada, el intervalo
- 1.- $\bar{x} \pm 1s$ contiene aproximadamente 68% de las observaciones.
 - 2.- $\bar{x} \pm 2s$ contiene aproximadamente 95% de las observaciones.
 - 3.- $\bar{x} \pm 3s$ contiene todas o casi todas las observaciones.

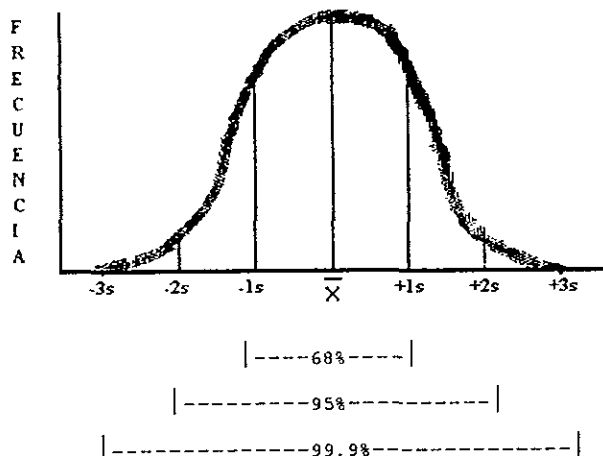


Fig. 3 1 2 Porcentajes de las áreas bajo la curva descrita por múltiplos de la desviación estándar.

Quando se desea comparar dos diseños experimentales entonces calculamos el coeficiente de variación (CV) que expresa la desviación estándar como un porcentaje del promedio

$$CV = \frac{S}{\bar{x}} \times 100$$

Esta es una herramienta útil para comprobar la variabilidad relativa entre muestras que no son idénticas o que no han sido procesadas en condiciones iguales (3, 21).

3 1.2. Características del desempeño analítico.

La Precisión y la exactitud se evalúan haciendo mediciones repetidas con la misma muestra, con el mismo método analítico y mismo lote de reactivos. Para ello deben hacerse por lo menos 20 réplicas y realizar las determinaciones en una sola tanda o corrida. Como muestra pueden usarse calibradores, patrones acuosos o muestras de pacientes, pero todas ellas deben ser estables y observar la misma cantidad siempre. El diseño debe estar pensado de tal forma que cualquiera pueda repetirlo. Los resultados de las réplicas son considerados una distribución aleatoria de una población hipotética, la media y otras medidas de tendencia central reflejan la eficiencia del método. (3)

Precisión.

Es la concordancia entre los resultados de las réplicas, no tiene valor numérico.

Muchos autores utilizan los términos imprecisión e inexactitud para describir más claramente estas medidas de eficiencia analíticas. (19)

Imprecisión

Es la Desviación Estándar (SD) o coeficiente de variación de los resultados de esas réplicas. (6) Esta SD refleja la variación aleatoria o incluso fuentes de variación identificables: inestabilidad del instrumento, fluctuación de temperatura, variabilidad en cualquiera de los pasos analíticos (pipeteo, mezclado, control de tiempo etc.), uso de diferentes especímenes, analistas, periodos de tiempo, métodos. Pero cada una de ellas requiere de un diseño experimental adecuado y un análisis estadístico para su determinación. Estos factores pueden contribuir a la imprecisión y muy importante, pueden producir inexactitud.

Estas fuentes de variación son conocidas como *errores aleatorios*. Este tipo de error ocurre en las dos direcciones (- y +) y de modo impredecible. (3)

Exactitud.

Concordancia entre la media estimada y su valor verdadero. No tiene valor numérico. (19)

Inexactitud.

Diferencia numérica entre la medida de una serie de réplicas de una medición y el valor verdadero. Esta diferencia puede ser positiva o negativa y se puede expresar en las mismas unidades de la cantidad medida, o bien como un porcentaje del valor verdadero. (19)

La exactitud de los resultados analíticos se ve afectada por las mismas fuentes de variación que contribuyen a la imprecisión, como ya se mencionó antes, pero además de estas fuentes de variación la exactitud se ve afectada por *errores sistemáticos*, es decir, errores que surgen en el proceso de estandarización o calibración.

El error sistemático ocurre en una dirección (~ ó +) y aparece en una secuencia predecible. Los hay de dos tipos: Constante, donde el resultado difiere en una cantidad constante independientemente de la concentración del analito y se debe a sustancias de interferencia. (3) Proporcional, el cual aumenta proporcionalmente como aumenta la concentración del analito. La causa puede ser el asignar una concentración incorrecta al analito en el calibrador o patrón. (3)

Ambas: precisión y exactitud son convencionalmente medidas en términos de cantidades que disminuyen en valor cuando la confiabilidad aumenta o mejora: métodos muy

precisos tienen pequeñas SD entre los resultados replicados; más exactitud se refleja en una pequeña diferencia de los resultados con el valor verdadero. (19)

Linealidad.

Hay linealidad en un método, cuando la relación de la cantidad de sustancia y la respuesta obtenida es una función lineal, descrita por $y = a + bx$, esta propiedad permite el cálculo de la concentración. En ocasiones la función no es lineal (pero mediante alguna transformación de los valores puede hacerse recta) o solo se comporta como recta en un rango de concentraciones llamado también rango analítico del método.

El establecimiento de este rango puede ayudar a determinar la sensibilidad o límite de detección, pues al medir la precisión y linealidad del método se incluyen concentraciones cercanas al límite inferior.

Los experimentos de linealidad pueden hacerse con patrones acuosos, pero debe tenerse cuidado de que no haya efectos de matriz, también pueden utilizarse muestras de matriz apropiada (suero, orina, etc.) para determinar el rango analítico útil.

No es recomendable usar diluciones seriadas para no perpetuar el error de medición. Las diferentes concentraciones se grafican contra los valores observados de la respuesta o señal y así buscar ajustar la curva a un modelo lineal y detectar los valores que queden fuera, en tal caso, deben hacerse tres diluciones distintas de esas muestras. Al conjunto de datos que siguen una recta se les aplica el análisis de mínimos cuadrados. La idealidad es que la línea recta pase por el origen utilizando un blanco reactivo. El intervalo de concentración debe incluir los valores clínicamente útiles, para ello se utilizan concentraciones altas, medias y bajas. En las concentraciones altas y bajas donde ya no hay linealidad se encuentran los límites de linealidad. (3, 7, 20)

Especificidad.

Es la propiedad que tiene un método para producir una señal solamente con la cantidad mensurable que se está investigando. La especificidad contribuye a la exactitud.

Algunos métodos son inexactos y dan resultados altos falsos debido a componentes de las muestras que además del analito contribuyen a la respuesta. Las limitaciones de especificidad deben darse en la descripción del método (proporcionada por el fabricante o el originador del método). En el Apéndice 2 se muestran los métodos analíticos y las sustancias de interferencia más comunes.

La especificidad se puede investigar agregando a la muestra sustancias que se sospeche reaccionan igual que el analito estudiado y comparar estadísticamente los resultados de los dos grupos: con agregado de sustancias sospechosas y sin agregado. (3, 7, 20).

Ya que se han establecido las características analíticas del método y se encontró que es aceptable para su uso en rutina es necesario vigilar que el método siga funcionando adecuadamente. El control de calidad interno se encarga de esta evaluación continua del método y así encontrar las desviaciones que pudieran surgir de las metas planteadas en cuanto a precisión y exactitud se refiere.

Para los métodos analíticos, las metas de calidad pueden interpretarse como especificaciones de error o cantidad de error analítico permitido sin invalidar la utilidad médica de los resultados.

El *error analítico permisible* podría ser especificado en términos de una SD permitida, una variación permitida o como un error total permitido (Ver fig. 3.1.3). (22)

El *error total* es un concepto integrado por ambos tipos de error: el aleatorio y el sistemático. Si se analiza una muestra con un valor verdadero, un número de veces, la distribución resultante de valores tiene una desviación estándar y un valor promedio que será igual al valor verdadero si no hay ninguna desviación. (7)

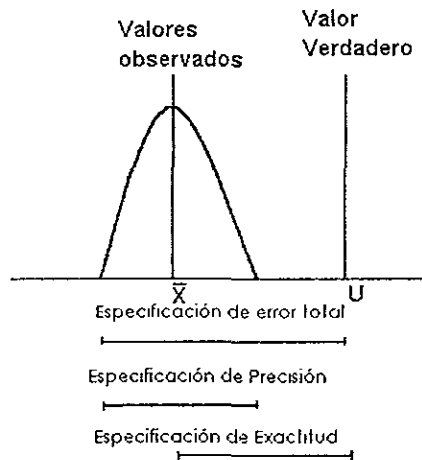


Fig 3.1.3 Especificaciones para error total, precisión y exactitud (22)

Una *SD permitida* es una especificación de precisión, una *variación permitida* es una especificación de exactitud.

Una *especificación de error total* es un límite de ambos errores aleatorios y sistemáticos y cualquier combinación de error sistemático y error aleatorio. (22)

Para las pruebas del laboratorio clínico donde el espécimen es medido normalmente una sola vez o a lo más dos veces, habrá un componente de error aleatorio y cualquier error sistemático que pueda estar presente, por eso es más apropiado dar una especificación para un error total, porque proporciona los límites para el error aleatorio y el error sistemático y aún para la combinación de éstos: Una especificación de error de 10 unidades podría significar error aleatorio (únicamente), error sistemático (solo) o cualquier combinación de error aleatorio y sistemático, podrían ser de menos de 10 unidades. El peligro de emplear especificaciones de precisión y exactitud separadas es que las dos especificaciones pueden no ser consistentes: que la especificación de exactitud permita errores de 5 unidades, mientras que la especificación de precisión pueda permitir 10 unidades. Aunque es raro que ocurran los dos tipos de error simultáneamente.

Un ejemplo de especificación de error total podría ser:

Permitir un error analítico de menos de 10 unidades para el 95% de los especímenes de los pacientes. Esto significa que solamente 1 de 20 especímenes podría tener errores mayores. Un ejemplo de especificación de error aleatorio y sistemático separados sería:

La SD permitida es de 5 unidades, y la variación permitida es de 5 unidades. Esto implica que el 95% de los resultados de los pacientes podrían tener errores de menos de 10 unidades debidos al error aleatorio, pero podrían tener también el error adicional de 5 unidades debido al error sistemático, por lo tanto, los errores observados podrían ser de 15 unidades.

Para propósitos de CC, el uso de una especificación de error total, parece apropiada para fijar los límites de la cantidad de error analítico que puede ser permitido. Esos límites incluyen el error debido al procedimiento de medición mismo y de error debido al procedimiento control y su escasez de sensibilidad (Fig. 3.1.4).

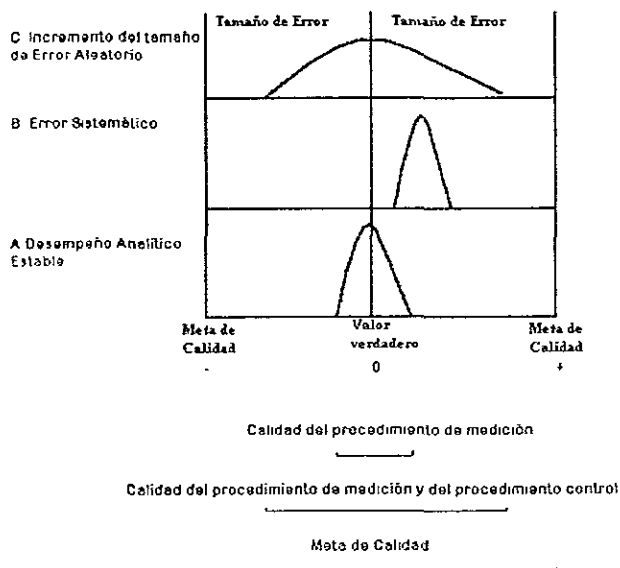


Fig. 3.1.4. Relación entre metas de calidad y la calidad de los procedimientos de medición y control. (22)

El error aleatorio no se puede eliminar, pero se puede disminuir utilizando equipo estable, operadores entrenados y el promedio de los valores repetidos. El error sistemático se minimiza con la calibración correcta y con métodos más específicos. (7)

Para que los resultados sean de utilidad, el error total debe ser menor al *Error Máximo Tolerable* (EMT). Existe un intervalo de variación aceptable alrededor de un valor fijo. Este valor es igual (o aproximado) al límite de discriminación del interés clínico. Para determinar este valor de EMT se han utilizado dos criterios:

Criterio de Tonks y es el coeficiente de variación de una Distribución Gaussiana de valores de referencia:

$$EMT = \left(\frac{1}{4} \times \frac{\text{intervalo de referencia}}{VP} \right) \times 100$$

Donde VP e el promedio de los valores del intervalo de referencia central 0.95. Este criterio tiene dos condiciones: a) para metabolitos en general, se acepta un valor de EMT máximo de 10%, y b) para enzimas acepta uno de 20%. El criterio requiere que el error sistemático sea nulo, de modo que el EMT es el rango de error aleatorio; aceptando la probabilidad de 5% de resultados que caigan por fuera de EMT, esto significa que el coeficiente de variación (CaV) = EMT/2 .

El otro criterio es el *criterio de Aspen* que se fundamenta en la variabilidad biológica y se define como la

mitad de la variabilidad biológica intraindividual, expresada como coeficiente de variación (Cvbw):

$$Cav = Cvbw/2$$

(21).

3.2 CONTROL DE CALIDAD ANALÍTICO.

Una vez que se han sido evaluadas las características de desempeño y se han encontrado aceptables, el método se utiliza en el servicio de rutina. El Control de Calidad se encargará ahora de detectar las desviaciones de las metas analíticas que se hayan fijado.

La calidad analítica lograda en una medición depende de la calidad del procedimiento de medición mismo y de la calidad del procedimiento control, particularmente su sensibilidad para detectar errores. (22)

Muchos procedimientos de control interno se basan en la introducción de muestras control que se someten a las mismas mediciones y pasos que la muestra del paciente. Estas deben introducirse diariamente con cada corrida analítica.

Los materiales control pueden ser de origen humano o preparados especialmente. Los primeros pueden ser preparados por el mismo laboratorio, colectando los remanentes diarios, esto resulta más económico, pero debe tenerse en cuenta el factor riesgo, ya que son muestras potencialmente infecciosas. Estos controles no tienen un valor asignado.

Los segundos pueden adquirirse comercialmente pero puede resultar costosos, si se tiene en cuenta que se requiere de cantidades suficientes para un año y así poder monitorear a largo plazo. Los hay con valores asignados y sin valor asignado. El valor asignado se obtiene por consenso de un grupo pequeño de laboratorios, pero si se tiene duda sobre el valor se debe validar contra materiales de referencia primarios. Existen en el mercado materiales control con valor asignado por procedimientos de referencia. (7)

El material control que va a ser preparado por el laboratorio debe recogerse lo más higiénicamente posible y congelarse a -20°C . los sueros lipémicos o ictericos deben descartarse al igual que las muestras infecciosas.

Cuando se tenga la cantidad suficiente se descongela todo en una sola sesión, se homogeneiza y se filtra, se distribuye en biales con la cantidad óptima para el trabajo diario y se vuelve a congelar a -20°C . (7)

El material de control de calidad es analizado una vez al día por 20 a 40 días. Se calculan la media aritmética (\bar{X}) y la desviación estándar de todos los valores control obtenidos (23)

La precisión se verifica con el coeficiente de variación (CV) que no debe ser mayor al 5%. El CV se obtiene dividiendo la desviación estándar entre la media

aritmética multiplicada por 100 para expresarlo como porcentaje.

Luego la exactitud, se verifica cuando el error no es mayor del 5%. Esto es, que el valor mensual de cada analito no difiera del valor esperado en más de ese porcentaje, en los sueros control valorados que utiliza el laboratorio, para ello se utilizan sueros con niveles normales y también de niveles elevados. (24)

Gráfica Control

Los resultados control pueden representarse en una gráfica control, que es una gráfica x-y, en la que en el eje de la abscisa se encuentra el período de observaciones (en días generalmente) y en el de la ordenada se encuentran los límites establecidos alrededor de la \bar{x} . (Fig. 3.2.1.)

En esta gráfica hay dos zonas de alarma, una que va desde los límites $\bar{x} - 3s$ hasta $\bar{x} - 2s$ y $\bar{x} + 2s$ hasta $\bar{x} + 3s$. Si los valores tienen una distribución normal y el procedimiento es estable el 95% de los valores caerán dentro de $\bar{x} \pm 2s$ lo que significa que uno de cada 20 valores caerá fuera de ese límite sin que el procedimiento esté fuera de control.

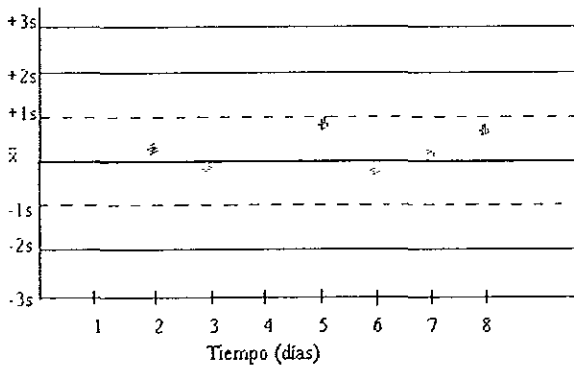


Fig 3.2.1. Gráfica de control de calidad. Los datos control se encuentran dentro del límite $\bar{x} \pm 1s$ (24)

Cuando un valor cae fuera del límite $\bar{x} \pm 3s$ es un indicativo de que el operador debe tomar una acción correctiva ya que la probabilidad de que caiga en esta zona es de 1 en 330, es decir la probabilidad es muy baja y no puede aceptarse desde el punto de vista del laboratorio.

En esta gráfica el operador puede reconocer tres situaciones:

- Las zonas de aceptación de los valores
- Las zonas de alarma
- Las zonas de acción.

El objetivo de control de calidad es que los valores caigan dentro de la zona de aceptación. Si la cantidad de valores que caen dentro de la zona de alarma es mayor que la probabilidad (95% ó 1/20) significa que hay algún problema y será de precisión si los valores alternan entre los límites superiores e inferiores. El problema será de exactitud si se colocan dentro de un solo lado de la media.

En la descripción del procedimiento control el término "Regla control" será usado para designar un criterio de decisión empleado para juzgar si una corrida analítica está "en control" o "fuera de control". Para abreviar una regla control, se usará el símbolo A_L , donde A representará un estadístico o un número de observaciones control y L representará los límites control.(23)

Las reglas control son herramientas estadísticas para apoyar al operador en la interpretación de los resultados obtenidos con material control y evaluar si el procedimiento mantiene una ejecución estable o si se han introducido efectos sistemáticos o aleatorios.

Cada regla control se caracteriza por dos probabilidades: la probabilidad de detección de un error y la probabilidad de una falsa alarma. El analista debe buscar la combinación de reglas de control que se apliquen a sus necesidades y que tenga una probabilidad baja de falsa alarma y la probabilidad más alta de detección de error.

La desventaja de utilizar un sistema de control mínimo con un solo control por corrida es la probabilidad relativamente alta de una falsa alarma. Westgard formuló un sistema de reglas múltiples que consiste de una combinación de reglas con la mayor probabilidad de detección de errores y una probabilidad aceptablemente baja de falsa alarma. También indica cuales errores son más probables (aleatorios o sistemáticos). (7)

Presentaremos las reglas de Westgard en un diagrama de flujo (Fig. 3.2.2.), en el cual se resume el procedimiento de control de calidad.(23)

La secuencia de los pasos del procedimiento control están indicados en el diagrama de flujo dentro de los círculos y las reglas de control se indican dentro de los cuadros. Los pasos se explican a continuación.

1) Si el resultado control está dentro del límite control $\bar{x} \pm 2s$ de la gráfica control, la corrida analítica es aceptada; los resultados de los pacientes pueden ser reportados. El procedimiento de control de calidad está completo.

