



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE VERIFICACIÓN
DEL MÉTODO DE QUÍMICA SECA PARA EL ANÁLISIS DE
GLUCOSA, COLESTEROL Y TRIGLICÉRIDOS EN SUERO
SANGUÍNEO”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA

NOEMI RAMÍREZ HERNÁNDEZ

DIRIGIDA POR

M. en I.M. DAVID GUSTAVO GARCÍA GUTIÉRREZ

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2016.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE VERIFICACIÓN
DEL MÉTODO DE QUÍMICA SECA PARA EL ANÁLISIS DE
GLUCOSA, COLESTEROL Y TRIGLICÉRIDOS EN SUERO
SANGUÍNEO”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

NOEMI RAMÍREZ HERNÁNDEZ

DIRIGIDA POR

M. en I.M. DAVID GUSTAVO GARCÍA GUTIÉRREZ

SINODALES

M. en I.M. DAVID GUSTAVO GARCÍA GUTIÉRREZ

DIRECTOR

M. en C. MARÍA DE LOS ANGELES ESCAMILLA NAVARRO

SINODAL

M. en C. GUSTAVO PEDRAZA ABOYTES

SINODAL

M.S.P. JUANA SUSANA FLORES ROBLES

SINODAL

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
RESUMEN	
1. ANTECEDENTES	1
1.1. Importancia de las determinaciones analíticas realizadas en el laboratorio clínico	1
1.2. Gestión de calidad en el laboratorio clínico	2
1.2.1. Calidad	4
1.2.2. Normativa	6
1.2.2.1. Regulación nacional	8
1.2.2.1.1. Normas Oficiales mexicanas	8
1.2.2.1.2. Normas Mexicanas	10
1.2.2.1.3. Entidad Mexicana de Acreditación	12
1.2.2.2. Regulación internacional	13
1.2.2.2.1. Organización Internacional para la Normalización	13
1.3. Validación y verificación de métodos analíticos	16
1.3.1. Linealidad	18
1.3.2. Precisión	19
1.3.3. Veracidad	21
1.3.4. Incertidumbre	23
1.4. Métodos analíticos empleados por el laboratorio clínico	25
1.4.1. Química seca	26
1.4.1.1. Fundamento del método	27
1.4.1.2. Equipos y reactivos empleados en química seca	28
1.4.2. Determinación de glucosa	33
1.4.3. Determinación de colesterol	33

1.4.4. Determinación de triglicéridos	34
2. HIPOTESIS	36
3. OBJETIVOS	37
3.1. Objetivos generales	37
3.2. Objetivos específicos	37
4. METODOLOGÍA	38
4.1. Materiales	38
4.2. Reactivos	38
4.3. Metodología para realizar la evaluación	38
4.3.1. Evaluación de las condiciones preliminares del laboratorio	38
4.3.2. Evaluación de la linealidad	39
4.3.3. Evaluación de la precisión	41
4.3.4. Evaluación de la veracidad	41
4.3.5. Estimación de la incertidumbre	42
5. RESULTADOS	43
5.1. Evaluación de las condiciones preliminares del laboratorio	43
5.2. Evaluación de la linealidad del método	44
5.2.1. Glucosa	44
5.2.2. Colesterol	46
5.2.3. Triglicéridos	47
5.3. Evaluación de la precisión del método	48
5.3.1. Glucosa	48
5.3.2. Colesterol	49
5.3.3. Triglicéridos	52
5.4. Evaluación de la veracidad del método	52
5.4.1. Glucosa	52

5.4.2. Colesterol	53
5.4.3. Triglicéridos	56
5.5. Estimación de la incertidumbre	58
5.5.1. Glucosa	58
5.5.2. Colesterol	59
5.5.3. Triglicéridos	60
6. DISCUSIÓN	62
7. CONCLUSIONES	69
8. REFERENCIAS	71

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Evaluación de las condiciones preliminares del laboratorio	39
2	Preparación de las diluciones patrón para la evaluación de la linealidad	40
3	Cuantificación de errores en el intervalo reportable	41
4	Resultados de la evaluación de las condiciones preliminares del laboratorio	43
5	Registro de la temperatura ambiente del laboratorio	44
6	Resultados de las réplicas de los 5 niveles de concentración para la evaluación de la linealidad de glucosa	44
7	Resultados de la cuantificación de errores en el intervalo reportable (sesgo y porcentaje de error) para el método de determinación de glucosa	45
8	Resultados de las réplicas de los 5 niveles de concentración para la evaluación de la linealidad de colesterol	46
9	Resultados del sesgo y porcentaje de error de los 5 niveles de concentración para la evaluación de la linealidad de colesterol con respecto al valor teórico real.	46
10	Resultados de las réplicas de los 5 niveles de concentración para la evaluación de la linealidad de triglicéridos.	48
11	Resultados del sesgo y porcentaje de error de los 5 niveles de concentración para la evaluación de la linealidad de triglicéridos con respecto al valor teórico real.	48
12	Resultados de la evaluación intraserial de la precisión del método para la determinación de glucosa.	50

13	Resultados de la evaluación interserial de la precisión del método para la determinación de glucosa.	50
14	Resultados de la evaluación intraserial de la precisión del método para la determinación de colesterol.	51
15	Resultados de la evaluación interserial de la precisión del método para la determinación de colesterol.	51
16	Resultados de la evaluación intraserial de la precisión del método para la determinación de triglicéridos.	52
17	Resultados de la evaluación interserial de la precisión del método para la determinación de triglicéridos.	53
18	Resultados de la evaluación de la veracidad del método para la determinación de glucosa.	54
19	Resultados de la evaluación de la veracidad del método para la determinación de colesterol.	55
20	Resultados de la evaluación de la veracidad del método para la determinación de triglicéridos.	57
21	Resultados del control de calidad interno (nivel 2) del periodo del 28 de agosto al 28 de septiembre del 2015, para la obtención de la precisión interdiaria del método de determinación de glucosa.	58
22	Resultados del control de calidad interno (nivel 2) del periodo del 28 de agosto al 30 de septiembre del 2015 para la obtención de la precisión interdiaria del método de determinación de colesterol.	59
23	Resultados del control de calidad interno (nivel 2) para la obtención de la precisión interdiaria del método para la determinación de triglicéridos.	61
24	Resultados de la evaluación de los parámetros de verificación para los métodos de química seca en las determinaciones de glucosa, colesterol y triglicéridos.	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Ejemplo de una carta de decisión del método en donde se toma como base un error total permitido de 10%.	22
2	Partes que componen la placa fotográfica múltiple de un analizador que utiliza el principio de la química seca.	29
3	Capas que constituyen un slide típico.	30
4	Espectrofotometría de transmisión contra reflectancia, representación gráfica del efecto de las capas que eliminan las interferencias en las laminillas de reacción.	31
5	Grafica de la concentración experimental en función de la concentración teórica de los resultados de la evaluación de la linealidad del método para determinación de glucosa.	45
6	Grafica de la concentración experimental en función de la concentración teórica de los resultados de la evaluación de la linealidad del método para la determinación de colesterol.	47
7	Grafica de la concentración experimental en función de la concentración teórica de los resultados de la evaluación de la linealidad del método para la determinación de triglicéridos.	49
8	Grafica de decisión del método para la determinación de glucosa	55
9	Grafica de decisión del método para la determinación de colesterol	56
10	Grafica de decisión del método para la determinación de triglicéridos	57

RESUMEN

Aproximadamente el 70% de las decisiones que toma el médico en cuanto al diagnóstico, pronóstico y tratamiento de un paciente se fundamentan en los resultados proporcionados por el laboratorio clínico, debido a esto cualquier error cometido en alguna de las fases de estudio de una muestra puede repercutir negativamente en la calidad de vida del paciente e incluso llegar a tener consecuencias mortales. Por lo anterior debe ser prioridad para los laboratorios implementar acciones que les permitan detectar y corregir estos errores antes de que los resultados lleguen al paciente. Una de las principales fuentes de error en cualquier determinación está estrechamente relacionado con el método de análisis que se utiliza, por lo cual el presente trabajo tiene como objetivo llevar a cabo la evaluación de los parámetros de verificación (linealidad, precisión, veracidad e incertidumbre) del método de química seca que un laboratorio clínico emplea para realizar las determinaciones de glucosa, colesterol y triglicéridos en suero sanguíneo, con la finalidad de permitirle a dicho laboratorio tener conocimiento del grado de competencia técnica de los métodos que utiliza de manera cotidiana. Los resultados obtenidos en esta evaluación demostraron que los métodos utilizados por el laboratorio para la cuantificación sérica de glucosa y triglicéridos son adecuados para su uso cotidiano, sin embargo el método para la determinación de colesterol presentó un porcentaje de error muy alto en la evaluación de su veracidad, lo cual indica que se deben tomar medidas correctivas antes de seguir utilizándolo para reportar resultados a sus pacientes.