2) Si el resultado control excede los límites control $\bar{x} \pm 3s$ de la gráfica control, la corrida se rechaza, los resultados de los pacientes no deben ser reportados.

3) Si el resultado control excede $\bar{x} \pm 2s$, pero está dentro de los límites control $\bar{x} \pm 3s$, el resultado debe ser evaluado nuevamente, tomando en consideración resultados previos.

a) Si los dos últimos resultados control excedieron ya sea del límite control $\bar{x} + 2s$ o $\bar{x} - 2s$, la corrida es rechazada, los resultados de los pacientes no deben reportarse.

b) Si uno de los dos resultados control exceden el límite $\bar{x} + 2s$ y el otro excede el límite $\bar{x} - 2s$, la corrida es rechazada, los resultados no deben reportarse.

Si una de esas pruebas rechazan la corrida, debe analizarse el procedimiento de medición y encontrar el factor que posiblemente esté causando los errores o consultar a un laboratorio central. Si ambas pruebas, por otro lado, aceptan la corrida, los resultados de los pacientes pueden reportarse pero la evaluación podría continuar como sigue.

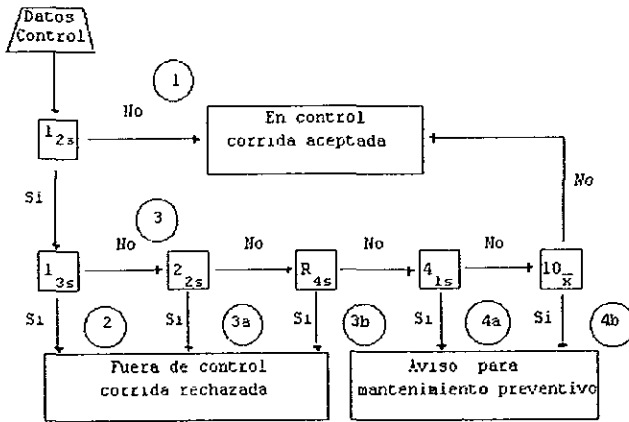


Fig. 3 2 2 Diagrama de flujo de las reglas control. (23)

4) Para la posterior evaluación de los datos control, otras dos pruebas han de desarrollarse:

a) Si los últimos cuatro resultados control exceden el mismo límite control $\bar{x} + 1s$ o $\bar{x} - 1s$, la prueba da un aviso.

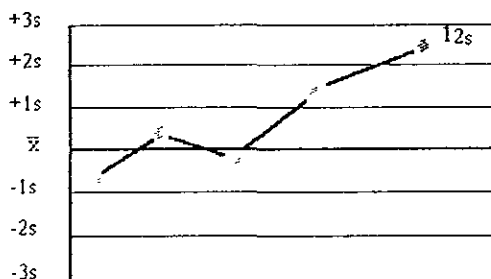
b) Si los últimos diez resultados control caen en el mismo lado de \bar{x} , la prueba da un aviso.

Si ambas pruebas son aceptadas sin aviso el procedimiento analítico se asume que está en control. Si la última de las dos pruebas da como resultado un aviso, deben inspeccionarse las mediciones antes de emprender nuevas corridas analíticas para prevenir errores de medición, causando rechazo de una corrida futura.

A continuación explicaremos el significado de las seis reglas de Westgard.

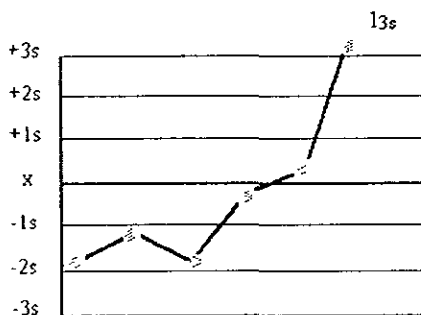
1₁ representa la regla en la que un resultado control excede los límites de $\bar{x} \pm 2s$ y proporciona un aviso. Esto se interpreta como la necesidad de una inspección adicional de los datos control probando con las otras reglas para juzgar si la corrida analítica debe aceptarse o no.

Ejemplo:



1₂ es la regla en la que una corrida es rechazada cuando un resultado control excede los límites control de $\bar{x} \pm 3s$. esta regla es sensible primariamente al error aleatorio, pero también responde a errores sistemáticos grandes.

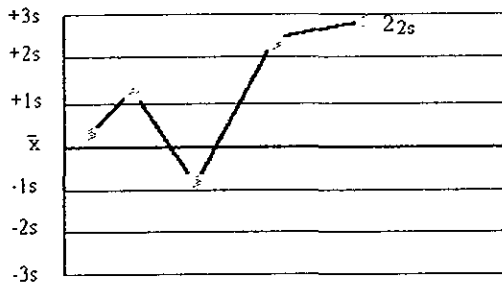
Ejemplo:



2₁ Es la regla por la cual la corrida es rechazada cuando dos resultados consecutivos exceden el mismo límite el cual

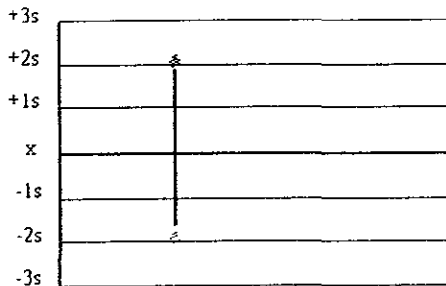
puede ser $\bar{x} + 2s$ o $\bar{x} - 2s$. La regla inicialmente se aplica a mediciones dentro de una corrida. Ambas mediciones pueden ser sobre el mismo material o ser una medición de dos diferentes materiales control. Una corrida es rechazada cuando dos resultados control consecutivos dentro de la misma corrida exceden sus respectivos límites control $+ 2s$ o su respectivo límite $-2s$. Cuando aplicados a mediciones consecutivas sobre diferentes materiales, la regla es sensible a errores sistemáticos que ocurren durante todo el intervalo de medición analítica. Cuando es aplicado a mediciones consecutivas sobre el mismo material, la regla es sensible a errores sistemáticos que ocurren a una concentración.

Ejemplo:



$R_{4.5}$ Es la regla control por la cual una corrida es rechazada cuando el rango (R), que es la diferencia entre los resultados control altos y bajos dentro de una corrida exceden $4s$. Para implementaciones manuales, la regla puede ser utilizada en una forma más cuantitativa, tomando la diferencia exacta entre los resultados de la medición altos y bajos en la corrida. La regla puede ser aplicada a las últimas dos mediciones control. Esta regla es sensible a errores aleatorios.

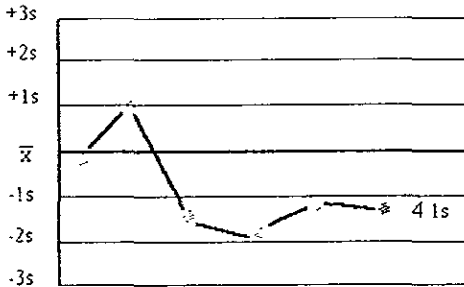
Ejemplo:



4_1 Es la regla de aviso, la cual indica que se debe hacer una inspección del procedimiento de medición cuando cuatro

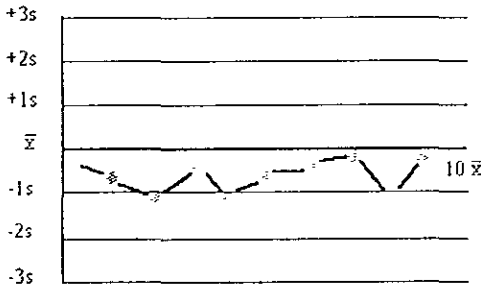
resultados control consecutivos exceden el mismo límite, ya sea $\bar{x} + 1s$ o $\bar{x} - 1s$. Las mediciones consecutivas pueden ocurrir con un solo material control, el cual puede requerir la inspección de la medición para un solo material control de cuatro corridas consecutivas, o las mediciones pueden ser de diferentes materiales control, reduciendo el número de corridas requeridas para acumular cuatro mediciones. Esta regla es sensible a errores sistemáticos.

Ejemplo:



10: Es la regla de aviso que requiere que 10 resultados control consecutivos caigan en un lado de la media. Las mediciones ocurrirán sobre algunas corridas y pueden ser evaluadas en un solo material control o entre varios materiales control. La regla es sensible a errores sistemáticos.

Ejemplo:



(23)

3.3 Fuentes de variación analíticas.

Algunos factores que producen imprecisión son:

Intracorrída

- * Errores en las mediciones de reactivos y/ o muestras
- * Evaporación de la muestra
- * Error espectrométrico
- * Variación de la temperatura de incubación
- * Variación electrónica posterior a la calibración

Entre corridas

- * Error aleatorio en la calibración
- * Deterioro de los calibradores

Entre días

- * Variación entre lotes de calibradores (de frasco a frasco)
- * Errores de reconstitución
- * Error aleatorio de la calibración

(7)

Hay varios factores que deben atenderse en el momento de la medición para evitar errores analíticos

1. Almacenamiento y estabilidad de los reactivos. Las condiciones generales de almacenamiento incluyen un lugar limpio, seco y luz baja. Debe evitarse la exposición al sol cuando se tienen los reactivos sobre la mesa de trabajo. Se pondrá mucha atención a la indicación de almacenar a temperatura ambiente, ya que esta indicación se refiere al intervalo de temperatura de 20 a 25°C. Existen localidades en las que la temperatura ambiente exceden este rango, en tal caso es inadecuado preservar el reactivo a temperatura ambiente. (7)

La mayoría de los reactivos que se adquieren comercialmente se almacenan en los mismos recipientes en que fueron surtidos. Si se trata de compuestos inorgánicos pueden almacenarse a temperatura ambiente no así con los compuestos orgánicos para ello el fabricante dará las indicaciones de temperatura de almacenamiento.

Si algún reactivo no tiene indicado la fecha de caducidad puede entenderse como estabilidad hasta el fin del reactivo, pero debe cerciorarse que no ha perdido sus características antes de usarse. Debe recordarse que los reactivos liofilizados tienen una vida útil mayor que los que no lo son, pero es mejor reconstituir sólo la cantidad que se utilice diariamente. (7)

2. Instrumentos. Es muy importante que el personal que lleve a cabo las mediciones esté enteramente familiarizado con el instrumento y si no lo está no deberá hacerse cargo de la medición él solo.

Para el buen funcionamiento deben seguirse todas las especificaciones del fabricante en cuanto a requerimientos de voltaje, corriente eléctrica, gas , agua, vacío etc.,

para evitar que en el momento de la medición ocurra alguna fluctuación. (25, 17)

La Federación Internacional de Química Clínica ha elaborado guías que enlistan las especificaciones de espectrómetros (17), espectrómetros de emisión de flama (26), espectrómetros de absorción (27) y analizadores químico-clínicos (28).

Aún cuando el equipo funcione adecuadamente existe el riesgo de que el acarreo afecte las mediciones. El acarreo ocurre cuando se traslada material de un recipiente de una medición a otra. Puede suceder por ejemplo, que se acarree muestra de un valor alto a una muestra de valor bajo. Otro caso puede ser cuando se acarrea diluyente o reactivo y puede ocurrir en instrumentos que utilizan una misma sonda para repartir los reactivos. (7)

3. Tiempo y temperatura de reacción. La mayoría de los laboratorios utilizan Kits reactivos para las mediciones químicas y para ello deben seguirse al pie sus indicaciones sobre todo si se trata de enzimas. También existe un tiempo máximo para hacer la lectura después del cual el resultado ya no es confiable. Debe organizarse el trabajo de modo que este tiempo no se sobrepase.

3.4 CALCULO DE RESULTADOS

El cálculo del resultado varía mucho dependiendo del sistema de medición, pero por lo general se estima insertando el valor de la señal producida por la muestra en una curva de medición y leyendo el valor de la cantidad en el eje Y en la gráfica. La curva de medición es inversa a la curva de calibración trazada con las señales (eje Y) producidas por concentraciones conocidas del analito (eje X). En ocasiones el resultado se obtiene impreso automáticamente, pero en el caso de los cálculos manuales no debe insertarse la señal en una gráfica dibujada manualmente. En su lugar se calcula una ecuación de regresión para obtener el valor de la cantidad de la señal de la muestra. (7)

IV FASE POSTANALÍTICA

La fase Postanalítica consiste de algunos pasos que también son importantes para asegurar la calidad de los resultados de las mediciones, ya que no es suficiente con solo obtener los resultados precisos y exactos si los resultados no son presentados en forma clara, con todos los elementos necesarios para llegar al Diagnóstico y a tiempo.

4.1. REPORTE.

El reporte completo es la interfase más obvia entre el laboratorio y el médico. Un excelente servicio implica un reporte atractivo, informativo y libre de confusiones. El reporte significa el producto terminado del laboratorio de química clínica.

Existe una gran variedad de formas de solicitudes de exámenes de laboratorio y de reportes debido a la independencia y originalidad de cada laboratorio y porque la tendencia a utilizar computadoras para generar reportes se ha generalizado.

Existe la necesidad de estandarizar los formatos de los reportes. Se ha propuesto que para distinguir los diferentes departamentos se utilice un código de colores que identifique más fácilmente al departamento al que se solicitó el examen. Las propiedades a medir pueden agruparse en una sección común.

Existen instrumentos como los analizadores de gases en sangre o los contadores de células que son capaces de generar sus propios reportes, pero que pueden tener el inconveniente de dar reportes que no tienen el tamaño estándar o que no tienen la forma del reporte final o que pueden carecer de unidades. En consecuencia el laboratorio tiene que producir un reporte final transcribiendo los resultados o bien anexando estos al reporte final. (29)

4.1.1. Relación entre la solicitud y el reporte.

Al momento de diseñar el formato del reporte, debe decidirse por el contenido que tendrá ya que de esto depende que datos deben proporcionarse en la solicitud del examen. En un laboratorio bien organizado la cooperación del médico es muy importante, esta consiste en llenar completamente la solicitud, anotar detalles importantes como el tiempo de la toma de muestra y si el paciente estuvo en ayuno, ya que casi siempre son omitidos.

La cooperación se obtiene con educación a largo plazo, y que el personal del laboratorio indique al médico cuales datos no fueron dados.

Algunos hospitales utilizan formas que sirven para ambos propósitos: como solicitud y como reporte. Los resultados son llenados a mano por personal del laboratorio y esas formas pueden incorporar una copia al carbón para

quedar en los registros del laboratorio. Esta práctica resulta económicamente atractiva, pero es difícil asegurar que los reportes escritos a mano sean legibles siempre y no son atractivos. (29, 7)

4.1.2. Requerimientos generales.

No hay un convenio universal, pero la información que siempre se incluye en el reporte son:

- identificación completa del laboratorio (impresa en la papelería generalmente)
- identificación del paciente (nombre, número de identificación, edad, sexo, fecha de nacimiento o edad, localización del paciente).
- fecha de la toma de muestra
- naturaleza del espécimen
- nombre de la cantidad mensurable o característica observable.
- valor numérico, unidades.
- intervalo de referencia para el resultado.

No es obligatoria la información adicional pero resulta de mucha utilidad y esta puede ser:

- límites de confianza analíticos
- condiciones relevantes (por ejemplo ayuno)
- precaución por la interferencia de algún medicamento
- espacio para comentarios interpretativos.
- firma de la persona responsable de entregar los resultados.

(30, 29, 7)

La identificación dada en la forma de la solicitud puede reproducirse en el reporte, junto con la fecha de la medición. Las cantidades y sus resultados deberán presentarse claramente y en la terminología útil y comprensible para quien lo reciba. El orden de los resultados debe ser lógico, pueden usarse las reglas internacionales aceptadas del Sistema Internacional de Unidades. (31)

4.1.3. Indicación de anomalía

Los resultados inusuales "patológicos" deben ser presentados de forma que atraigan la atención del médico. La variedad de métodos analíticos empleados, particularmente en enzimología clínica y algunos inmunoensayos en los que diferentes procedimientos pueden producir resultados que difieren en 100% o más, hacen que la interpretación sea difícil sin una guía. Cada laboratorio debe ofrecer una guía apropiada para sus propios métodos. Esta información para asistir a la

interpretación debe estar preferiblemente sobre el reporte mismo. (29)

4.1.4. Interferencia de medicamentos

Los efectos de la terapia farmacológica en las pruebas del laboratorio están bien reconocidos y de ellos se hablará ampliamente en el Apéndice 2. Pero el personal del laboratorio regularmente no toma a su cargo la tarea de investigar que tratamiento está teniendo cada paciente. Sin embargo la complejidad de fármacos interferentes es mucha carga para la memoria. La introducción de registros computarizados de todos los fármacos administrados a cada paciente podría permitir al personal del laboratorio estar alertados automáticamente para la posibilidad de una interferencia del medicamento con el examen solicitado. (29)

4.1.5. Condiciones del examen.

Algunas pruebas tales como glucosa plasmática, triglicéridos, tensión de oxígeno de sangre arterial, se ven afectados por las condiciones en que es tomada la sangre (para glucosa o triglicéridos, si el paciente está en ayuno, o para la tensión de oxígeno en sangre, qué porcentaje de oxígeno esté inspirando el paciente. Otras pruebas tales como cortisol en plasma se ve afectada por la hora del día en que fue tomada la muestra. Es deseable que el reporte indique esos factores que pudieron alterar el examen. (29)

4.1.6. Límites de confianza analítica.

Todas las pruebas del laboratorio están sujetas a error analítico, para algunos exámenes por ejemplo la concentración de sodio sérico con una precisión excelente (el límite de confianza analítico del 95% de ± 1 a 2% es logrado). Para otros, incluyendo algunas enzimas séricas y radioinmunoensayos con un límite de confianza del 95% pueden ser del orden ± 25 a 50%.

Los laboratorios pueden gastar mucho dinero en programas de control de calidad permitiendo su propia evaluación del desempeño, pero raramente comunican esta información a los médicos. (29)

4.1.7 Interpretación de los resultados

La interpretación del reporte es un punto que causa controversia. Algunos opinan que no se puede dar una interpretación si no se tienen todos los datos clínicos pertinentes y, en consecuencia, el diagnóstico sólo es responsabilidad del médico del paciente. (7) Pero el clínico puede dar algún comentario útil al médico y sugerir algún

otro examen que se requiera para confirmar alguna situación clínica. (32).

De cualquier forma la persona que interprete los resultados de la medición, ya sea el clínico o el médico solicitante deberá conocer los factores que pueden afectar los resultados y debe estar familiarizado con los valores de referencia. Los resultados inesperados pueden requerir investigación posterior lo que puede incluir:

- revisión de los resultados de controles,
- revisión de los resultados sobre la hoja de trabajo del mismo tipo de metabolito hechos recientemente al paciente y a otros pacientes,
- mediciones repetidas de la muestra del paciente,
- mediciones repetidas del material control,
- mediciones repetidas del material control con un nuevo lote de reactivos,
- medición de una muestra reciente del paciente. (33)

4 1.8. Firma

La firma de la persona responsable del laboratorio en el reporte puede ser debatible: la firma indica que alguien en el laboratorio acepta la responsabilidad por el contenido del reporte, esto implica que estuvo sujeto a alguna inspección antes de ser emitido. La inspección podría consistir de vigilar que la solicitud esté llenada correctamente, la muestra analizada de manera adecuada y sin retraso y que los comentarios sean los adecuados. (32) Pero es imposible que todos los reportes emitidos sean inspeccionados para cada aspecto, sobre todo en laboratorios donde se realizan diferentes exámenes a 500 o más muestras, que hacen la tarea de firmarlos bastante tardada y fatigante. Al final más importante que firmar el reporte es poner atención a los resultados inusuales o de importancia clínica, para ello todo el personal debe conocer los resultados anormales que requieren de acción urgente (29,32). Con esto se concentrará la atención en un pequeño número de reportes permitiendo el tiempo necesario para actuar urgentemente en caso que se requiera. (29)

En México la ley exige que el reporte sea firmado por el responsable del laboratorio de manera autógrafa.

4.1.9. Acción urgente

El clínico debe considerar si un resultado particular justifica la acción urgente sin considerar la solicitud del médico, ya que algunas anomalías pueden encontrarse aún cuando no se sospechen clínicamente.

Cuando un resultado indica una condición que el clínico sabe que es peligrosa y requiere acción antes que el reporte sea emitido, debe analizar primero la posibilidad de un artefacto, por ejemplo si el nivel de Potasio es alto él podría investigar si el plasma estaba

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

hemolizado o si el sodio plasmático y cloruro están inexplicablemente muy bajos. (32)

4.1.10. Entrega de resultados

Los resultados de la medición deben ser transferidos sin retraso. La transferencia de datos directo electrónicamente o sobre el reporte, es rápido y conveniente. Para reportes escritos, el transporte en auto puede ser un alternativa al transporte postal. Frecuentemente, no todos los tipos de cantidades son medidas diariamente, y los resultados pueden, por lo tanto, estar listos a diferentes tiempos.

Si los resultados son enviados inmediatamente después de su terminación o si son detenidos hasta que sean medidas todas las cantidades solicitadas, debe estar convenido con el médico solicitante. En caso de urgencia o cuando los resultados indiquen que el paciente puede estar en peligro, es obligatorio un reporte inmediato, por ejemplo, una llamada telefónica. El procedimiento y la responsabilidad para esto debe estar claramente establecida para el personal del laboratorio.

Con el fin de evitar errores deben disminuirse al máximo el número de transcripciones. El Fax puede ser considerado como una alternativa de los resultados por teléfono, siempre que se pueda asegurar que el médico solicitante verá el reporte tan pronto como sea posible. Un reporte ordinario es necesario aún por si la impresión no es clara. (31)

4.1.11 Retrasos.

El jefe del laboratorio debe atender a las fechas de la toma de muestra y de la recepción de la misma en el laboratorio, para así poder establecer si hubo algún retraso indebido en el transporte o en el desarrollo del examen. (32)

4.2. INTERVALOS DE REFERENCIA.

Los intervalos de referencia biológica deben establecerse en colaboración con los laboratorios centrales, y deben estar disponibles para el médico. Es más conveniente imprimir el intervalo junto con cada resultado. Es especialmente importante dar los intervalos de referencia para el método que se está utilizando y las unidades sean las mismas que las obtenidas por el método. Si los intervalos de referencia no pueden darse junto con los resultados pueden proporcionarse en una lista distribuida por el laboratorio. (31)

La metodología para la obtención de los valores de referencia se tratará más ampliamente en el Apéndice 3.

4.3. ARCHIVO Y RECUPERACIÓN DE DATOS.

Los resultados analíticos de los pacientes son datos confidenciales y deben ser guardados y tratados adecuadamente.

Es esencial que los registros completos sean retenidos para todos los resultados emitidos por un periodo especificado por la ley, incluyendo la identidad del sitio donde se desarrolla la medición. Esto es una medida de seguridad para prevenir la pérdida de datos, y es esencial para sitios los cuales ofrecen una presentación acumulada de resultados para un paciente. También es necesario almacenar los resultados para análisis estadísticos, lo cual puede ser de valor considerable para la evaluación del desempeño. Es recomendable que se retengan los registros de garantía de calidad para hacer comparaciones relacionadas con el tiempo de los resultados de los pacientes. En algunas ciudades se prescribe que los sitios analíticos guarden las solicitudes y los resultados para propósitos de costos. El no guardar los registros puede causar problemas legales.

Es responsabilidad del médico almacenar el reporte del laboratorio (junto con otra información sobre el paciente) en el registro del paciente, por el periodo mínimo que es requerido por la ley. (31) En México la ley obliga a los laboratorios a conservar dichos resultados por 6 meses.

4.4. CONFIDENCIALIDAD.

El reporte con los resultados de la medición debe ser dirigido al médico que los ha ordenado. En su ausencia, la responsabilidad al examinar y tomar la acción sobre los resultados estará delegada por él a otra persona. El personal del laboratorio no debe informar al paciente directamente acerca de sus resultados a menos que sea por solicitud del médico del paciente.

El médico solo debe tener acceso a los resultados de sus propios pacientes, aún cuando él tenga conexión en línea a una base de datos electrónico. Los datos relacionados a otros pacientes pueden ser protegidos con el uso de esquemas de acceso restringido. (31)

CONCLUSIÓN

La necesidad de demostrar la calidad del servicio de laboratorio de Química Clínica, surge de la exigencia de la sociedad por un lado, y de las organizaciones como la OMS, ISO, IFCC, etc. que se encargan de dictar los estándares a seguir en materia de Servicios de Salud.

La calidad que se requiere en el laboratorio de Química Clínica se logra mediante el compromiso de todo el personal del laboratorio de ofrecer un servicio con excelencia, que cumpla con los estándares nacionales e internacionales pero que principalmente satisfaga las necesidades cambiantes de la sociedad.

El manejo de Calidad del laboratorio debe establecer una política de calidad en la que estén bien definidas las metas y objetivos del servicio; que contenga la estructura y los procedimientos necesarios para lograrlos y los mecanismos que se necesitan para evaluar y monitorear que sean cumplidos.

Primero, deben definirse desde el principio las metas y objetivos del laboratorio, de acuerdo a la utilidad clínica.

Segundo, se investiga el proceso analítico que mejor cumple las expectativas de laboratorio y los recursos con que debe contar para implementarlo:

- Personal profesional y técnico.
- Conocimientos necesarios y entrenamiento del personal para llevarlo a cabo.
- Instalaciones adecuadas que proporcionen las condiciones ambientales (luz, humedad, temperatura, etc.) y de estructura física (voltaje, agua, desagüe, etc.) que se necesitan.
- Equipo e instrumentos.

Tercero, los procedimientos de Control de Calidad Interno y programa de Garantía de Calidad que monitoreen que el procedimiento analítico funcione adecuadamente, añadiendo las precauciones en el proceso (preanalítico, analítico y postanalítico) para evitar fuentes de variación

Cuarto, evaluar continuamente todo el proceso.

Sin duda el programa de Garantía de Calidad que incorpore el laboratorio incluirá procedimientos de control de calidad internos y externos para lograr y mantener la calidad deseada durante todo el proceso, localizando las etapas del proceso donde puedan surgir las fuentes de variación y evitarlas o corregirlas.

Es parte de la filosofía del mejoramiento continuo de la calidad que el laboratorio identifique cuando las metas propuestas ya no satisfagan las necesidades que la sociedad

tenga en el futuro. Si esto ocurre tiene que rediseñar todo la estructura del manejo de la calidad para que el laboratorio siempre cumpla con sus objetivos que son satisfacer las necesidades de sus clientes.

APÉNDICE 1

AI. MANUAL DE CALIDAD (34)

El Manual de Calidad (MC) de un laboratorio es un documento o serie de documentos que describen la estructura de la organización, responsabilidades y procedimientos, con los cuales el laboratorio logra sus objetivos y proporciona confiabilidad en su trabajo. El MC es indispensable para lograr y mantener una buena calidad total, pero también la preparación del mismo puede hacer que el laboratorio mejore su calidad. (2, 34)

El MC no es un documento obligatorio, pero puede ser valioso al demostrar al médico o a la administración del hospital un compromiso con la calidad.

AI.1. Objetivos de un manual de calidad.

Un MC podría dirigirse a tres objetivos principalmente:

- ⇒ Fijar las políticas de calidad por la jefatura del laboratorio, indicando el compromiso para implementar y mantener un alto estándar de calidad.
- ⇒ Describir la organización, responsabilidad y autoridad del personal responsable del servicio del laboratorio.
- ⇒ Formular las instrucciones de trabajo: las cuales pueden describir el actual procedimiento de medición y otros procedimientos técnicos y administrativos detallados que son necesarios para el trabajo del laboratorio.

Además en el MC se pueden incluir los principios y estructuras de organización del sistema de calidad.

AI.2. Desarrollo y presentación de un manual de calidad.

Cada laboratorio puede elaborar su propio MC para describir aquellas medidas usadas para lograr la calidad deseada y dar confianza en el trabajo del laboratorio.

El MC puede describir procedimientos actuales, implicando que la preparación del mismo sea un estímulo para el propio mejoramiento y muchas veces encuentra relevante mejorar las rutinas.

Puede haber un MC para todos los laboratorios clínicos de un hospital que se referirá a un manual detallado para cada laboratorio o tipo de laboratorio por ejemplo: especializándose en química clínica, hematología, hemostasia, microbiología; o como alternativa, cada laboratorio puede desarrollar independientemente su propio manual. Los mismos principios pueden aplicarse a una sección dentro de un laboratorio dependiendo de su organización.

El MC puede presentarse como un sistema de hojas libres, para poder anexar hojas nuevas o bien hojas

revisadas. Otra opción es apoyarse con una computadora para hacer la actualización más fácilmente.

En el caso de manuales de calidad de tamaño grande y a fin de evitar el trabajo extenso de revisión, se presenta la opción de tratar algunos elementos refiriéndolos a otros documentos disponibles en el laboratorio, los cuales son actualizados separadamente por ejemplo: lista de instrumentos, información acerca de los miembros del personal, direcciones, etc.

A1.3. Reconocimientos del laboratorio clínico que requieren de la elaboración de un manual de calidad

Hay dos posibilidades para que un laboratorio tenga una competencia reconocida.

El laboratorio decide entrar a un sistema de acreditación y el reconocimiento formal de un laboratorio puede ser llevado a cabo por un cuerpo de acreditación, usando los requerimientos de la EN serie 45001. Este estándar sin embargo necesita algunas modificaciones para que puedan ser aplicables al Laboratorio Clínico.

La otra posibilidad es la obtención de una certificación de un sistema de calidad de acuerdo a una certificación ISO 9001 suplementada con la certificación ISC 9004-2.

Un MC es un prerequisite para ambos tipos de reconocimiento. (2, 34)

A1.4. Elementos del manual de calidad

A continuación se definen los elementos del MC que son indispensables para su elaboración:

1 DESCRIPCIÓN DEL LABORATORIO CLÍNICO, IDENTIDAD LEGAL, RECURSOS Y OBLIGACIONES.

1.1 *Tipo, nombre y dirección del hospital y laboratorio.*

Tipo de Hospital (privado, Hospital universitario, Hospital de Distrito, Hospital especializado, etc.)

Nombre, dirección, código postal, teléfono, Fax, etc.

1.2 *Áreas de actividad.*

Describe brevemente las áreas de servicio del laboratorio, ejemplo: Servicio de laboratorio de química clínica, además presenta una lista de instituciones y personas a las cuales sirve el laboratorio.

1.3 *Estructura de la organización.*

Proporciona diagramas de organización mostrando líneas de autoridad y responsabilidades entre el hospital y el laboratorio y dentro del mismo laboratorio.

Los diagramas podrían también cubrir algún servicio periférico, llevado a cabo por el laboratorio.

Aquí se indica con qué frecuencia se hacen las reuniones con la administración del Hospital.

1.4 *Responsabilidades.*

Indica las responsabilidades del laboratorio.

Ejemplo:

Colección de la muestra, transporte, preparación y almacenamiento.
Información tal como: Solicitud del examen, reporte de la medición, información acerca de los procedimientos de medición, información sobre los procedimientos de laboratorio (una lista de pruebas disponibles en el Manual del laboratorio), horas de servicio del laboratorio.

Medición del analito.

Interpretación de resultados obtenidos.

Educación del personal, estudiantes y clientes.

Información a todos los usuarios acerca de las extensiones o limitaciones de cualquier acreditación y certificación.

Investigación y desarrollo.

1.5 *Recursos.*

Personal: presenta una lista del número de empleados de cada categoría.

Áreas del laboratorio: presenta una lista que describe los espacios disponibles para el laboratorio.

Equipo: Se refiere a una lista del equipo más importante.

1.6 *Presupuesto.*

Proporciona una referencia del presupuesto anual conteniendo como mínimo: Costo de salarios, proveedores, equipo, otros gastos e ingresos.

Para muchos laboratorios el presupuesto estará relacionado al número anual de resultados medidos producidos, considerando el factor costo, tal como: sueldos, reactivos, inversión de capital y requerimientos para velocidad y calidad.

Otros servicios proporcionados por el laboratorio tal como docencia, investigación, información en forma de asesoría técnica, programas de GC organizados por otros laboratorios.

El Sistema presupuesto-deuda, podría ser suficientemente detallado para permitir un monitoreo del desembolso para el personal, reactivos, equipo y otros; para proporcionar un despliegue de los costos por resultado o por grupos de resultados; y para calcular el costo de la medición de un grupo de analitos solicitados para un paciente dado.

1.7 *Planes para cambio de actividades o actividades nuevas.*

Describe cualquier plan para el desarrollo futuro del laboratorio, así como los procedimientos que utiliza el laboratorio cuando realiza nuevas actividades o suceden cambios del servicio actual.

2. POLÍTICAS DE CALIDAD.

Presenta las metas las cuales se espera sean logradas implementando las propuestas del sistema de calidad. Esas metas son dadas normalmente como manejo de las políticas establecidas.

Ejemplo:

La intención del laboratorio es proporcionar la información clínica útil a través de mediciones del laboratorio de muestras de pacientes, tomando en cuenta la distribución de recursos.

Los datos reportados podrían ser confiables y las incertidumbres podrían estar de acuerdo con las necesidades clínicas y los estándares técnicos apropiados de la profesión.

La política de Calidad se implementa mediante los siguientes medios:

- Colección apropiada, estabilización, transporte, preparación e identificación de la muestra.

- Trabajo analítico seguro, de modo que los errores sistemáticos y aleatorios no excedan los límites especificados.

- Tiempo de solicitud-entrega dentro de los límites especificados, por ejemplo: para exámenes de emergencia dentro de 1 hr y para mediciones de rutina dentro de 1 semana después de recibir la muestra.

- Reporte de datos en forma clara y suplementada con información adicional relevante, incluyendo intervalos de referencia que permitan la interpretación clínica.

- Comunicación apropiada con los médicos para que el resultado sea interpretado correctamente.

3. PERSONAL Y EDUCACIÓN

3.1 *Especificaciones del puesto.*

Proporciona especificaciones del puesto y la educación requerida para cada categoría de los miembros del personal.

3.2 *Descripción del cargo.*

Proporciona la descripción para empleados individualmente o por grupos con idénticas obligaciones.

3.3 *Reunión del personal.*

Se refiere a la frecuencia con que se tienen las reuniones con el personal, en él se encuentran fechas y horarios en que se llevarán o llevaron a cabo dichas reuniones.

3.4 *Registros de la educación del personal.*

Indica los registros en los cuales se indica la educación, experiencia en el laboratorio, entrenamiento, capacitación del personal del laboratorio.

3.5 *Supervisión, motivación y entrenamiento del personal.*

Proporciona información de cada sección del laboratorio indicando el personal de supervisión, el que no lo es y los medios usados para asegurar la supervisión adecuada. Describe también como el laboratorio se encarga de contribuir con la mejora de calidad, por ejemplo, dando reconocimientos y recompensas por los logros.

Describe los medios que se usan para aumentar la competitividad del personal, tales como entrenamiento dentro

y fuera del laboratorio, o por cambio inmediato a otras secciones del laboratorio sin previo entrenamiento ó la frecuencia de rotación de tareas.

3.6 Disponibilidad de manuales y literatura específica.

Presenta una serie de manuales y revistas y otra información disponible en el laboratorio.

4. MANEJO Y GARANTÍA DE CALIDAD

4.1 Delegación de autoridad y responsabilidades.

Presenta las líneas de autoridad, delegando autoridad y responsabilidad, por ejemplo, por medio de un diagrama. En él se presentan nombres y se designa a las personas que tienen la máxima autoridad y personas responsables para la operación del Sistema de Calidad en las diferentes secciones del laboratorio. También señala a las personas asignadas como suplente del personal de Garantía de Calidad para funcionar en su ausencia.

Describe cómo se llevan a cabo el Manejo y la Garantía de Calidad durante las horas de Servicio.

4.2 Responsabilidad para el Sistema de Calidad, revisión del Sistema de Calidad.

Designa a las personas responsables para desarrollar, implementar y revisar periódicamente el sistema de calidad. Indica cómo se mantienen los registros del manejo del Sistema de calidad. Los reportes se hacen sobre la revisión del sistema de calidad y menciona las acciones correctivas. Describe la relación del personal del sistema de calidad con los otros miembros del personal; los procedimientos para auditorías internas; cooperación con el cliente incluyendo la revisión del servicio.

Debe aclararse que la Garantía de Calidad es materia del personal entero, no solo para los miembros designados a las tareas del sistema de calidad.

Los miembros del personal que lleva a cabo las auditorías o revisión del sistema de calidad, podrían ser independientes del personal del laboratorio de rutina, aunque esto puede no ser posible en los laboratorios pequeños, pero es posible asociar personal de una sección para evaluar el desempeño de calidad en otra sección del laboratorio.

4.3 Manejo del Manual de Calidad.

Designa a las personas responsables para desarrollar, implementar, actualizar, revisar y distribuir el MC y el proceso por el cual es realizado.

Se refiere también a alguna corrección hecha a una hoja de registro, e indica una lista de personas o secciones que reciben el MC y lo actualizan.

4.4 Auditoría Interna.

Designa a las personas que conducen las auditorías, la persona que recibe el reporte de las auditorías y describe

el método usado para instituir cualquier acción correctiva. Se refiere además a las carpetas o archivos que contienen documentos relevantes, y la frecuencia de auditorías del laboratorio.

4.5 *Garantía de Calidad del desempeño analítico de un procedimiento de medición.*

Los procedimientos de optimización de la calidad analítica, se describen en el punto 13 (Control Analítico) que se verá más adelante.

Las especificaciones de calidad detalladas podrían guiarse por las necesidades clínicas y médicas. Esta documentación es de vital importancia para el manejo de casos donde el propio desempeño de calidad pueda ser legalmente cuestionable.

La evaluación de la GC del desempeño analítico de un procedimiento de medición es un proceso continuo. (Fig. A1.1) .

La evaluación inicial debe documentarse y puede involucrar comparaciones con un procedimiento de medición recomendado. Esto puede permitir un proceso introductorio para la selección del procedimiento de medición en la rutina del laboratorio. El siguiente paso está basado en un cerrado escrutinio del desempeño juzgado por los esquemas de CCI y CCE y de posibles observaciones del error sistemático ligado a muestras de ciertos tipos de pacientes por ejemplo, debido a interferencia de fármacos. La estructura de la GC puede permitir el mejoramiento del proceso de medición y mejorar el sistema control.

4.6 *Extensiones y limitaciones de las responsabilidades de los empleados.*

Se refiere a instrucciones escritas e información para los miembros del personal, asegurando que cada empleado esté enterado de las extensiones y limitaciones de su área de responsabilidad durante las horas de trabajo regular y especialmente durante las horas fuera de servicio.

4.7 *Demandas Internas.*

Las demandas internas son situaciones que pueden surgir dentro del laboratorio y que no pueden ser solucionadas por el personal del laboratorio, estas pueden ser deficiencias en algún equipo o reactivo, malfunciones de instrumentos, quejas del mismo personal, etc.

Describe como maneja el laboratorio las demandas internas.

Ejemplo 1:

Las demandas internas acerca de deficiencias durante las horas de servicio son escritas en una bitácora dedicada a ese propósito. Cada mañana el libro es revisado por el jefe o la autoridad y es él quien resuelve la demanda.

Ejemplo 2:

Las demandas internas son recibidas durante las reuniones del personal y las soluciones se obtienen en ellas.

4.8 *Instrucciones en caso de un accidente importante.*

Presenta las reglas del personal para actuar en caso de accidente grave, incluyendo responsabilidades de la autoridad.

Tal información puede tenerse en un manual de instrucciones para accidentes en forma separada. Este manual es necesario especialmente en hospitales los cuales son un centro de atención para víctimas de accidentes.