1. ANTECEDENTES

1.1. Importancia de las determinaciones analíticas realizadas en el laboratorio clínico.

Hoy en día la medicina se ha vuelto sumamente sofisticada, tecnológica y científica gracias a la intervención de grupos multidisciplinarios que dan atención al paciente, entre los cuales participan activamente los laboratorios clínicos (Terrés-Speziale, 2001; Justiz-Lugo, 2010).

El objetivo de un laboratorio clínico es suministrar datos que contribuyan al diagnóstico de enfermedades, su prevención y tratamiento, para lo cual es necesario utilizar métodos analíticos confiables, precisos y adecuados para cada determinación (Suarez y col., 2009).

La importancia del laboratorio clínico es incuestionable; esto puede demostrarse fácilmente por la oferta constante de nuevas técnicas y equipos, por el aumento en la demanda de servicios de laboratorio y por el crecimiento progresivo de sus costos, que en la mayoría de los casos supera al de otros servicios de las instituciones hospitalarias. Pero así como un buen laboratorio representa una gran ayuda, un mal laboratorio es una amenaza para la salud del paciente y en el mejor de los casos se convierte en un factor de encarecimiento innecesario de los costos de atención médica. El desarrollo científico y tecnológico del diagnóstico médico durante las tres últimas décadas, ha provocado que la importancia de los resultados analíticos haya crecido en forma constante en todo el mundo, generando retos que se deben resolver desde una perspectiva tecnológica, analítica, económica y humanística. Por lo que para un laboratorio es vital contar con técnicas que tengan el menor grado posible de interferencias y que sean lo más exactas y precisas posibles, lo que depende en gran medida de los métodos que se seleccionen y de los reactivos e instrumentos empleados (Moran-Villatoro, 2001; Barba-Evia, 2014).

Las decisiones del diagnóstico y la elección del tratamiento de la mayoría de las enfermedades frecuentemente se fundamentan en el análisis de los resultados de

las pruebas realizadas por el laboratorio clínico, debido a esto es posible que un resultado incorrecto repercuta sobre el paciente causando un daño irreversible con consecuencias que pueden llegar a ser mortales. Generalmente los usuarios de los servicios del laboratorio clínico (médicos y pacientes) no tienen el suficiente conocimiento técnico que les permita determinar si un laboratorio desempeña todas sus actividades a un nivel satisfactorio o aceptable, por lo que es imprescindible que todas las organizaciones que ofrecen los servicios de análisis clínicos trabajen sujetos a estándares de calidad apropiados (Zarco-Rubio, 1998; García-Solís y col., 2013).

La Organización Mundial de la Salud (OMS por sus siglas, mismas que serán utilizadas en lo sucesivo) establece que la prioridad máxima de los organismos que brindan servicios de salud debe ser garantizar la seguridad del paciente, protegiéndolo de los errores que se pueden presentar como consecuencia de la prestación de los servicios que se ofrecen, de manera que se pueda minimizar y preferiblemente erradicar la morbilidad y la mortalidad causada por la insuficiencia, defecto o equivocación al otorgar el servicio al paciente (Campuzano-Maya, 2011; Barba-Evia, 2014).

1.2. Gestión de calidad en el laboratorio clínico

Para comprender de mejor manera la importancia del laboratorio clínico en la práctica médica es suficiente conocer que hasta el 70% de los procedimientos en medicina se basan en los resultados de pruebas de diagnóstico, siendo las relacionadas con el laboratorio clínico las de mayor importancia (Barba-Evia, 2014).