4.9 *Información confidencial y prevención de influencias impropias.*

Presenta una lista de medidas que debe aplicar el laboratorio para proteger información confidencial acerca de los pacientes, instrumentos nuevos, procedimientos de medición o estudios de interés comercial. Se refiere también a las reglas para proteger al laboratorio contra influencias impropias (corrupción).

5. REGISTROS, MANTENIMIENTO Y ARCHIVOS.

Se refiere al procedimiento usado para mantener los registros del laboratorio actualizados. Los registros referidos consisten: de materia administrativa, documentación del manejo de calidad, datos de clientes, cuestiones analíticas tales como: procedimientos de medición, observaciones, cálculos, datos de calibración y control, registros del mantenimiento del equipo, reporte final, datos de referencia y otra información que afecta la calidad.

Identifica los procedimientos de medición que están incluidos en el MC.

Designa lugares dentro del laboratorio donde el personal puede tener acceso a la lectura de esos registros o archivos.

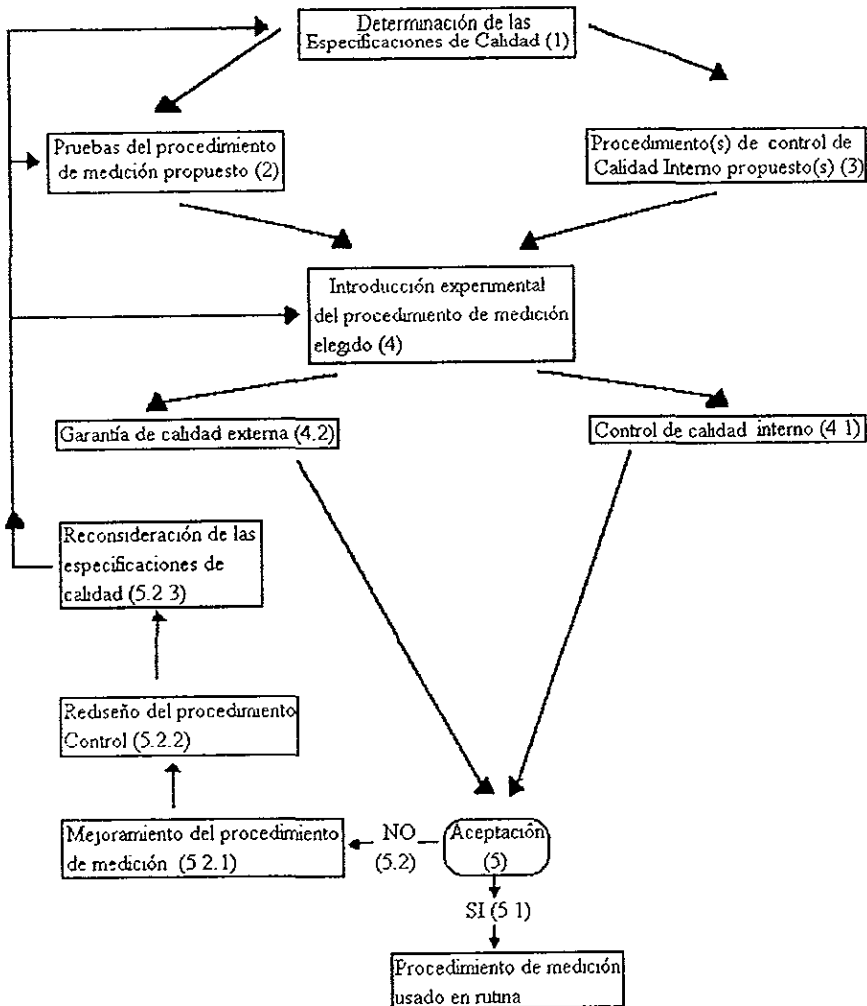


Fig. A1.1. Estructura de la Garantía de Calidad del desempeño analítico del procedimiento de medición. (34)

- (1) Las especificaciones pueden tomarse de las necesidades clínicas.
- (2) Pueden establecerse las características de desempeño del procedimiento analítico en términos de incertidumbre y exactitud.
- (3) El procedimiento puede diseñarse para detectar si los resultados cumplen con las especificaciones establecidas.
- (4) El uso combinado del CCI (4.1) y de CCE (4.2) es importante para asegurar que el procedimiento de medición es el adecuado.
- (5) Resultados.
- (5.1) La calidad de los resultados cumple con las especificaciones y son aceptados. El procedimiento de medición se utiliza bajo el estricto CCI y CCE. Si los resultados no son aceptables de acuerdo a las reglas de control, el procedimiento a seguir está indicado en el punto 5.2 del diagrama.

6. RECURSOS

6.1 Áreas de trabajo.

Presenta o se refiere a un documento que describe las áreas del laboratorio.

Indica el nombre del miembro del personal que es responsable de la evaluación de tales áreas y de reportar las deficiencias al jefe del laboratorio.

Ejemplo:

Espacio para la recepción.

Despacho.

Área de trabajo (manipulación, procesamiento de muestras).

Área de espera.

Consultorio de toma de muestra, etc.

6.2 Áreas de almacenamiento.

Describe brevemente las áreas de almacenamiento. Indica las personas que son responsables de mantenerlas en orden y quienes son responsables de reportar las deficiencias.

Ejemplo:

Almacenar separadamente las muestras altamente infecciosas. Todos los contenedores deben ser debidamente marcados o etiquetados y cualquier contenido tóxico indicado de forma visible.

A continuación se presentan sustancias que requieren almacenamiento especial:

Gases comprimidos (N₂, acetileno, etc.)

Nitrógeno líquido (en lugares bien ventilados)

Ácidos fuertes volátiles (almacenamiento en gabinetes ventilados)

Sustancias inflamables (almacenados en refrigeradores a prueba de chispas)

Almacenamiento especial para sangre y productos sanguíneos (en refrigeradores con control de temperatura adecuada).

7. EQUIPO

7.1 Lista de Equipo.

Enlista el principal equipo haciendo un inventario. En él se encuentra todo el equipo analítico, incluyendo computadoras, equipo del laboratorio, equipo de respaldo (no necesariamente instrumentos del almacén).

Da el nombre del fabricante, modelo, número de serie, precio, emplazamiento del contrato y garantía, fecha de adquisición, y del primer servicio del equipo.

Contiene indicaciones sobre mantenimiento regular preventivo y si el equipo requiere de calibración.

7.2 Mantenimiento de instrumentos.

Indica las medidas tomadas para asegurar un mantenimiento periódico adecuado e instrucciones específicas. Describe el manejo y las acciones para condiciones específicas y la frecuencia de los servicios a los instrumentos.

7.3 Monitoreo del desempeño de instrumentos.

Indica las medidas que se toman para revisar el funcionamiento del instrumento tales como: escala de absorbancia del espectrofotómetro, temperatura, estabilidad, y registros de alarmas internas.

Designa a las personas que son responsables de este trabajo. Los datos y las decisiones tomadas pueden registrarse en una Bitácora.

7.4 Procedimientos y manejo de instrumentos de calibración.
Indica todo el equipo sujeto a calibración; toda una lista de calibraciones (anteriores y próximas); indica los recursos de calibración, su uso y si son nacionales o internacionales. Indica los estándares de referencia o materiales referencia.

El equipo de menor complicación, por ejemplo: pipetas, también necesitan calibración regular. En cada procedimiento de medición, deben indicarse los instrumentos sujetos a calibración.

Muchas veces el sistema control cubre la totalidad del sistema de medición; cuando el sistema control produce una alerta esto indica un error en alguna parte, y la calibración de cada paso podría determinar la causa de esas variaciones. Los tipos de instrumentos considerados para calibración regular son: balanzas, dispensadores, dilutores, espectrofotómetros, contador de células, centrifugas. La frecuencia con que aparecen errores y el sistema control podrían determinar la frecuencia de calibración. En cualquier caso, un laboratorio podría tener acceso siempre a una balanza que proporcione valores confiables.

7.5 Fallas en los instrumentos y malfunciones.

Indica brevemente lo que debe hacerse cuando un equipo comienza a fallar.

7.6 Compras y admisión de procedimientos para equipo y productos utilizables.

Identifica al personal legalmente responsable para cada adquisición importante y aquellos responsables para cualquier prueba de aceptación.

Indica las precauciones que deban tomarse en la compra del equipo o productos utilizables.

7.7 Instrumentos con requerimientos ambientales especiales.
Presenta una descripción de los requerimientos ambientales especiales de cada equipo y cómo deben satisfacerse.

7.8 Contratación de equipo externo.

Identifica aquellos detalles del equipo que el laboratorio clínico no tiene para llevar a cabo ciertas mediciones. Enlista nombre y direcciones de las compañías, instituciones o departamentos que hacen disponibles tales equipos al laboratorio clínico.

En algunos casos las mediciones se hacen contratando el personal e instrumentos a otra institución.

8. SEGURIDAD Y AMBIENTE.

8.1 *Sistemas de seguridad del hospital.*

Describe la estructura de la organización (manejo) del Sistema de Seguridad del Hospital.

8.2 *Sistema de Seguridad del Laboratorio.*

Describe la estructura de la organización (manejo) del Sistema de Seguridad del laboratorio.

Designa a las personas quienes son responsables de las precauciones ambientales y de seguridad (Oficiales de seguridad).

8.3 *Instrucciones de Seguridad.*

Se refiere a una lista de instrucciones de seguridad, de salud y ambientales e indica donde encontrarlas. Aquí pueden incluirse medidas de seguridad que conciernen a muestras infecciosas, químicos peligrosos, desechos, instalaciones eléctricas, radiación y peligros mecánicos. También contiene instrucciones para el propio aseo del laboratorio, y consideraciones de operación de equipo analítico. Las precauciones específicas de seguridad y ambientales normalmente se describen en el proceso de medición.

8.4 *Materiales peligrosos.*

El almacenamiento de tales materiales puede indicarse en la sección 6.2 (Áreas de almacenamiento). La protección del personal y un dispositivo para materiales peligrosos pueden cubrirse en la sección 8.3 (Instrucciones de seguridad).

9. INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO.

9.1 *Política.*

Establece la política general del laboratorio para la investigación y desarrollo de programas para la rutina, así como investigación clínica y participación en estudios clínicos.

La investigación y el desarrollo son elementos esenciales para asegurar una alta calidad del servicio de laboratorio.

9.2 *Especialidades.*

Se refiere a una sección de investigaciones continuas y de desarrollo. Cada proyecto necesita su carpeta exclusiva para almacenar documentos necesarios, ejemplo: protocolos, papeles del comité ético, presupuestos, etc.

9.3 *Sistemas de Garantía de Calidad.*

Describe los procedimientos que el laboratorio emplea para asegurar la calidad y el desarrollo del trabajo de investigación. Indica fundamentalmente los requerimientos de auditorías científicas.

10. CANTIDADES MENSURABLES Y PROCEDIMIENTOS DE MEDICIÓN.

10.1 Procedimiento de medición.

Presenta una serie de pasos para un procedimiento de medición completo, y en caso de usarse métodos de estándares internacionales, deben ser referidos.

Ejemplo:

Nombre de la cantidad a ser medida (parte genérica de la cantidad denominada: Sistema-Componente; tipo de cantidad)

Función del procedimiento de medición (referencia, rutina)

Seguridad (resumen de las precauciones de seguridad)

Antecedentes biológicos y clínicos

Método de medición

Aparatos y utensilios (lista en orden cronológico cada artículo usado durante la medición)

Representantes locales del fabricante, con números telefónicos.

Reactivos (descripción sistemática de reactivos, su preparación, validación, condiciones de almacenamiento y caducidad)

Muestra analítica (tipo, condiciones para la colección de la muestra, pretratamiento, almacenamiento, circunstancias especiales, ejemplo: turbidez y hemólisis).

Medición (describe los pasos cronológicamente; preparación de los reactivos usados diariamente, aparatos, lecturas, diluciones especiales, limpieza y remoción de desechos; precauciones de seguridad).

Calculo de resultados (ecuaciones, programas computacionales)

Control de Calidad (materiales control, reglas de aceptación, diagramas control)

Garantía de Calidad a largo plazo (combinación de datos de control de Calidad Interno y Externo)

Especificaciones de desempeño analítico (dentro de una corrida, entre corridas, variación, incertidumbre, límites de detección, límites bajos y altos de determinación, límite de dilución, costo, velocidad)

Fuentes de error (su detección, sustancias de interferencia, inespecificidad)

Mantenimiento (diagramas de mantenimiento, mantenimiento preventivo)

Formato del Reporte

Interpretación clínica (sólo referencias esenciales)

Autor Responsable, fechas de revisiones pasadas y revisiones planeadas.

Fecha y firma de autorización

Anexos, diagramas de flujo, diagramas control, diagramas de mantenimiento y registros de validación del procedimiento de medición.

10.2 Identificación de resultados por diferentes tipos de procedimientos de medición o instrumentos disponibles.

La misma cantidad puede ser medida en diferentes secciones del laboratorio y por diferentes procedimientos. El análisis puede ser desarrollado en la rutina del laboratorio y también en el laboratorio de emergencias. Describe como el laboratorio es capaz de encontrar el procedimiento de medición y el instrumento que se usó en cada caso. Presenta los procedimientos para asegurar los resultados de igual calidad por diferentes procedimientos de medición e instrumentos.

10.3 Calibración y uso de materiales de referencia.

Describe las políticas de calibración del procedimiento de medición. Establece la política del laboratorio para los

requerimientos de confiabilidad de la calibración del fabricante.

En principio, los procedimientos pueden calibrarse a través de materiales de referencia bien caracterizados, explicar la actual técnica de calibración en cada procedimiento de medición y especificar cual material de referencia es la base de la calibración y cual es usado para control. La confiabilidad del procedimiento es asegurada a través de comparaciones con estándares de medición primarios. Si un sistema de medición y el procedimiento son precalibrados por el fabricante, él podría proporcionar la información necesaria para la confiabilidad. Cuando un procedimiento de medición elegido de acuerdo a su productividad y economía es en algún grado no específico, la calibración puede contar con mediciones paralelas de muestras clínicas y la calibración del material llevada a cabo por ambos procedimientos: de rutina y de referencia.

10.4 Cooperación entre laboratorios.

Cuando dos o más laboratorios unen esfuerzos para desarrollar mediciones específicas, deben establecerse claramente la división de las responsabilidades, funciones, reporte de actividades y manejo de quehaceres.

11 SOLICITUD DE PROTOCOLOS, COLECCIÓN Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS.

11.1 Solicitud.

Indica la forma de solicitar exámenes de rutina o de urgencia, por medio postal, teléfono u otros medios. Se refiere además a instrucciones más detalladas para la solicitud de mediciones individuales con requerimientos especiales.

11.2 Preparación del paciente.

Se refiere a los procedimientos para la instrucción de pacientes previo a la colección de la muestra. El laboratorio es normalmente responsable para la correcta instrucción del paciente con respecto a las condiciones del correcto muestreo (Actividad física previa a la colección, tiempo de la colección, postura, ayuno, retiro de fármacos). Indica así mismo las responsabilidades del laboratorio en investigaciones consecutivas.

11.3 Colección de la muestra, identificación y recepción.

Describe en detalle los sistemas de identificación de pacientes inequívocos. Menciona posibles precauciones en casos de pacientes que no pueden comunicarse, bebés y niños pequeños. Describe brevemente el procedimiento para la solución de la muestra correcta y su registro. Se refiere a las instrucciones de la colección de la muestra para el personal. Indica también instrucciones para situaciones especiales tales como muestreo por cánula intravascular, y

muestreo de pacientes que reciben infusión, además contiene instrucciones para el transporte de la muestra del laboratorio. Indica reglas escritas para la aceptación o rechazo de muestras mal etiquetadas o por otro lado, muestras no aceptables (tubo incorrecto, hemólisis) Indica procedimientos especiales para manipulación de muestras para garantía de calidad externa.

11.4 Preparación de muestras.

Indica brevemente la práctica del laboratorio para excluir la contaminación y deterioro de muestras primarias (tomadas del paciente), muestra de laboratorio (preparada para el laboratorio y recibida por el laboratorio) y muestras analíticas.

11.5 Distribución y almacenamiento de muestras.

Describe como son distribuidas las muestras primarias, de laboratorio y analíticas a las diversas secciones de trabajo en el laboratorio. Se refiere a instrucciones generales o específicas sobre condiciones de almacenamiento y tiempos de almacenamiento máximo para posibles repeticiones de medición.

11.6 Distribución de muestras

Describe brevemente instrucciones para la distribución de muestras y materiales relacionados.

12. VERIFICACIÓN DE RESULTADOS.

Indica las técnicas empleadas por el laboratorio para verificar sus cálculos y transferencia de datos de resultados de pacientes individuales.

13. CONTROL ANALÍTICO

13.1 Control de cada corrida.

Presenta brevemente las indicaciones generales para el control de los errores sistemáticos y aleatorios en cada corrida de mediciones.

El procedimiento de control analítico podría documentarse para cada procedimiento de medición incluyendo:

- El material control, tipo de material, procedimiento para preparar la solución control, confiabilidad de valores asignados, número de lote.
- El uso de material control en el procedimiento de medición, frecuencia y posición en la corrida analítica.
- Guías en la interpretación de datos control, incluyendo reglas estadísticas para la aceptación o rechazo de datos obtenidos.
- Documentación de datos de Control de Calidad.

13.2 *Monitoreo a largo plazo de error sistemático y error aleatorio.*

Describe los principios generales para la evaluación de errores sistemáticos y aleatorios.

13.3 *Otros procedimientos Control.*

Proporciona información acerca de las actividades adicionales del control de calidad, como es el uso de valores medios de pacientes, verificación de los historiales de los resultados de los pacientes.

13.4 *Comparación interlaboratorio y evaluación de calidad externa.*

Describe brevemente cuales esquemas de evaluación de calidad externa son usados. Indica los registros a largo plazo de resultados y acciones tomadas con respecto a la participación del laboratorio en dichos programas y de comparaciones interlaboratorio. Contiene instrucciones para comunicación interna de los resultados del laboratorio en esquemas de evaluación de calidad externos.

14. REPORTE

14.1 *Forma de Reporte*

Presenta ejemplos de reportes típicos sobre hojas de computadora.

El reporte puede contener resultados de diferentes cantidades sobre diferentes muestras pero solamente de un paciente. Puede contener referencias anexadas para resultados adicionales en formas especiales (figuras, dibujos, fotos, etc.)

El reporte puede incluir:

- Nombre y dirección del laboratorio
- Tipo de paciente (hospitalizado, especialidad médica)
- Identificación del paciente (fecha de nacimiento, número de cama, dirección, etc.)
- Fecha y hora del muestreo.

El resultado debe presentarse de acuerdo a las recomendaciones IFCC/IUPAC

- Sistema
- Componente
- Valor numérico
- Unidades
- Valor de incertidumbre de la medición
- Intervalos de referencia biológicos (de acuerdo a la edad y sexo) Intervalo terapéutico, cuando se requiera.

El reporte puede contener la firma de la persona responsable de la medición, pero en algunos casos esto no es necesario.

Cuando hay poco espacio disponible en el formato del reporte, existe información que puede presentarse en otros documentos, ejemplo: valor de incertidumbre (y la variación

intraindividual) que pueden presentarse en el manual del laboratorio.

La forma del reporte podría incluir también la posibilidad de comentarios sobre el Resultado, ejemplo: cuando la muestra es lipémica, icterica o hemolítica.

El reporte puede resultar en más de una hoja y cuando es así debe indicarse el número de páginas de un total.

14.2 Reportes telefónicos, por computadora, Fax, etc.

Los reportes normalmente se hacen de forma escrita, pero en casos de emergencia los reportes pueden darse por teléfono. En este caso debe indicarse en el manual o en otro tipo de instrucciones el modo de reportar el resultado provisionalmente.

El reporte telefónico debe tenerse siempre por escrito.

14.3 Correcciones a reportes

Presenta el procedimiento para corregir o añadir a los reportes ya emitidos. Esto podría incluir un registro de cada evento e identificación de la persona responsable en casos donde la corrección se haga en una hoja nueva del reporte, puede incluirse información acerca de la corrección.

14.4 Disponibilidad del reporte

Indica cómo y para quién están disponibles los resultados.

14.5 Tiempo de realización y entrega

Se refiere al tiempo máximo en que el laboratorio emite el resultado. También describe el sistema de monitoreo del tiempo.

15. COOPERACIÓN CON EL MÉDICO, PERSONAL Y PACIENTES

15.1 Manual del laboratorio

Se refiere al manual del laboratorio, el cual está hecho para facilitar la comunicación con el usuario del servicio del laboratorio. En términos generales proporciona una guía sobre los servicios disponibles y cómo usarlos.

Ejemplo:

Manual del laboratorio del departamento de Química Clínica en el hospital.

·Nombre del laboratorio, localización, horario de servicio, número telefónico.

·Tabla de contenidos.

·Prefacio.

·Organización del laboratorio, estatus de acreditación.

·Definiciones y abreviaturas.

·Detalles del servicio (Servicios de rutina, servicios fuera de horario de servicio, servicios de emergencia, servicio a pacientes foráneos, tipos de muestra, manipulación de muestras, seguridad, forma de solicitud, tiempos de entrega de resultados, reportes, consultas planeadas, procedimientos para una queja)

·Servicios en conexión con investigaciones.

·Descripción de los tubos de muestreo disponibles.

- Instrucciones para la colección de la muestra (Preparación del paciente, identificación del tubo de la muestra, colección de la muestra y preparación).
- Transporte de muestras, incluyendo requerimientos postales.
- Pruebas de tolerancia.
- Lista de cantidades genéricas disponibles (Pruebas) en orden alfabético de acuerdo al componente (Analito) (Indicaciones de la cantidad, medida del desempeño del laboratorio, tiempo de entrega del resultado, posibles estatutos de la solicitud, forma de solicitud, tubo de la muestra primaria, especificaciones del procedimiento de colección de la muestra incluyendo, preparación de la muestra y tubo de la muestra que se enviará por servicio postal, cantidad de muestra necesaria, opciones de reporte, límites de alarma para proporcionar reporte telefónico de resultados inusuales, métodos de medición, incertidumbre de medición, variación preanalítica e intraindividuales, intervalos de referencia, interpretación clínica).
- Serie de cantidades (perfiles)
- Guía para interpretar resultados de laboratorio (variación biológica preanalítica, variación analítica e implicaciones prácticas, influencias in-vivo e in-vitro).
- Guía para seleccionar cantidades (monitoreo de fármacos, intoxicación, clasificación de cáncer y monitoreo de terapias)
- Anexo A. Cantidades genéricas (exámenes) disponibles fuera de las horas de servicio.
- Anexo B. Lista de precios.

15.2 Consultas.

Se refiere a documentos que describen las consultas o asesoramientos como actividades del personal del laboratorio y como reportar tal actividad.

Esto incluye como mínimo:

- Procedimientos para el entendimiento con el personal médico y enfermeras;
- Participación en reuniones del personal clínico;
- Personal responsable designado para contactar con el área específica, personal médico o bien con el paciente que se desea consultar.

15.3 Evaluación del servicio.

Describe un sistema por medio del cual el laboratorio asegura la retroalimentación de su trabajo con médicos y otros clientes. Esto podría tomar la forma de reuniones regulares con los departamentos clínicos. Describe cómo se llevan a cabo las acciones correctivas cuando son necesarias.

Ejemplo:

Tópicos elegidos para entrevista con el paciente.

Sala de espera.

Sala de muestreo.

Información escrita.

Todas las instrucciones y especificaciones.

Tiempo de espera.

Técnicas de colección de muestra.

Servicio del personal.

15.4 Quejas externas.

Describe los métodos por los cuales el laboratorio responde a las quejas incluyendo cómo se llevan a cabo las acciones correctivas.

16. FECHA Y FIRMAS.

Fecha de emisión del manual de Calidad con la firma del responsable.

Una fecha planeada para una revisión puede ser útil.

APÉNDICE 2

A2.INTERFERENCIAS ANALÍTICAS

Aún cuando no surjan errores en el momento de la ejecución del método, el médico puede encontrarse con resultados que no puede correlacionar con los hallazgos clínicos. El pensará que son errores causados por las deficiencias de calidad del laboratorio, esto crea desconfianza del médico hacia el laboratorio, por eso es de vital importancia que además de garantizar la confiabilidad de los resultados, se desee detectar oportunamente situaciones anormales en los especímenes estudiados.

Los resultados alterados, ya sean disminuidos o aumentados, pueden deberse a la interferencia de muchas sustancias, que en el momento del análisis interactúan con los reactivos del procedimiento analítico, y por lo tanto no se deben a una mala ejecución analítica por parte del personal del laboratorio. Tales sustancias interferentes están en la muestra del paciente y la mayoría son fármacos o sus metabolitos, pero también pueden ser otros constituyentes en la muestra como bilirrubina o hemoglobina. Las interferencias de que hablamos se definen a continuación.

Los efectos de los fármacos en las pruebas de laboratorio están considerados en dos categorías:

1) Efecto analítico (in vitro), en el cual el fármaco y/o sus metabolitos pueden interferir en cualquier etapa del análisis de un metabolito.

2) Efecto biológico, en el cual el fármaco provoca un cambio en una variable biológica por un mecanismo fisiológico, farmacológico ó tóxico (efecto in vivo).

El mecanismo farmacológico puede ser deseable o indeseable. El primero refleja la acción terapéutica del fármaco sobre la patogénesis de la enfermedad motivo por el cual el fármaco está siendo administrado, por ejemplo, el nivel de glucemia puede encontrarse normal debido a la administración de hipoglucemiantes, del mismo modo que el alopurinol, un inhibidor de la xantina oxidasa es utilizado para reducir los niveles de ácido úrico en pacientes selectos. Los segundos son adicionales a la acción terapéutica y pueden causar alteraciones inesperadas de las sustancias bioquímicas. (35)

Los medicamentos pueden causar efectos tóxicos indeseables o efectos adversos, como se evidencia por cambios en las pruebas de funcionamiento renal o hepático. Por ejemplo, en algunos individuos las fenotiazinas producirán un cuadro de ictericia obstructiva, con elevación de bilirrubina y fosfatasa alcalina en suero. (36)

Los conocimientos farmacológicos de los efectos de los medicamentos ayudan a explicar la modificación de resultados esperados.

Químicamente un fármaco o sus metabolitos pueden interferir con la exactitud de la determinación del constituyente que se quiere medir, por ejemplo, la metildopa usada en el tratamiento de la hipertensión, producirá un resultado falso positivo para las catecolaminas urinarias, una vez que estas reaccionan en el método para producir un verde fluorescente similar al producido por la norepinefrina.

El medio de contraste radiográfico, contiene un compuesto orgánico yodado que invalida las determinaciones de todo unido a proteínas debido a su alto contenido de yodo. Otros fármacos pueden interferir produciendo reacciones de color extraño, por quelación o por inhibición de actividad enzimática. (36)

Además de las interferencias químicas por fármacos podrían considerarse también los efectos de los anticoagulantes y los cambios marcados en las concentraciones de sustancias medidas en fluidos corporales, las cuales pueden alterar los resultados de las pruebas de laboratorio. Hemólisis, lipemia y bilirrubina sérica elevada interfieren en algunos procedimientos. Por ejemplo, el paciente con uremia asociada a altos niveles de creatinina y ácido úrico puede presentar valores elevados falsos de glucosa cuando ésta es medida por el antiguo método de ferrocianuro alcalino.

Las interferencias químicas surgen primariamente de la falta de especificidad de los métodos usados para medir las sustancias deseadas. Los métodos usuales de control de calidad, en los que se incluye un suero control o estándar con cada serie de determinaciones, no detectará errores surgidos por la interferencia de alguna sustancia en las muestras desconocidas.

A continuación aparecen en orden alfabético el método analítico afectado. En cada uno se encuentran también en orden alfabético las sustancias que causan la interferencia seguidas de las anotaciones(-), (+) ó (±), para indicar si causa un falso negativo o disminución del valor, falso positivo o aumento del valor, o que puede aumentar o disminuir el valor.

Ácido úrico.

A. Reducción del fosfotungstato por urato en solución alcalina para producir color azul. Muchas de las siguientes sustancias o sus metabolitos interfieren como agentes reductores.

Ácido ascórbico (+). En el método carbonato-fosfotungsteno, 1mg de ácido ascórbico produce un color equivalente a 91.3 mg de ácido úrico. Esta interferencia puede ser eliminada por el tratamiento preliminar del suero con un álcali diluido.

Cafeína (+). Los metabolitos de la cafeína y teofilina incluyen ácido úrico metil sustituido, el cual actúa como agente reductor. 1g de cafeína o teofilina por día aumenta los cromógenos no ureicos en la orina cerca de 40 mg (dieta baja en purina) a 400 mg/ día. La concentración de los metabolitos en plasma son probablemente insignificantes.

Cloruro (-) Puede estar presente como una impureza en el agua destilada. El hipoclorito oxida uratos en solución alcalina.

Ergotionina (+). Presente en los eritrocitos pero no en plasma. Interfiere si el suero está hemolizado.

Glutación (+)

Levodopa (+). Cuando es administrado en dosis de 3-7g/ día, el ácido úrico en suero es elevado aparentemente en un 20% y el ácido úrico urinario se incrementa 2-4 veces el límite superior normal.

Metildopa (+). Con la dosis oral usual, las concentraciones plasmáticas son insignificantes (2-3µg/ml), pero la excreción urinaria puede ser de 250mg/ día. Se ha observado que una solución acuosa de 10 mg/dL produce un color equivalente a 10 mg/dL de ácido úrico con el método de carbonato-fosfotungstato.

Fenacetina (+). La ingestión de 2g de fenacetina o su metabolito, N-acetil-p-aminofenol aumenta el ácido úrico aparente aproximadamente 1mg/dL después de 2 a 4 hr. La concentración aparente de ácido úrico en orina se incrementa el doble.

Ion Potasio (+). Produce turbidez con fosfotungstato alcalino. El plasma que contiene sales de potasio de anticoagulantes es inadecuado para las determinaciones de ácido úrico.

Salicilato (+). El ácido genticico, un metabolito, actúa como agente reductor. Relativamente aparecen altas concentraciones en orina, pero no en plasma. Sin embargo, altas concentraciones de cromógenos resistentes a uricasa han sido reportados en suero de pacientes con gota, los cuales mantuvieron salicilatos en suero de 30mg/dL.

B. Métodos dependientes de la acción de la uricasa.

Formaldehído (±). La formalina inhibe la actividad de la uricasa. Disminuyen los valores si la formalina es agregada como preservativo al espécimen. Los resultados altos aparentes se obtienen si las muestras desconocidas se comparan a estándares que contienen formalina.

Amilasa

Se reporta que los siguientes anticoagulantes reducen la actividad de amilasa en el plasma cerca de un 20% comparado con suero o plasma heparinizado.

Citrato (-)

Fluoruro (-)

Oxalato (-)

Bilirrubina.

A: La bilirrubina sérica es determinada por la reacción con ácido sulfanílico diazotizado para producir azobilirrubina rojo-violeta. En el método Malloy- Evelyn, la mezcla final es ácido y contiene 5% de metanol. Un blanco de suero es incluido rutinariamente.

Dextran (+). Usado como un dilatador del plasma, produce una turbidez en presencia de metanol. El suero blanco tiende a ser variable y no proporciona una adecuada corrección.

Hemoglobina (-). El nitrito convierte la hemoglobina a metahemoglobina. Disminuye los valores de bilirrubina y está relacionado a la competición por el nitrito entre la hemoglobina y el ácido sulfanílico.

B. Estimación espectrofotométrica directa de bilirrubina. Las lecturas están hechas a dos longitudes de onda para corregir la absorbancia por hemoglobina. Las lecturas a una longitud de onda (usualmente a 460nm) están reportadas en términos de índice de ictericia.

Caroteno (+). Este pigmento está presente normalmente en suero y aparece en exceso después de la ingestión de grandes cantidades de zanahorias y otros vegetales de color amarillo.

Hemoglobina (+) Causa una falsa elevación en el índice de ictericia, especialmente si las lecturas se hacen a 420 nm más que a 460nm.

Lipemia (+). Contribuye a la absorbancia y no es corregido por la lectura a dos longitudes de onda puesto que la absorbancia aparente de soluciones turbias aumenta conforme disminuye la longitud de onda.

Novobiocina (+). Un metabolito crómico amarillo del fármaco aparece en el plasma.

C. Bilirrubina en orina es detectada por reacción con un compuesto diazonio acidificado, disponible en tabletas o en forma de test en tira para producir un color azul a púrpura.

Ettoxazen (+). Colorea la orina de rojo naranja y puede ser mal interpretado como positivo para bilirrubina.

Calcio.

A. Espectrofotometría de emisión (fotometría de flama). Este método de análisis no ha ganado mucho terreno a favor en el laboratorio clínico debido a la relativamente baja concentración de calcio en suero, la alta temperatura requerida de la flama e interferencia de varias sustancias.

Sodio (+). Aumenta la señal de calcio. Exceso de sodio es añadido al estándar y a la muestra desconocida para minimizar el efecto.

Fosfato (-). El efecto depresor puede ser minimizado agregando fosfato al estándar.

B. Espectrofotometría de absorción atómica. Está reportado que las siguientes sustancias deprimen los valores observados de calcio en suero, pero el efecto puede ser contraatacado (excepto por proteínas), añadiendo cloruro de lantano a los estándares y a las muestras desconocidas.

EDTA (-)

Oxalato (-)

Sulfato (-)

Fosfato (-)

Proteína (-). Que se compensa agregando proteína al estándar.

C. Precipitación de calcio con oxalato. El precipitado es lavado para remover el exceso de oxalato, luego es disuelto en ácido y valorado con permanganato de potasio bajo condiciones controladas.

EDTA (-). Puede estar presente en suero de pacientes tratados con EDTA. El suero puede ser acidificado a pH de 3 a 5 antes de la precipitación de calcio con oxalato.

D. Métodos dependientes de la titulación de iones Calcio con EDTA usando varios puntos finales colorimétricos o fluorométricos, o determinaciones de rectas espectrofotométricas basadas en la producción de color con indicadores de Calcio en solución alcalina. Una amplia gama de indicadores y condiciones finales de trabajo han sido usados. Actualmente el grado de interferencia de las siguientes sustancias puede ser determinada para el método particular empleado.

Bilirrubina (\pm). Puede interferir con la detección del punto final en métodos titrimétricos, contribuyendo a la absorbancia en métodos fotométricos.

Citrato (-). Forma quelatos con iones calcio. Puede estar presente en suero después de transfusiones de sangre citrada.

Cobre (II) (+). Es improbable que esté presente en concentraciones significantes en fluidos biológicos. La adición de cianuro vence la interferencia.

EDTA (-). Forma quelatos con los iones calcio. Puede estar presente en suero de pacientes tratados con EDTA.

Hierro (II) (+). Es improbable que esté presente en concentraciones significantes en fluidos biológicos. La adición de cianuro vence la interferencia.

Magnesio (+). La interferencia depende de la especificidad del indicador para el calcio y el pH de la mezcla de reacción final.

Fosfato (-). Se compleja con los iones calcio. El grado de interferencia depende de las concentraciones absoluta y relativa de los iones calcio y fosfato. La interferencia es más común en determinaciones de orina por su alto nivel de fosfato. Todos los métodos deben ser evaluados individualmente.

Sulfobromoftaleína (BSP) (+). Produce un color violeta en solución alcalina la cual contribuye a la absorbancia o a oscuros puntos finales en métodos titrimétricos.

Zinc (+). No es común que esté presente en concentraciones significantes en fluidos biológicos. La adición de cianuro vence la interferencia.

Cloruro.

A. Titulación con nitrato de mercurio para formar cloruro de mercurio no ionizado. El indicador difenilcarbazona es usado para detectar el punto final.

B. Titulación colorimétrica-amperométrica por generación de iones de plata.

Bromuro (+). Este ion reacciona similarmente al cloruro en algunos métodos. En los casos de envenenamiento el bromuro tiende a reemplazar al cloruro y la suma de los dos halógenos da un valor normal aparente de cloruro.

Colesterol.

A. Métodos basados en la reacción de Liebermann- Buchard (acético anhídrido/ácido sulfúrico) aplicado directamente al suero se produce un color verde. (Este es un método muy antiguo que actualmente casi no se utiliza, sin embargo todavía es distribuido comercialmente para determinaciones manuales.)

Bilirrubina. (+). Convertido en un pigmento verde, biliverdina, en una mezcla de reacción. Un mg de bilirrubina se ha reportado que produce un color equivalente a 20 mg de colesterol. La interferencia es menor en procedimientos que involucran la extracción preliminar.

B. Métodos basados en la reacción con ion férrico en la mezcla ácido acético- ácido sulfúrico. Un color violeta es producido. La reacción puede aplicarse directamente al suero o a extractos libres de proteínas.

Aminopirina (+)

Bilirrubina(+). La interferencia es menor cuando se usa la extracción de proteínas por precipitación o extracción con solventes.

Bromuro (+). Hay interferencia cuando se usan extractos con isopropanol pero no con extractos con etanol. Con extractos de isopropanol un nivel de bromuro sérico de 10 mmol/L aumenta aparentemente el colesterol sérico a 30 mg/dL.

Cloropromazina (+). 50 mg en la mezcla de reacción final produce un color rojo con absorbancia de 0.23. No se ha encontrado interferencia en métodos fluorométricos.

Nitratos y Nitritos (-). Se ha demostrado que 10 µg de nitrito o nitrato en la mezcla de reacción final reduce aparentemente el colesterol 30% aproximadamente. El nitrato puede estar presente en el ácido sulfúrico. Se ha encontrado nitrito en un lote de isopropanol suficiente

para deprimir la absorbancia de un estándar de 200mg/dL 25%.

Salicilatos (+). La interferencia ha sido sugerida pero en otros estudios en los que se añade salicilato al suero para producir niveles de 100 mg/dL y no se han encontrado interferencias.

Tiouracil(-). Cuando se usa como preservativo a niveles de 13 mg/dL, a el colesterol sérico aparentemente disminuye de 30 a 40 mg/dL.

Triptófano(+). Presente en las proteínas produce un color rojo en la reacción directa, cuando el ácido glioxílico está presente como un contaminante en ácido acético. Se ha establecido que el límite máximo de triptófano en suero es de 3mg/dL. En éste método, 1 mg de triptófano da un color que equivale a 1mg de colesterol. Otros estudios en los que se ha observado una disminución en los valores del colesterol aparente del 40%, cuando la reacción de hierro-ácido sulfúrico se aplica directamente ya sea al suero a los extractos de isopropanol. La adición de 10 dL de triptófano al suero no producen aumento de los niveles de colesterol con otra técnica. En general, las determinaciones directas de suero por el método hierro-ácido sulfúrico, dan resultados más altos que cuando se aplica a extractos. Esto probablemente es un resultado de la ligera carbonización de las proteínas por el desarrollo de calor.

Vitamina A (+). Niveles de 150µg/dL en suero se ha reportado que aumentan el colesterol de 100 - 150mg/dL cuando es empleado el método directo. Pero otros estudios reportan que no se confirman estos mismos hallazgos.

Creatinina

La creatinina reacciona con picrato en solución alcalina para formar café-rojizo (reacción Jaffé). El completo desarrollo del color requiere 15 a 20 min. a 25°C. Los métodos cinéticos parecen basarse en el grado de desarrollo del color. A temperaturas elevadas, el picrato es reducido a picramato café rojizo por glucosa y otras sustancias reductoras. Los esfuerzos para mejorar la especificidad de la reacción han incluido, ya sea la extracción y/o el tratamiento preliminar con iodo para remover las sustancias de interferencia. Prácticamente la reacción de Jaffé es usualmente aplicada directamente a orina o filtrados libres de proteínas sin un tratamiento preliminar de especímenes.