Aunado a esto en los últimos 40-50 años, el desarrollo de la ciencia y la tecnología ha originado impresionantes avances en el campo de la medicina y del cuidado de la salud, lo que se ha visto reflejado en un aumento de la calidad de la atención sanitaria y la esperanza de vida de la población. De igual manera el aumento del alcance y la calidad de la educación en conjunto con el desarrollo de los medios de comunicación, han cambiado la forma de apreciación y las actitudes de los usuarios de los servicios

sanitarios hacia la salud, incrementando las exigencias que se tenían acerca de la calidad de los servicios que reciben. Así nos encontramos ante una sociedad con más conocimientos de lo que la ciencia médica le puede ofrecer, más informada de sus derechos como usuario y más ávida de participar en las decisiones que afectan su salud. Del mismo modo la sociedad ha comprendido que la calidad de los servicios que recibe por parte del laboratorio clínico está directamente relacionada con la eficacia de la atención médica que recibirá, por lo que se ha incrementado el nivel de exigencia de garantías de la calidad de los laboratorios por parte de sus usuarios (López-Silva, 2000).

Esta inclinación hacia la exigencia de garantías en torno a la calidad de productos y servicios, ha sido impulsada por el comercio internacional y la globalización de la economía. Los laboratorios clínicos en el mundo también se han sumado a esta tendencia en la que sus clientes (médicos y pacientes) ya no se conforman con la declaración de excelencia que los laboratoristas puedan dar con relación a sus servicios (Justiz-Lugo, 2010).

Por lo que el laboratorio de análisis clínicos debe tener como propósito fundamental producir resultados de alta calidad garantizando que los procesos de medición que se emplean son exactos, confiables y adecuados para los propósitos que se aplican. Esta meta se consigue mediante la implantación de un proceso documentado en el que se planean una serie de actividades con la finalidad de detectar, delimitar, controlar y minimizar errores, así como verificar y asegurar que todos los procesos y procedimientos de medición en el laboratorio se ejecutan dentro de las especificaciones definidas para producir el resultado; esto se logra de manera efectiva utilizando un sistema de control de calidad. (Ochoa-Rico y col., 2008; Molero y col., 2010).

La instauración de un sistema de gestión de calidad en el laboratorio clínico es importante debido a que posibilita el desarrollo de estrategias que pueden guiar a su personal hacia el conocimiento de cuáles son las necesidades de los clientes, así

como a la identificación de problemas analíticos, con lo cual pueden planearse y dirigirse iniciativas hacia la resolución, limitación, eliminación o prevención de errores en beneficio del laboratorio y de la comunidad que solicita el servicio. Un sistema de gestión de calidad se fundamenta en normas que regulan las actividades de planificación, control y prevención de errores así como las acciones tendientes hacia la mejora continua. De esta manera la estandarización de los laboratorio se logra basando todos los aspectos de un sistema de gestión de calidad en las normativas vigentes, con lo que resulta más fácil conseguir la homologación entre los resultados analíticos de distintos laboratorios, lo cual tiene gran significancia por ejemplo para los pacientes con seguimiento clínico como los diabéticos, los pacientes con tratamiento de anticoagulantes, entre otros, que por viajes u otras circunstancias, acuden a diferentes laboratorios ocasionalmente (Arellano-Gajón, 2008; Carbajales-León y col., 2010; Westgard y col., 2010).

1.2.1. Calidad

Desde el momento en que se hace uso del término “especificación” el concepto de calidad origina una serie interpretaciones. A continuación se reseñan algunas definiciones de famosos gurús de la calidad para comprender la perspectiva de cada una.

William Edwards Deming quien es nombrado como el precursor de la tercera revolución industrial y hasta hoy es considerado como el máximo experto en gestión de calidad, alrededor de 1950 difundía que el control de calidad no supone lograr la perfección sino más bien alcanzar un grado de producción eficiente de la calidad concordante con lo que el mercado demanda, en otras palabras el término calidad no significa un lujo, la calidad se describe mejor como el grado de correlación entre la confiabilidad, un costo accesible y la adaptación al mercado, es decir todo lo que el consumidor desea y necesita (Austenfeld, 2001).