Ácido acetoacético (+). La reacción con picrato ocurre casi inmediatamente. Se ha encontrado que 100mg/dL de este ácido produce un color que equivaldría a 3.4mg/dL de creatinina. El desarrollo de color es completo en 1 min.

Acetona(+). Se ha encontrado que 500mg/ dL de acetona produce un color equivalente a 1.4mg/dL de creatinina.

Aminohipurato (+). Produce una reacción de jaffé positiva pero no interfiere a las concentraciones obtenidas durante estudios renales.

Ácido ascórbico(+). El desarrollo de color es descrito como una acción reductora. 250mg/dL produce un color equivalente a 1.9 mg/dL de creatinina, esta concentración puede ocurrir en orina pero la interferencia es insignificante.

Fructosa(+). Se ha visto que 1000mg/dL de fructosa produce un color equivalente a 1.0mg/dL de creatinina después de 15 min. del desarrollo de color. La extensión del tiempo en la incubación resulta en un marcado aumento de la interferencia.

Glucosa(+). La reacción parece insignificante a 25°C . Se ha encontrado que 1000mg/dL de glucosa produce un color equivalente a 2.0mg/dL de creatinina.

Metildopa (+). La autooxidación en solución alcalina produce un color café. 10mg/dL producen un color que equivale a 1mg/dL de creatinina.

Derivados de nitrofurano(+). Producen un fuerte color café naranja en muestras de orina.

Fenolsulfonftaleína (PSP) (+). El color es producido en solución alcalina.

Proteína (+). 5g/ dL de albúmina sérica humana cristalina produce un color equivalente a 2.2 mg/dL de creatinina.

Piruvato (+). produce una reacción de Jaffé positiva, 10mg de ácido pirúvico se ha reportado que produce color equivalente a 0.3mg/dL de creatinina.

Sulfobromoftaleína (-).

Fosfatasa alcalina

Infusiones de albúmina(+). La albúmina preparada de placenta humana contiene fosfatasa alcalina estable al calor. En cualquier caso, la fosfatasa alcalina aumenta 160 unidades Bodansky después de infusiones múltiples y permanece elevada por 10 días siguientes al cese de la terapia. Los fabricantes varían en si utilizar o no sangre venosa como una fuente de albúmina. La enzima estable al calor puede ser detectada por incubación del suero a 60°C por 1 hr. para destruir la fosfatasa alcalina de origen no placentario.

Infusiones de albúmina (-). En contraste con lo anterior, la albúmina preparada de sangre venosa parece inhibir la fosfatasa alcalina. La adición de magnesio revierte parcialmente la inhibición.

Sulfobromoftaleína (BSP) (+). Este colorante puede interferir en métodos basados en el desarrollo del color final en soluciones alcalinas, dependiendo de la longitud de onda usada para medir la absorbancia.

Fosfato inorgánico.

El fosfato inorgánico, en un filtrado de suero libre de proteínas reacciona con molibdato para formar fosfomolibdato el cual, luego es reducido a un complejo azul de molibdeno por el ácido aminonaftolsulfónico y otro agente reductor apropiado. Los siguientes compuestos, si

están presentes, se complejan con el molibdato y previenen el entero desarrollo de color.

Citrato (-)

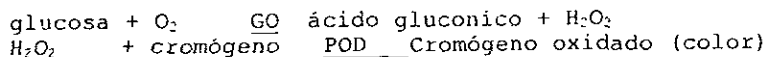
Manitol (-). El compuesto ha sido utilizado para promover diuresis. Los niveles alcanzados en plasma podrían no interferir.

Oxalato (-).

Tartrato (-).

Glucosa.

A. Método de glucosa oxidasa-peroxidasa (GO-POD)



La primera reacción es altamente específica para glucosa y ha sido adaptada para su uso con electrodos de PO_2 . La segunda reacción es menos específica, la reducción de sustancias que compiten con el cromógeno en estado reducido, permiten valores bajos.

Los filtrados de Somoggi se recomiendan para eliminar o minimizar las interferencias con determinaciones en suero. La mayoría de las interferencias se han observado en pruebas de tira en papel aplicadas en orina.

Ácido ascórbico (-). Compite con el cromógeno.

Bilirrubina (-).

Glucurónido de bilirrubina (-). Inhibe la reacción.

Formaldehído (-). Inhibe la reacción. Puede agregarse a la orina como un preservativo.

Glutación (-). Compite con el cromóforo. No está presente en suero o filtrados de Somoggi de sangre completa.

Ácido homogentísico (-). Actúa como una sustancia reductora.

Hipoclorito (+). Oxidación directa del cromógeno. Puede estar presente como contaminante de blanqueadores y limpiadores dentales.

Levodopa (-). Un metabolito, ácido 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC), actúa como una sustancia reductora.

fenazopiridina (-). La reacción es retardada.

Tetraciclinas (-). Preparaciones parenterales pueden contener grandes cantidades de ácido ascórbico el cual interfiere.

Ácido úrico (+). Compite con el cromógeno.

B. o-toluidina reacciona con glucosa en una solución de ácido acético caliente para producir un color verde. La reacción es razonablemente específica para glucosa en suero y en especímenes ordinarios de orina.

Dextrán (+). Se produce turbidez en una solución de ácido acético.

Disacáridos (+). Maltosa y lactosa producen 5 y 33% más color respectivamente que la glucosa. Se ha observado

alguna producción de color con sucrosa como resultado de una posible hidrólisis ácida de monosacáridos. Formaldehído (-). produce un color naranja anormal y reduce la intensidad del color verde producido por la glucosa en la reacción de o-toluidina.

Hexosas(+). Galactosa y manosa producen un color naranja con el reactivo. La reacción ha sido aplicada para medir xylosa en orina.

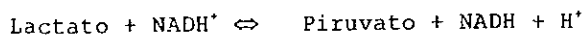
C. El ferricianuro es reducido por la glucosa en solución alcalina caliente a ferrocianuro incoloro. El método es razonablemente seguro cuando se aplica a dializados de suero no urémico, pero es insatisfactorio para mediciones de orina. Se han observado aumentos en los valores de glucosa aparentes con las siguientes sustancias cuando se analizan en soluciones puras.

Creatinina (+). 1mg es equivalente a 1mg de glucosa.

Ácido úrico (+). 1mg es equivalente a 0.5 mg de glucosa.

Lactato deshidrogenasa.

Esta enzima cataliza la reacción:



El ensayo colorimétrico usando la reacción de piruvato a lactato y midiendo la desaparición del piruvato con la reacción con dinitrofenilhidrazina, dará bajos resultados si el NADH' es omitido de las soluciones estándar de piruvato. Los nucleótidos de piridina reaccionan con el reactivo para dar un producto, el cual absorbe a la misma longitud de onda del piruvato. El nucleótido compete por el reactivo de color con mayor eficacia como disminuye la concentración del piruvato en la reacción.

Lipasa

En el método turbidimétrico Vogel y Zieve, la actividad sérica de la lipasa esta relacionada a la disminución de la absorbancia observada durante la incubación de una emulsión de aceite de oliva.

Bilirrubina (+). Actividad de la lipasa aparente se ha encontrado que se eleva en proporción a la concentración de Bilirrubina. Un método titrimétrico no se ve afectado. La sustancia de interferencia, puede reversese con celulosa DEAE.

Magnesio.

El magnesio reacciona con el amarillo titán en solución alcalina para producir un complejo rosa el cual es medido espectrofotométricamente.

Gluconato (-). La administración como sal de calcio resulta en valores bajos por el procedimiento de amarillo titán, pero no en métodos que involucran la precipitación de fosfato. El efecto ha sido confirmado in vitro.

Proteína sérica

A. Reacción de Biuret, un color violeta se produce con el reactivo Cu(II)-tartrato alcalino. La absorbancia es medida a 550nm.

Bilirrubina (+). El efecto es insignificante excepto en extrema ictericia. Se ha observado que el nivel de bilirrubina de 20mg/dL incrementa aparentemente las proteínas totales aproximadamente 0.1g/dL.

Dextrán (+). Produce una fina turbidez con el Cu(II), por lo tanto, una corrección de suero blanco separado es inadecuado. Puede incorporarse etilenglicol al reactivo de Biuret para eliminar la interferencia.

Hemoglobina (+). Reacciona con el reactivo de Biuret pero también contribuye directamente a la absorbancia. El color producido en la reacción de Biuret por 1mg de hemoglobina es equivalente a 1.9 mg de proteína sérica.

Lipemia (+). se han propuesto varias correcciones con blancos. El más satisfactorio parece ser la extracción con éter.

Fenazopiridina (+). El color café-naranja contribuye a la absorbancia.

Sulfobromoftaleína (BSP) (+). Se produce un color similar en solución alcalina. Se ha observado que el nivel en plasma de 2mg/dL (correspondiente a una retención del 2% de BSP) aumenta aparentemente las proteínas totales 0.3g/dL.

B. procedimientos basados en la unión de la albúmina a colorantes. Por ejemplo, al ácido 2-(4'-hidroxibenceno) benzoico (HABA) produce un color con la albúmina en una solución buffer de pH 5. La absorbancia es medida a 505 nm. Bilirrubina(-). Compite con el HABA por los sitios de unión de la albúmina. El efecto se extiende ya que la bilirrubina tiene significativa absorbancia a 505 nm. Este último efecto es eliminado con métodos de verde de Bromocresol donde la absorbancia es medida a 600nm.

Heparina (+). Posiblemente promueve la unión del colorante a las globulinas.

Fenazopiridina (+) Contribuye a la absorbancia, los sueros blancos son requeridos en el procedimiento del HABA.

Salicilato (-). Compite con el HABA por los sitios de unión de la albúmina. 2 hrs. después de la ingestión de 4 tabletas de aspirina (1.3g). El nivel de Albúmina sérica aparente se ha reportado disminuye un 14%.

Sulfonamidas (-). El mecanismo es similar al de salicilatos.

C. Electroforesis de proteínas séricas.

Medio de contraste Yodado (\pm). a niveles séricos esperados durante los estudios de diagnóstico, el pico debido a la albúmina y a α y β globulinas se aplanan o desaparecen. Un pico alto aparece en la región de la γ -globulina.

Penicilina (\pm). altas dosis administradas por vía intravenosa se ha reportado causa la formación de bis-

albumina. El complejo penicilina-albúmina tiene mayor movilidad electroforética que la albúmina normal.

Transaminasa (TGO)

La transaminasa glutámico oxalacética sérica (TGO) cataliza la transferencia de un grupo amino del aspartato a α -cetoglutarato con la formación de oxalacetato y glutamato. El oxalacetato es medido colorimétricamente después de la reacción con 2,4-dinitrofenilhidrazina o varios colorantes azo.

Por mediciones cinéticas, la reacción es acoplada con NADH en presencia de deshidrogenasa málica y el grado de desaparición de NADH es medida a 340 nm.

Acetaminofén (+). La solución pura del fármaco produce color con el colorante.

Ácido acetoacético (?). Reacciona con el colorante para producir color y provoca una falsa elevación de TGO en pacientes con cetosis. Una solución que contenga 813 mg/dL aumenta aparentemente la TGO 38 unidades.

p-aminosalicilato (+) La solución pura del fármaco se ha reportado que produce color con el colorante.

Ácido ascórbico (+). Una solución que contiene 250µg/ml produce un color equivalente a 32 unidades. La concentración usual de ácido ascórbico en suero es de cerca de 10µg/ml, el nivel de interferencia podría ser insignificante.

Eritromicina (+). La actividad de TGO es elevada aparentemente cuando se usa, ya sea, dinitrofenilhidrazina o una sal de diazonio para desarrollar el color. La sustancia de interferencia es presumiblemente un metabolito, ya que la eritromicina misma no interfiere.

Isoniazida (+). Una solución que contiene 3.2 µg/ml produce un color equivalente a 10 unidades.

Levodopa (+). Una solución que contiene 20.8 µg/ml produce un color equivalente a 33 unidades. Con dosis terapéuticas usuales, los niveles plasmáticos raramente exceden 4µg/ml.

Metildopa (+). Una solución que contiene 62.5µg/ml produce color equivalente a 16 unidades. Con las dosis terapéuticas usuales, raramente excede en plasma los niveles de 3µg/ml y la interferencia podría ser insignificante.

Urea.

A. El suero es incubado con ureasa para liberar amonio de la urea. El amonio es luego medido con la reacción fenol-hipoclorito. El reactivo fenol puede ser agregado antes del hipoclorito; de otro modo la diaminación de varios compuestos puede ocurrir y permitir falsos resultados elevados, por ejemplo, en la presencia de ácido úrico, creatinina, aminoácidos y sulfonilamida.

Cloramfenicol (-)

Streptomycin (-)

Ambos compuestos se ha reportado que inhiben el desarrollo del color.

B. Incubación con ureasa para liberar amonio seguido por el desarrollo de color con el reactivo de Nessler.

Acetona (+). La turbidez es producida a niveles frecuentemente encontrados en diabéticos con acidosis.

Hidrato de cloral (+). Un nivel de 4-6 mg/dL aparente de urea en sangre aparece después de 90 min. de la administración oral de 3g de hidrato de cloral.

Creatinina (+). Niveles elevados introducen un pequeño error positivo. El efecto es minimizado por la lectura de absorbancia 1min después de la reacción con el reactivo de Nessler.

C. Reacción de urea con dimetilaminobenzaldehído en etanol acidificado para producir un color verde-amarillo.

p-aminosalicilato (+). Produce un color similar.

Dextrán (+). Formación de turbidez, debido a la precipitación de dextrán por el etanol.

Sulfonamidas (+). Produce color similar. (36)

Idealmente los médicos deben comunicar a los químicos clínicos la naturaleza del tratamiento y las dosis. En la práctica de rutina clínica, esto es difícil pero es importante para el mejoramiento de la interpretación de los resultados.

Los medicamentos pueden permitir diagnósticos falsos e investigaciones adicionales innecesarias si el clínico no relaciona el efecto del medicamento. Deben tenerse registros de los fármacos que interfieren o no con las pruebas realizadas en el laboratorio. Además cuando se introduzca un nuevo medicamento lo ideal es que vaya acompañado de una lista de pruebas con las cuales interfiere.

Los pacientes también deben ser informados de la influencia de los medicamentos en los resultados de química clínica.

Debido al gran número de datos en este campo, son urgentemente necesarios los bancos de datos que contengan información clínica importante sobre los efectos de los medicamentos en química clínica. (35)

APENDICE 3.

A3. VALORES DE REFERENCIA

Los componentes químicos del organismo humano están sujetos a variación causada por procesos fisiológicos, diferencias genéticas, enfermedades y factores ambientales. Una interpretación de resultados químico clínicos depende del conocimiento de la variación de esos componentes en el individuo bajo estudio o en un grupo de individuos de referencia definidos adecuadamente. Una tarea importante del químico clínico es, por lo tanto, proporcionar una serie de datos de referencia confiables.

Usualmente los resultados de las pruebas de laboratorio son interpretadas por comparación a los tradicionales pero inadecuadamente definidos valores normales. Sin embargo, el creciente conocimiento por parte de los médicos y científicos del laboratorio de los cambios bioquímicos en procesos fisiológicos y patológicos demandan una interpretación más precisa y comprensible. (37)

1. Definiciones.

La nomenclatura común para describir la relación de valores observados y los valores de referencia es frecuentemente ambigua. Es importante que se adopten universalmente términos concisos y bien definidos para este propósito.

Los siguientes términos permiten una descripción sin ambigüedad de los objetivos de los valores de referencia.

Un individuo referencia es un individuo elegido usando criterios definidos. Es importante definir el estado de salud del individuo.

La población referencia consiste de todos los individuos referencia posibles. La población referencia normalmente tiene un número desconocido de integrantes y por lo tanto es una entidad hipotética; puede consistir de un solo miembro, por ejemplo un individuo puede servir como una referencia de él mismo u otro individuo.

Un grupo de referencia es un número adecuado de individuos referencia, elegidos para representar la población referencia.

Un valor de referencia es el valor obtenido por observación o medición de un tipo de metabolito particular sobre un individuo referencia. (37)

Los valores de referencia son obtenidos de un grupo de referencia.

Una distribución referencia es la distribución de los valores de referencia. Los parámetros de la hipótesis de la distribución de referencia de la población de referencia puede estimarse usando la distribución de referencia del grupo de referencia y adecuados métodos estadísticos.

Un límite de referencia es derivado de la distribución de referencia y es usado para propósitos descriptivos.

Es una práctica común definir un límite de referencia como una fracción establecida de los valores de referencia que puede ser menor o igual al límite con una probabilidad establecida.

El límite de referencia es el intervalo entre, e incluyendo, dos límites de referencia.

Un intervalo de referencia es el intervalo entre dos límites de referencia.

Un valor observado es un valor de un tipo particular de metabolito medible, obtenido por observación o medición para ser comparado con los valores de referencia y puede ser distinguido de varios tipos de límites de decisión usados para propósitos interpretativos. (37)

2. Producción de los valores de referencia.

Los valores de referencia de un individuo o un grupo de individuos son significantes solo cuando los individuos y métodos de producción de los valores son descritos adecuadamente. En consecuencia, es esencial que ciertos factores sean especificados cuando se establecen y usan valores de referencia:

- 1) La caracterización de la población de referencia con respecto a la edad, sexo, factores genéticos, socioeconómicos y estado de salud.
- 2) El criterio usado para la inclusión o exclusión de los individuos para el grupo muestra de referencia.
- 3) Las condiciones fisiológicas y ambientales bajo las cuales la población de referencia fue estudiada y los especímenes colectados del grupo muestra de referencia.
Por ejemplo:
Hora y fecha de la colección de la muestra.
Toma de alimentos o medicamentos (incluyendo alcohol)
Postura (incluyendo el tiempo en que permanece en esa postura)
Fumar
Grado de obesidad
Embarazo o ciclo menstrual, etc.
- 4) La elección del espécimen incluyendo preparación del individuo y manipulación de la muestra.
- 5) El método analítico usado incluyendo detalles de su precisión y exactitud con énfasis especial sobre las variaciones a largo plazo si la población o individuos son estudiados en un periodo de tiempo largo. (37)

La definición de salud de una población de referencia (o individuos referencia) ocasiona algunos problemas. La

definición de salud no parece ser completamente satisfactoria, incluyendo la definición de la OMS: "un estado de completo bienestar físico, mental y social y no simplemente la ausencia de enfermedad o daño. La salud es conceptualmente diferente entre las diferentes ciudades y aún en la misma ciudad. Es un estado relativo y no absoluto.

De acuerdo a esta filosofía la enfermedad puede ser en este contexto un "estado de salud". (37)

3. Uso y presentación de los valores de referencia.

El análisis de los valores de referencia puede requerir descripción estadística y análisis. Debe recordarse que los métodos estadísticos son simplemente herramientas y no deben ser mal aplicadas o usadas ignorando sus principios básicos. Por ejemplo, la amplia creencia de que los datos biológicos asumen una distribución Gaussiana es inapropiada, muchos datos biológicos no son distribuidos simétricamente y requieren herramientas estadísticas que asuman otros tipos de distribución o que sean independientes de la forma de distribución. (37)

El problema a solucionar es: dado un valor observado de un individuo particular ¿Cómo puede ser comparado y localizado en relación a una serie de valores de referencia? Usualmente, un intervalo cerrado representa una parte definida de los valores de referencia usados. También es posible localizar el valor observado en relación a la distribución de los valores de referencia sin usar el intervalo de referencia. Los métodos de comparación de los valores observados con los valores de referencia pueden ser elegidos de acuerdo a las metas establecidas.

Por ejemplo:

Estudio de cambios fisiológicos
Temprana detección de enfermedades
Diagnóstico diferencial
Monitoreo de una respuesta a la terapia
Estudio del efecto de la influencia ambiental.