El doctor Armand Vallin Feigenbaum, que en 1944 era el principal experto en calidad de la compañía General Electric y que fue el fundador de la teoría del control total de

la calidad, difundió alrededor de 1950 que el control de calidad consiste en lograr la implementación de un sistema eficaz para sumar los esfuerzos realizados por los diversos grupos en una organización en lo relacionado con el desarrollo, mantenimiento y mejora de la calidad, de manera que se consiga producir bienes y servicios a los niveles más económicos posibles, siendo estos compatibles con las especificaciones necesarias para obtener la plena satisfacción del cliente, y definió a la calidad como el conjunto integral de las propiedades de mercadotecnia, ingeniería, producción y mantenimiento que componen a los productos y servicios generados, según las cuales al momento de usarlos satisfagan las expectativas de los clientes (Cubillos-Rodríguez y col., 2009).

Kaoru Ishikawa que fue considerado como el mayor experto en la implementación de sistemas de control de calidad y que es reconocido por haber desarrollado la herramienta de la calidad que relaciona y agrupa las causas que generan un efecto, mencionó alrededor de los años 50's que practicar el control de calidad es desarrollar, diseñar, manufacturar y mantener un producto como el más económico, el más útil y siempre satisfactorio según las expectativas del cliente (López-Maldonado y col., 2011).

Joseph M. Juran quien es considerado como uno de los más importantes gestores de la revolución de la calidad en Japón en la época de la posguerra, definió en 1964 a la calidad como la adecuación al uso de los productos o servicios en términos de diseño, estructura, disponibilidad, seguridad y uso práctico basándose en sistemas y técnicas para la resolución de problemas (Cubillos-Rodríguez, 2009).

La definición de calidad de acuerdo con la Organización Internacional para la Normalización (Internacional Organización for Standarization, ISO por sus siglas en inglés, mismas que serán utilizadas en lo sucesivo) dice que calidad es el grado con el cual un conjunto de características inherentes cumplen con los requisitos. Además define los siguientes términos: Requisito: Necesidad o expectativa establecida, generalmente implícita u obligatoria. Clase: Categoría o rango dado a diferentes

requisitos de la calidad para productos, procesos o sistemas, que tienen el mismo uso funcional. Capacidad: Aptitud de una organización, sistema o proceso para realizar un producto que cumple los requisitos. En concreto ISO define que el cliente determina los requisitos de calidad para lograr su satisfacción (Arellano-Gajón, 2008).

Posteriormente a la revisión de la literatura y tras observar que existen muchas definiciones alusivas a la calidad y a la gestión de la misma, es difícil generar una definición precisa ya que la interpretación puede variar de acuerdo al papel de la institución y a la apreciación del usuario respecto a los bienes o servicios adquiridos; sin embargo partiendo de que las necesidades de los clientes (en este caso pacientes) están basadas en la obtención de resultados confiables, que contribuyan de manera efectiva a su diagnóstico o tratamiento y que tengan un precio accesible, es posible definir a la calidad en el laboratorio clínico como el grado en el que los resultados que se emiten sean precisos, veraces y a un precio justo. Lo que se consigue eligiendo el método correcto de análisis para cada determinación, adecuado a las condiciones del laboratorio en particular, con la mínima alteración causada por interferencias y sobre todo realizando actividades de gestión que le permitan al laboratorio identificar, eliminar y prevenir errores con lo que se consigue disminuir el encarecimiento del costo de los estudios debido a la no calidad (Padilla-Bastidas, 2014).

1.2.2. Normativa

Para aplicar un sistema de gestión de calidad en el laboratorio clínico resulta indispensable fundamentar el trabajo habitual en las normas nacionales e internacionales que se encargan de regular las actividades y que conllevan al desarrollo de la mejora continua de la calidad. Gran parte de los laboratorios de análisis clínicos realizan sus actividades cotidianas basándose en métodos que ellos mismos han elaborado, ya sea con base en la experiencia adquirida o de acuerdo a las instrucciones del fabricante de los productos que emplean, no obstante de acuerdo a la Norma Mexicana NMX-EC-15189IMNC-2015, hoy en día es un requisito

la implementación de sistemas de la mejora continúan de la calidad que les permita a los laboratorios reportar resultados confiables y reproducibles; por tal motivo ha surgido un interés creciente por desarrollar guías de estandarización de pruebas que incluyan el proceso completo (fase preanalítica, analítica y posanalítica), así como fomentar la capacitación constante de aquellos miembros que son parte del equipo de trabajo, y por realizar la identificación y erradicación constante de las causas de los problemas en la reproducibilidad de los resultados que se pudieran presentar (Ochoa-Rico y col., 2008; Westgard y col., 2010).