Cuando se encuentran diferencias es importante realzar que una diferencia significativa estadísticamente no necesariamente implica una significancia clínica. La significancia estadística es solamente descriptiva. La importancia interpretativa está basada en consideraciones químicas, fisiológicas o clínicas. Es un papel importante del Químico Clínico ayudar al médico en la interpretación de valores observados proporcionando valores de referencia relevantes y presentarlos en forma conveniente. (37)

4. Selección de individuos como donadores de especímenes usados para producir valores de referencia.

En principio, los valores de referencia pueden ser colectados de muchos tipos diferentes de individuos por

ejemplo: de personas con una enfermedad bien definida. Sin embargo es deseable que los valores se tomen de individuos "sanos". Aunque como ya se dijo la salud es un concepto relativo, ya que la salud absoluta no existe. Por lo tanto, el Comité de los Valores de Referencia de la Sociedad Escandinava de Química Clínica y Fisiología Clínica ha elaborado una extensa lista de criterios de inclusión y exclusión de individuos como miembros de una población sana para usarse como una fuente de valores de referencia (38).

Esa lista de diagnósticos está basada en el diagnóstico de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y en datos confidenciales de la evaluación de sujetos por compañías de seguros de vida. Es importante que los individuos sean elegidos en base a un muestreo aleatorio, por ejemplo tomados del registro civil e invitados a una evaluación de salud en un hospital.

El sujeto es llamado a llenar un cuestionario con el cual es examinado por un médico. El cuestionario, la evaluación médica y los resultados de los exámenes de laboratorio permitirán una valoración de si o no el individuo estará incluido en la población de referencia de "individuos sanos".

Si el individuo es clasificado como enfermo puede en cambio usarse como un donador de espécimen para grupos de referencia de enfermedades definidas.

En la preparación de la lista de diagnóstico, el comité ha sido bastante exacto y elimina a todas las personas que tienen o han tenido enfermedades que se sospecha influyen la concentración de componentes frecuentemente analizados en el laboratorio clínico. Pero si en la práctica esto permite la eliminación de muchos individuos, los requerimientos pueden reducirse. (38)

5. Presentación de los valores de referencia

El grupo de valores de referencia o características derivados de ellos pueden presentarse a los médicos en forma de tablas, gráficas o cualquier otro tipo de figura, ya sea sobre el reporte de resultados o en publicaciones aparte. Cuando sea necesario pueden presentarse clasificados en diferentes grupos de acuerdo a la edad, sexo, actividad, postura, etc.

Cuando son pocos los valores de referencia, digamos 15, es práctico y seguro listarlos en orden de magnitud ascendente. (39)

6. Intervalos de referencia

Una práctica muy común es establecer los límites de un intervalo que depende de la localización y dispersión de los valores de referencia. (40)

6.1 DETERMINACIÓN DE LOS LÍMITES DE REFERENCIA.

Algunos tipos de intervalos de referencia han sido propuestos en la literatura: intervalo interfractil, intervalo de tolerancia e intervalo de predicción. La elección entre esos tipos de intervalos puede ser importante para ciertos problemas estadísticos bien definidos. En los casos clínicos usuales, sin embargo, el intervalo de referencia sirve como base para una evaluación intuitiva de la información biológica dada por un valor observado. Además, las diferencias numéricas relativas entre esos intervalos son tan pequeñas que no resultan importantes cuando son obtenidas de 100 valores de referencia o más. Finalmente, los intervalos de predicción y tolerancia asumen simple muestreo aleatorio o al menos el deseo de ver el proceso de muestreo como un muestreo prácticamente equivalente al aleatorio.

Nota: el muestreo simple aleatorio es un proceso en el cual cada miembro de la población (referencia) bajo estudio tiene las mismas probabilidades de ser escogido, independientemente de que otro sea escogido, y de este modo teniendo su valor componente incluido en el grupo de referencia. (40)

Los intervalos de referencia definidos por fractiles son el tipo más usado. Su uso se recomienda por la razón de que son fácilmente estimables por ambos métodos estadísticos: paramétricos y no paramétricos

Es una propuesta muy común que el intervalo de referencia podría contener la fracción central 0.95 (o 95%) de la distribución de referencia (fig. A3.1) Otros tamaños o una distribución asimétrica del intervalo de referencia puede ser más apropiado en otros casos particulares.

Los límites de referencia pueden ser estimados como fractiles 0.025 y 0.975. Esos límites se cortan en una fracción de 0.025 de los valores de cada final de la distribución de referencia. Los fractiles podrían acompañarse de los intervalos de confianza, por ejemplo intervalo de confianza 0.90 alrededor de cada límite de referencia (fig. A3.1.). (40)

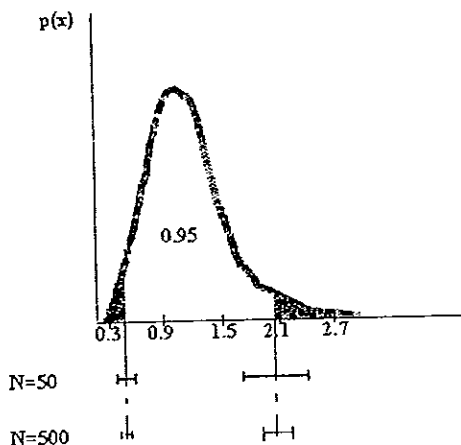


Fig A3.1 El intervalo de referencia 0.95 y el efecto del tamaño de la muestra. La figura muestra la distribución homogénea de los valores de concentraciones de S-triglicérido. Abscisa (S-triglicérido concentración) / (mmol/l). Ordenada: densidad probable. Los fractiles 0.025 y 0.975 son 0.51 y 2.05 mmol/l respectivamente. Debajo de la abscisa se muestra el intervalo de confianza 0.90 para dos tamaños de muestra 50 y 500 valores de referencia. (40)

6.2. NÚMERO DE VALORES DE REFERENCIA (OBSERVACIONES).

El número de valores de referencia para el investigador será limitado en muchas ocasiones. La estimación de fractiles llega a aumentar su imprecisión como disminuye el tamaño de la muestra. Esto se refleja en un amplio intervalo de confianza (fig. A3.1). La determinación de los fractiles 0.025 y 0.975 requiere por lo menos 40 valores. Para obtener estimaciones confiables el número de valores debe ser preferiblemente como mínimo 120.

6.3. DETERMINACIÓN DE FRACTILES POR MÉTODOS PARAMÉTRICOS Y NO PARAMÉTRICOS.

Las técnicas de estimación paramétrica requieren que los datos estén de acuerdo con un tipo de distribución especificada (normalmente Gausiana), o que tal distribución sea aproximada por la aplicación de funciones de transformación a los datos (por ejemplo: usando logaritmos a los valores medidos).

Las técnicas no paramétricas (o de distribución libre) no hacen alusión al tipo de distribución.

Las estimaciones paramétricas de fractiles son teóricamente más precisas con tamaños de muestra pequeños que aquellas obtenidas por métodos no paramétricos.

El método no paramétrico es recomendado para uso general por su simplicidad, pero también se describirá el método paramétrico. (40)

6.4. PROCEDIMIENTO PARA LA ESTIMACIÓN DE LOS LÍMITES DE REFERENCIA.

En la fig. A3.2 se muestra un esquema del procedimiento y sus diferentes partes se explican a continuación.

(1) Colección.

Colección de los valores de referencia de acuerdo al procedimiento especificado.

(2) Clasificación.

Los valores obtenidos pueden clasificarse en subclases (de acuerdo a sexo, edad, etc.) para reducir la variación: la menor variación intraclase da como resultado intervalos de referencia más estrechos y más sensitivos. Las pruebas estadísticas de diferencias de localización (Prueba *t* de Student, análisis de varianza, etc.) y de diferencias en la variación intraclase (prueba *F* Fisher, Prueba de Bartlett, etc.) entre las posibles subclases, pueden indicar la necesidad de dividir la serie de valores.

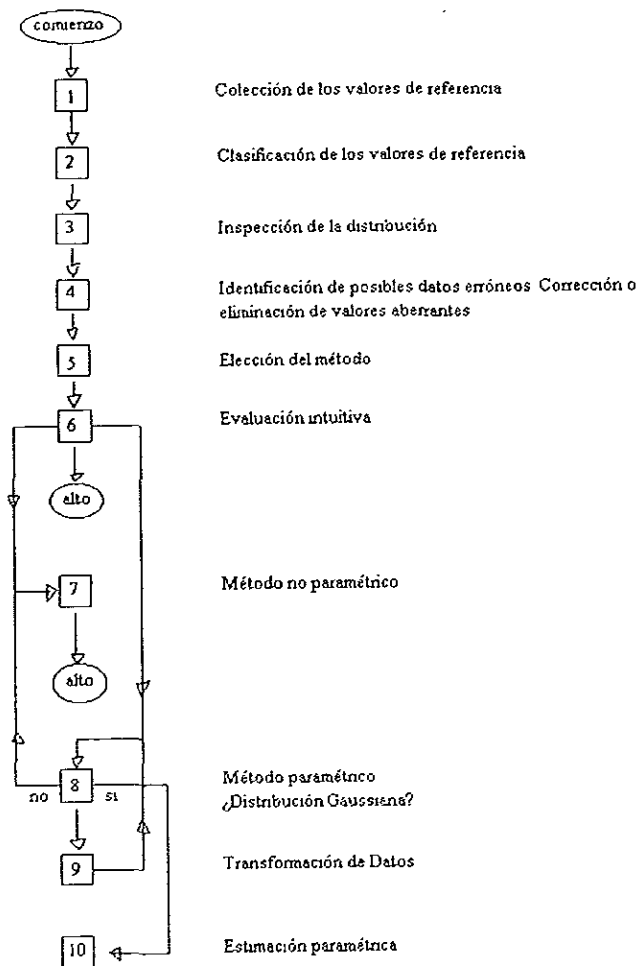


Fig. A3 2. Diagrama de flujo del procedimiento para la estimación de los límites de referencia. Cada paso está descrito más ampliamente en el texto (40)

(3) Distribución. (40)

La distribución de los valores de referencia colectados deben ser examinados. Esto se hace presentando convenientemente los valores en un histograma. (ver fig. A3.3 A). En él puede observarse, desviación, kurtosis, valores aberrantes y valores que salen del gráfico (outliers) y distribuciones bi o polimodales.

Nota: una desviación positiva de la distribución es asimétrica con una extensión de la parte final derecha, una

desviación negativa es asimétrica con una extensión de la parte final izquierda. Por kurtosis se entiende el grado de amplitud del pico de la distribución. La distribución puede ser menos amplia que la distribución gaussiana en la parte central combinada con largas partes finales (kurtosis

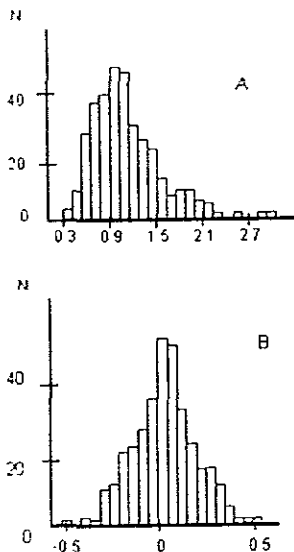


Fig A3.3 El histograma superior (A) muestra la distribución de los valores de concentración de S-triglicérido de la fig. A3.1 Abscisa (concentración de S-triglicérido) / (mmol/l) Ordenada: número de observaciones en las clases del histograma. Media \bar{x} = 1.09mmol/l y una desviación estándar S_x = 0.403 mmol/l El histograma inferior (b) muestra la distribución de los valores de S-triglicérido logarítmicamente transformados. Media \bar{y} = 0.008 y una desviación S_y = 0.1552 (40)

positiva) o también una campana aplanada con partes finales cortas (kurtosis negativa). Una distribución bi o polimodal tiene 2 o más picos.

La presencia de bi o polimodalidad excesiva, desviación, kurtosis, etc. puede indicar la necesidad de reevaluar los criterios de inclusión y exclusión usados para definir la población de referencia. En otras instancias dividir el grupo de referencia de acuerdo al sexo, edad u otros factores relevantes podrían ser considerados. (40)

La inspección visual es también una garantía contra la mala aplicación de métodos estadísticos o la mala interpretación de sus resultados.

(4) Valores aberrantes y outliers.

Un valor aberrante puede estar trazado detrás del grueso de la desviación del procedimiento descrito para la producción de los valores de referencia. Algunos valores aberrantes pueden detectarse como outliers, esto es valores que están inexplicablemente lejos de los otros valores de referencia.

La inspección visual de un histograma es un método confiable para la identificación de posibles outliers. Esos valores ya identificados no deberán ser descartados automáticamente. Los criterios de inclusión, preparación y colección del espécimen podrían ser reevaluados. Los registros analíticos podrían ser inspeccionados nuevamente, o las muestras reensayadas para determinar posibles errores. Los valores aberrantes podrían ser corregidos, si es posible, o descartados. Si la causa no puede ser encontrada, la decisión de su inclusión o exclusión se harán de acuerdo al mejor juicio.

(5) Selección del método para la estimación de los límites de referencia.

Cuando la muestra de los valores de referencia consiste de un número suficiente de valores, uno puede elegir para estimar fractiles ya sea el método paramétrico o el no paramétrico.

Con muestras más pequeñas la evaluación intuitiva de límites de referencia arbitraria puede ser la única posibilidad. Este es el caso de cuando la aplicación de métodos estadísticos es inapropiado, por ejemplo en algunas situaciones en las que se emplean pruebas cualitativas.

(6) Evaluación Intuitiva.

No hay reglas generales para la evaluación intuitiva de los límites de referencia porque esto tiene que ajustarse a casos particulares. Cuando la razón de la elección de éste método fue por tamaño insuficiente de la muestra, uno puede guiarse por los métodos paramétricos o no paramétricos. Otra posibilidad es no definir algún límite, sino comparar los valores observados con la completa serie de valores de referencia, ordenados de acuerdo al orden creciente de magnitud.

(7) Método no paramétrico.

Procedimiento:

Se clasifican los N valores en orden creciente de magnitud. Se asignan números de Rango de modo que el valor más bajo tenga el rango No. 1 y el valor más alto el rango No. N . Consecuentemente algunos números de rangos podrían ser asignados a dos o más valores que son iguales.

Calcular el límite de rango del fractil 0.025 como $0.025(N+1)$ y del fractil 0.0975 como $0.975(N+1)$.

Calcular el límite de referencia más bajo igual al valor de referencia correspondiente al número de rango del fractil

0.025 si este número es un entero. De otra manera el límite de referencia podría ser determinado por interpolación entre dos valores de referencia. El límite de referencia superior es determinado similarmente por el número de rango del fractil 0.975.

Luego determinar los dos lados del intervalo de confianza 0.90 no paramétrico de la población fractil 0.025 poniendo los valores de referencia con su correspondiente número de rango dados en la tabla A3.1. (40)

Los límites de confianza del fractil 0.975 son similarmente determinados.

Ejemplo: los 15 valores de S-triglicéridos en el final más bajo de la distribución se muestran en la Fig. A3.3 A y son 0.30, 0.40, 0.42, 0.46, 0.48, 0.49, 0.49, 0.50, 0.51, 0.52, 0.53, 0.53, 0.54, 0.55 y 0.55 mmol/l. El número de rango del fractil 0.025 es $0.025(356 + 1) = 8,9$. Por lo tanto el límite de referencia más bajo es aproximadamente 0.51 mmol/l respectivamente, los rangos No. 4 y No. 15 de este intervalo de confianza 0.90 se leen de la tabla A3.1. Ellos corresponden a los valores 0.46 y 0.55 mmol/l respectivamente. El límite de referencia más bajo (fractil 0.025) con su intervalo de confianza 0.90 puede expresarse como $0.51(0.46-0.55)$ mmol/l. El número de rango del límite de referencia superior es $0.975(356 + 1) = 348,1$. Los números de rango de su intervalo de confianza (tabla A3.1) son $(356 + 1) - 15 = 342$ y $(356 + 1) - 4 = 353$. Los límites de referencia superiores y su intervalo de confianza 0.90 son 2.07 (1.91 - 2.25) mmol/l. (Los datos en el final más alto de la distribución no se muestran en el ejemplo).

{8} Método paramétrico.

Paso 1: Prueba de distribución Gaussiana.

Existen varias pruebas que hacen evidente la distribución:

Procedimiento gráfico

Prueba de Kolmogorov- Smirnov.

Prueba Anderson-Darling.

Paso 2: Transformación de datos.

Los valores de referencia se transforman por una función matemática, por ejemplo, el uso de logaritmos o raíz cuadrada de los valores. Otras funciones de transformación: función logarítmica modificada $y_i = \ln(x_i + c)$, función exponencial, y la función de Box y Cox. Todas ellas para corregir la amplitud de la curva de distribución.

Para corrección de kurtosis, se sugiere la función hiperbólica (kurtosis negativa) y la función hiperbólica inversa (kurtosis positiva).

Paso 3: Estimación de fractiles y sus intervalos de confianza.

Este método es apropiado cuando la distribución de los valores de referencia (o datos transformados) tienen una forma Gaussiana. Cálculo de la media aritmética \bar{x} y desviación estándar S_x

$$\bar{x} = (\sum x_i / N) \quad (i = 1, \dots, N)$$

$$S_x = \{(\sum (x_i - \bar{x})^2) / (N-1)\}^{1/2} \quad (i = 1, \dots, N)$$

TABLA A3.1. INTERVALOS DE CONFIANZA NO PARAMÉTRICOS DE LOS LÍMITES DE REFERENCIA

la tabla muestra el número de rangos del intervalo de confianza del fractil 0.025 para muestras con 119 - 1000 valores. para obtener los correspondientes números de rango del fractil 0.975 : restar los números de rango en la tabla de $n + 1$ donde n es el tamaño de la muestra (40)

Tamaño de muestra	Números de rango inferior	superior	Tamaño de muestra	Números de rango inferior superior	
119 - 132	1	7	566 - 574	8	22
133 - 160	1	8	575 - 598	9	22
161 - 181	1	9	599 - 624	9	23
188 - 189	2	9	625 - 631	10	23
190 - 218	2	10	632 - 665	10	24
219 - 248	2	11	666 - 674	10	25
249 - 249	2	12	675 - 698	11	25
250 - 279	3	12	699 - 724	11	26
280 - 307	3	13	725 - 732	12	26
308 - 309	4	13	733 - 765	12	27
310 - 340	4	14	766 - 773	12	28
341 - 363	4	15	774 - 799	13	28
364 - 372	5	15	800 - 822	13	29
373 - 403	5	16	823 - 833	14	29
404 - 417	5	17	834 - 867	14	30
418 - 435	6	17	868 - 871	14	31
436 - 468	6	18	872 - 901	15	31
469 - 470	6	19	902 - 919	15	32
471 - 500	7	19	920 - 935	16	32
501 - 522	7	20	936 - 967	16	33
523 - 533	8	20	968 - 970	17	33
534 - 565	8	21	971 - 1000	17	34

De estos estadísticos se estiman los fractiles (límites de referencia) como $\bar{x} \pm 2.81 \cdot S_x / \sqrt{n}$

Ejemplo: Los valores de S-triglicérido mostrados en la Fig. A3.3 fueron transformados logarítmicamente y se encontró una distribución cercana al tipo gaussiano. La media y la desviación estándar de los datos transformados son $\bar{x} = 0.008$ y $S_x = 0.1552$. Los fractiles $\alpha = 0.025$ y $1 - \alpha = 0.975$ (intervalo de referencia 0.95) son:

$$0.008 - 1.960 \cdot 0.1552 = -0.2963$$

$$0.008 + 1.960 \cdot 0.1552 = 0.3123$$

respectivamente. Los fractiles fueron después reconvertidos a la escala original:

$$10^{-0.2963} = 0.51$$

$$10^{0.3123} = 2.05$$

Los límites de confianza 0.90 del fractil $\alpha = 0.025$ son

$$-0.2963 - 2.81 \cdot 0.1552 / \sqrt{356} = -0.3194$$

$$-0.2963 + 2.81 \cdot 0.1552 / \sqrt{356} = -0.2732$$

luego por la reconversión resulta 0.48 y 0.53 respectivamente.

De este modo, el límite de referencia inferior de S-triglicéridos con su intervalo de confianza 0.90 es =.51 (0.48 - 0.53) mmol/l. El límite superior correspondiente se determina similarmente como 2.05 (1.95 - 2.16) mmol/l.

Esos límites son los fractiles aproximados a 0.025 y 0.975 determinados por el método no paramétrico. Los intervalos de confianza son un poco más estrechos cuando son determinados por el método paramétrico, esto es, los estimados son aparentemente más precisos. (40)

7 Clasificación del valor observado.

Con las bases de dos límites de referencia de un intervalo de referencia es posible clasificar un valor observado como:

- a) Inusualmente bajo cuando está situado debajo del límite inferior de referencia,
- b) Usual si está dentro o igual a cualquier límite de referencia ó
- c) Inusualmente alto si está por encima del límite de referencia superior.

Los términos anormal, patológico o normal no son recomendados, porque es posible la confusión entre significados matemáticos y fisiológicos de normalidad y porque un valor anormal puede serlo solamente en el sentido estadístico y puede no ser una ocurrencia patológica.

Un valor caído en una de las tres clasificaciones puede decirse que tiene el valor transformado de -1 unidad arbitraria, 0 unidad arbitraria o 1 unidad arbitraria respectivamente (o puede clasificarse como 1, 2 ó 3). Otra posibilidad es marcar un valor inusual alto o bajo con un símbolo conveniente.

Debe recordarse que un valor observado dentro del intervalo de referencia (interindividual) puede ser un valor raro para un individuo particular de acuerdo a su distribución de referencia intraindividual y, por lo tanto una señal de enfermedad de ese individuo. (39)

APENDICE 4

GLOSARIO (7, 19, 34,)

Acreditación. Confirmación oficial por una auditoría de calidad externa, de que el laboratorio se encuentra operando de acuerdo a los estándares de organización, práctica y garantía de calidad.

Analito. Componente indicado en nombre de una cantidad mensurable. El término analito también ha sido empleado específicamente para el componente de una solución que se aplica al sensor de un sistema de medición y que proporciona la señal de salida. Este componente no puede ser idéntico al de cantidad sujeta a medición.

Buenas Practicas de Laboratorio (GLP). Proceso organizacional y condiciones bajo las cuales los estudios de laboratorio son planeados, desarrollados, monitoreados, registrados y reportados.

Calibración. Juego de operaciones que se establece bajo condiciones específicas, la relación entre valores indicados por un instrumento de medición o sistema de medición o los valores representados por una medición material o un material de referencia y los valores de una cantidad mensurable correspondientes, llevada a cabo por un estándar de medición.

Calidad. Totalidad de características de una entidad que se refiere a su capacidad para satisfacer las necesidades declaradas e implícitas.

Cantidad mensurable. Atributo de un fenómeno, cuerpo o substancia que puede distinguirse cualitativamente y ser determinado cuantitativamente.

Característica analítica de desempeño. Propiedad dentro del juego de propiedades de un procedimiento de medición, necesaria para evaluar su adecuación analítica para un propósito determinado y en donde se le puede asignar un valor experimentalmente determinado a cada una de las propiedades.

Coefficiente de variación. Desviación estándar dividida ente el promedio de una muestra de valores de una cantidad mensurable variable, no negativa. El coeficiente de variación es independiente de la unidad de medición utilizada cuando la unidad es la misma para la desviación estándar y la media y se expresa algunas veces como un porcentaje.

Confiabilidad Capacidad de un procedimiento de medición analítico de producir resultados de medición en determinados tipos de muestra, de acuerdo a los valores declarados para las mediciones con capacidad de repetición de medición, reproducibilidad de mediciones, veracidad de medición, especificidad analítica y límite de detección.

Control interno de calidad. Procedimientos llevados a cabo en asociación con la medición de las muestras de los pacientes, para evaluar si el sistema analítico está o no operando dentro de los límites preestablecidos de tolerancia. El control interno de calidad se enfoca tanto al monitoreo de mediciones, para garantizar que sólo se liberen resultados de medición confiables y que se eliminen causas de desempeño insatisfactorio.

Corrida de análisis. Juego de mediciones llevadas a cabo sucesivamente por un procedimiento de medición determinado, por un analista, empleando el mismo sistema de medición, en la misma ubicación, bajo las mismas condiciones de uso y durante un periodo corto de tiempo.

Desviación estándar. Raíz cuadrada positiva de la varianza.

Efecto de matriz. Influencia de una propiedad de la muestra analítica, que no sea la propiedad que se está investigando, sobre la medición y por lo tanto, sobre el valor de la cantidad mensurable.

Error aleatorio de medición. Resultado de una medición menos la medida que resultaría de un número infinito de repetidas mediciones de la misma cantidad mensurable.

Error de medición. Resultado de una medición menos un valor real de la cantidad mensurable. El error de medición es la suma de errores aleatorios de medición y de errores sistemáticos de medición. No pueden separarse estos dos tipos de error, a menos que haya disponibilidad de series separadas de resultados.

Error sistemático. Resultado promedio de una gran número de repetidas mediciones de la misma cantidad mensurable, menos un valor real de la cantidad mensurable.

Especificidad analítica. Capacidad de un procedimiento de medición para determinar solamente la cantidad mensurable que se desea medir.

Estándar. Documento establecido por consenso y aprobado por una entidad reconocida que proporciona reglas, guías o características para actividades o para resultados de

éstas, para uso común y repetido, enfocado hacia el logro de un grado óptimo de orden en un contexto determinado.

Estandarización. Actividad de establecer, con consideración de los problemas actuales o potenciales, provisiones para uso común y repetido, enfocadas hacia el logro del grado óptimo de orden en un contexto determinado.

Estándar primario. Estándar de medición designado o ampliamente reconocido como poseedor de las más altas cualidades metrológicas y cuyo valor de una cantidad mensurable es aceptado sin referencia de otros estándares de la misma cantidad, dentro de un contexto específico en un área específica.

Estándar secundario. Medición estándar, cuyo valor de una cantidad mensurable es asignado por comparación con un estándar primario de medición de la misma cantidad.

Evaluación externa de calidad. Sistema de verificación objetiva de resultados de medición de un laboratorio por una agencia externa, e incluyendo la comparación de los resultados del laboratorio con los de otros laboratorios, el principal objetivo es el establecimiento de la veracidad.

Exactitud. Proximidad de concordancia entre el resultado de una medición y el valor real de una cantidad mensurable o cantidad sujeta a medición. No tiene valor numérico.

Garantía de Calidad. todas aquellas actividades planeadas y sistemáticas, necesarias para proporcionar confianza adecuada de que todo producto o servicio satisfará los determinados requerimientos de calidad.

Gráfica de control. Gráfica con límites superiores y/o inferiores de control, en la cual se calculan los valores de algunas mediciones estadísticas para una serie de muestras o de subgrupos, por lo general sobre tiempo o en orden numérico de muestra.

Grupo muestra de referencia. Número adecuado de individuos de referencia seleccionados para representar una población de referencia.

Imprecisión. Dispersión de resultados de medición independientes, obtenidos mediante un procedimiento de medición, bajo condiciones específicas. Generalmente se expresa como la desviación estándar o como el coeficiente de variación de los resultados de las mediciones. Cuando se aplica este término a una serie de resultados de medición,

describe una combinación de errores aleatorios de medición y a un error sistemático de medición común.

Individuo de referencia. Individuo seleccionado con base en criterios bien definidos.

Inexactitud. Discrepancia entre el resultado de una medición y un valor real de la cantidad mensurable.

Instrumento de medición. Aparato diseñado para realizar una medición, solo o en conjunto con un equipo suplementario.

Interferencia analítica. Error sistemático de medición ocasionado por un componente de muestra que también es el componente de una cantidad de influencia, la cual no produce por sí misma una señal en el sistema de medición, pero que ocasiona un aumento o una depresión del valor indicado.

Intervalo central de interfracción 0.95. Intervalo cerrado de valores entre las fracciones 0.025 y 0.975 de un juego de valores.

Intervalo de referencia. No valores normales: juego de valores de referencia de un tipo de cantidad entre e incluyendo dos límites de referencia, que caracteriza la distribución de valores en un individuo en un estado definido.

Límite de detección. El resultado de medición menor de un determinado procedimiento de medición que pueda ser aceptado con un nivel determinado de confianza que sea diferente del valor de la cantidad obtenido en material blanco.

Límite de referencia. Valor derivado de la distribución de referencia y empleado para propósitos descriptivos.

Linearidad. Habilidad de un procedimiento de medición para proporcionar un resultado de medición proporcional al valor real de una cantidad mensurable sobre un intervalo de medición determinado.

Manual de calidad. Documento que contiene la política de calidad y que describe el sistema de calidad de una organización.

Material para calibración. Material de referencia utilizado para la calibración.

Material control. Material empleado para efectos de control interno de calidad o de evaluación externa de calidad y que es sujeto a medición, de acuerdo al mismo procedimiento de

medición, como se hace para muestras desconocidas, para monitorear el desempeño analítico.

Material de referencia. Material o sustancia en la que uno o más valores de propiedades se encuentran suficientemente bien establecidos para utilizarse para la calibración de un sistema de medición, para la evaluación de un procedimiento de medición o para asignar valores a materiales.

Medición. Grupo de operaciones cuyo objeto es obtener el valor de una cantidad mensurable.

Medición analítica. La medición realizada por un sistema de medición para obtener una cantidad mensurable de un valor que caracterice a un individuo.

Mejoría de Calidad. Acciones tomadas en toda la organización, para incrementar la efectividad y eficiencia de las actividades y los procesos para proporcionar mayor beneficio tanto a la organización, como a sus clientes.

Muestra primaria. Recolección de una o más partes, tomadas inicialmente de un sistema.

Muestreo. proceso de obtener, recolectar o constituir una muestra.

Norma. Documento que proporciona reglas legislativas obligatorias y que es adoptado por una autoridad.

Planeación de calidad. Actividades que establecen los objetivos y requerimientos de calidad y de la aplicación de elementos de un sistema de calidad.

Población de referencia. Grupo que consiste de todos los posibles individuos de referencia.

Política de calidad. Intenciones y dirección general de una organización con respecto a la calidad, según sea manifestada formalmente por la administración superior.

Precisión. Proximidad entre resultados de mediciones independientes, obtenidos mediante un procedimiento de medición, bajo condiciones prescritas.

Reactivo. Sustancia empleada para producir una reacción química para poder medir las cantidades pertenecientes a otras sustancias o para convertir una sustancia en otra

Tiempo de respuesta. Tiempo entre la presentación de una muestra a un sistema de medición y la producción del resultado de una medición.

Tipo de cantidad. Nombre de clase de cantidades mensurables.

Unidad de medición. Cantidad mensurable particular, definida y adoptada por consenso, con la cual se comparan otras cantidades mensurables del mismo tipo para expresar sus magnitudes relativas a dicha cantidad mensurable.

Unidades del Sistema internacional SI. Sistema coherente de unidades de medición, adoptado y recomendado por la Conferencia General sobre Pesos y Medidas. Actualmente el SI está basado en siete unidades de medición: metro (m), kilogramo (kg.), segundo (s), amperio (A), kelvin (K), mol (mol) y candela (cd).

Validación de resultados. Confirmación por análisis y provisión de evidencia objetiva de que se reúnen los requerimientos particulares para efectos de un uso específico.

Valor de referencia. Valor obtenido mediante la observación o medición de un determinado tipo de propiedad sobre un individuo de referencia perteneciente a un grupo muestra de referencia.

Valor de una cantidad mensurable. Magnitud de cantidades mensurables, expresadas normalmente como una unidad de medición, multiplicada por un número.

Variación interindividual. Distribución de los valores para un tipo de cantidad en individuos de un grupo determinado.

Variación intraindividual. Distribución de los valores de un tipo de cantidad en un individuo determinado.

Varianza. Medición de dispersión que es la suma de las desviaciones al cuadrado de los valores de su promedio, dividida por el número de valores menos uno.

Veracidad de medición. Proximidad entre el valor promedio obtenido de una larga serie de resultados de mediciones y de un valor real.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Kaplan, Alex; Szabo; L.La Verne; Opheim, Kent E. Clinical Chemistry: Interpretation and Techniques. Third Edition. Lea y Febiger. Philadelphia, 1988.pp 1-5.
- 2.-Dybkaer René. Quality Assurance, Accreditation, and Certification: Needs and Possibilities. Clin. Chem. 40 (7) (1994) p. 1416-1420.
- 3.- Niño Hipólito V.. Garantía de Calidad en el laboratorio Clínico. Ed. Panamericana.1993.
- 4.- Westgard, James O.; Burnett Robert W.; Bowers George N. Quality Management Science in Clinical Chemistry: a Dynamic Framework for Continuous Improvement of Quality. Clin. Chem 36 (10) 1990 p.1712-1716.
- 5.- Büttner J.; Borth R.; et al. Quality Control in Clinical Chemistry. Part 4. Internal Quality Control. Clin. Chim. Acta 106 (1980) p 109F-120F.
- 6.- Horder M. Current knowledge in the assessment of test Quality. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 44, suppl. 171, 1984 p 15-25.
- 7.- Boquet Jiménez, Castillo de Sánchez; Cáceres de Moselli; et al. Mejoría Continua de la Calidad . Editorial Médica Panamericana. 1995, México.
- 8.- Dybkaer. Good Practice in Decentralized measurement. 5. Quality assurance. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1992 52 suppl 209, p 47-55
- 9.- Büttner J.; Borth R.; et al. Provisional recommendation on Quality Control in Clinical Chemistry. Part. 6 Quality requirements from the point of view of health care. Clin Chim. Acta, 74, 1977 p.F1-F9.
- 10.- Rothery Brian. ISO 9000. Segunda edición. Editorial Panamericana, México. 1994.
- 11.-Dybkaer R. Martin; Et al Good Practice in decentralized measurement. 3. Patient and Sample. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1992 52 suppl 209 p 29-48.
- 12.- Rivera Coll Antonio; Fuentes Arderiu Xavier; Díez Noguera Antoni. Circadian Rhythmic Variations in Serum Concentration of Clinically Important Lipids. Clin. Chem 40/8 (1994) p.1549-1553.

- 13.- Panek Edwige; Steinmetz Josiane. The effect of sex, deviation from ideal weight and sampling time on Blood Constituents in presumably Healthy subjects. Clin. Chim. Acta, 92 (1979) p. 343-351.
- 14.- P Felding; N. Tryding; P Hyltoft Petersen & M Højder. Effects of posture on concentrations of blood constituents in healthy adults: practical application of blood specimen collection procedures recommended by the Scandinavian Committee on Reference Values. Scand. J. Clin. Lab Invest. 40, 1980. p. 615-621
- 15.- K.O. Pedersen. On the Cause and Degree of Intraindividual serum calcium variability. scand. J. Clin. Lab. Invest. 30, 1972. p. 191-199.
- 16.- Muraldi Dharan Ms. Control de Calidad en los laboratorios Clínicos. Editorial Riverté, 1982 España.
- 17.- R. Haeckel; Ch. Collombel; T.D. Geary; F.L. Mitchell; R.G. Nadeau; K. Okuda. Provisional Guidelines (1979) for listing specifications of spectrometers in Clinical Chemistry. Clin. Chim Acta 103 (1980) p 249F-258F.
- 18.- M. Rubin; R.N. Barnett; D. Bayse; Et al. Revised recommendation (1983) on evaluation of Kit diagnostic. Part 1. Recommendations on labelling of clinical laboratory materials. Clin. Chim. Acta 137 (1984) p. 371F-379F.
- 19.- Buttner J.; Burth R; et al. Approved recommendation (1978) on Quality Control in Clinical Chemistry. Part 1. general principles and terminology. Clin. Chim. Acta, 98 (1979) p. 129F-143F.
- 20.- Buttner; Burth. R; et al Approved recommendation (1978) on Quality Control in Clinical Chemistry. Part 2. Assessment of analytical methods for routine use. Clin. Chim. Acta. 98 (1979) 145F-162F.
- 21.- Mendenhall William. Introducción a la Probabilidad y la Estadística. Wadsworth International/Iberoamérica. USA, 1982.
- 22.- Westgard James O.. An internal quality control system for the assessment of quality and the assurance of test results. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 44, suppl. 171, 1984 p 315-330
- 23.- Dybkaer R. Good Practice in decentralized measurement. Appendix 3 Internal Quality Control Programme. Scand. J. Clin Lab. Invest. 1992, 52 supp. 209 p 89-92.
- 24.- Calva Lucio Arturo. Elementos de Control de Calidad interno y externo en bioquímica clínica. Tesis Unam 1998

- 25.- N. de Cediël; C. G. Fraser; A. Deom; L. Josefsson; H.G.J. Worth and O. Zinder. Guidelines (1988) for Training in clinical laboratory management. Clin. Chim. Acta, 185 (1989) S1-S14.
- 26.-Epstein. T.C.; Geary G.; Gower W.; Faush K.J. Et al. Provisional Guidelines for listing specification of Atomic absorption Spectrometers. Clin Chim. Acta, 122 (1982) p.117F-123F.
- 27.-G. Bechtler, M.S. Epstein; T.D. Geary; W. Havemann; P. Ahoe. Provisional Guidelines for listing specification of Flame Emission spectrometry. Clin. Chim. Acta 122 (1982) p. 11F-115F.
- 28.- K. Okuda. Provisional Guidelines (1980) for listing specifications of clinical Chemical analysers. Clin. Chim. Acta, 119 (1982) 353F-362F.
- 29.- Bold Allan M.. Clinical Chemistry Reporting. The Lancet, May 1976. p 951-955.
- 30.- H Olesen. Properties and Units in the Clinical laboratory Sciences. I. Syntax and semantic rules. IUPAC. IFCC Recommendations 1995. Clin. Chim. Acta.245 (1996) S5-S21
- 31.- Dybkaer. Good Practice in Decentralized measurement. 7.Communication. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1992 52 supp 209 p 68-69.
- 32.- G. K. McGowan, The signing of laboratory reports. J. Clin Path., 1974 27, p.427-429.
- 33.- Dybkaer. Good Practice in Decentralized measurement. 4. Measuring Systems. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1992 52 supp 209, p 44-45.
- 34.- Dybkaer R.; Jordal R; Et al. A Quality Manual for the Clinical laboratory including the elements of a Quality System. Proposed Guidelines. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1993; 53 suppl. 212 p. 60-81.
- 35.- G. Siest and S.J. Dowkins. Drugs Effects in Clinical Chemistry Part. 1. The Basic Concepts. Clin. Chim. Acta, 139 (1984) p.215F-221F.
- 36.- Wendell T. Caraway and Carl W Kammeier. Chemical interference by drugs and other substances with clinical laboratory test procedures. Clin. Chim. Acta, 41 (1972) p. 395-434.

37.- R. Gräsbeck; G. Siest; P. Wilding; G.Z. Williams; T.P. Whitehead. Provisional Recommendation on the Theory of Reference Values. (1978). Part. 1 The concept of Reference Values. Clin. Chim. Acta, 87 (1978) p. 459F-465F.

38.- T Alström; R. Gräsbeck; M. Hjelm & s. Skandsen. Recommendations concerning the collection of Reference values in Clinical Chemistry and R. Dybkaer, K. Jørgensen & T. Nyboe. Statistical Terminology in Clinical Chemistry Reference values. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 35 suppl 144, 1975 P.2-44.

39.- R. Dybkaer. The theory of reference values. Part.6 Presentation of observed values related to Reference values. Clin. Chim. Acta, 127 (1983) p. 441F-448F.

40.- H. E. Solberg. The Theory of reference Values. Part 5. statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. Clin. Chim. Acta, 137 (1984) p. 97F-114F.