De igual manera, para la determinación de un analito, sin importar cuál sea la metodología a aplicar, es necesaria la optimización de las condiciones experimentales que definen la eficacia del ensayo, ya que éstas muestran cambios en relación con las propiedades de cada equipo y con los requisitos funcionales del laboratorio donde se realizará la evaluación. Para tales efectos se han publicado una serie de guías, normas y reglamentos con la finalidad de establecer condiciones normalizadas para la realización de los métodos analíticos e impedir de esta manera que diversos laboratorios que analizan la misma muestra, con la misma metodología y con personal capacitado, lleguen a resultados significativamente diferentes entre sí (Suarez y col., 2009).

Para entrar en materia de normatividad es indispensable especificar que es una norma. Norma es un documento establecido por conformidad, instaurado por una organización reconocida, que delimita para su uso rutinario las reglas y las instrucciones de las actividades así como las propiedades de los resultados, con la finalidad de obtener un desempeño óptimo de un método en un contexto determinado. Las normas se globalizan y promueven una integración económica favoreciendo la creciente apertura de los mercados (Arellano-Gajón, 2008; Padilla-Bastidas, 2014).

1.2.2.1. Regulación nacional

1.2.2.1.1. Normas Oficiales mexicanas

El 11 de diciembre de 1990 se autoriza en México la emisión de las Normas Oficiales Mexicanas categoría NOM acerca de sistemas de calidad, publicándose por primera vez en el diario Oficial de la federación. El prefijo NOM hace referencia a normas oficiales mexicanas de naturaleza obligatoria (Arellano-Gajón, 2008).

Posteriormente el 13 de enero del año 2000 se publicó en el Diario Oficial de la Federación la Norma Oficial Mexicana NOM-166-SSA1-1997 Para la Organización y Funcionamiento de los Laboratorios Clínicos, como resultado de varios años de colaboración multidisciplinaria entre grupos de trabajo provenientes del sector salud, del sector privado, público y social. Es a partir de dicha publicación que el funcionamiento legal de un laboratorio en México, dependió de la aplicación satisfactoria de las pautas establecidas en la norma; con lo cual desde ese momento se tuvieron los fundamentos jurídicos para que la autorización legal fuera por sí sola una garantía de calidad de los laboratorios, no obstante, en el ejercicio real esto dependió de la suficiencia de la Secretaria de Salud para vigilar su correcta ejecución en los establecimientos (Arellano-Gajón, 2008; Vargas-Morales y col., 2010).

Entre los objetivos que se pretendían alcanzar con la instauración de esta norma obligatoria se encontraban los siguientes: conseguir que los laboratorios clínicos Mexicanos implantaran programas de aseguramiento de la calidad que les permitiera proporcionar a sus usuarios el máximo beneficio minimizando los riesgos y los costos asociados a sus servicios, garantizar que los resultados emitidos contribuyeran eficazmente en la toma de decisiones médicas, reforzar la confiabilidad y el grado de conveniencia de los resultados, localizar oportunamente las desviaciones y el origen de las mismas con la finalidad de evitar y reducir a la mínima expresión la ocurrencia de errores; y descartar la rivalidad desleal que se presentaba entre ciertas organizaciones (López-Silva, 2000; Vargas-Morales y col., 2010).

La NOM-166-SSA1-1997, estableció las disposiciones a cumplir para que los laboratorios se pudieran asegurar de que sus servicios se brindaran con un nivel adecuado de calidad y eficacia, participando en programas de control de calidad tanto internos como externos que les permitieran evaluar de forma habitual el servicio otorgado. El apartado 15 de la norma estableció que a partir del 14 de enero del 2001, todos los laboratorios estaban obligados a contar con un proceso de aseguramiento de calidad de todos los componentes de los métodos analíticos que empleaban. Adicionalmente, los laboratorios privados e institucionales debían contar con ciertos manuales incluyendo: manual de organización, manual de procedimientos administrativos, manual de métodos analíticos de cada área y para cada prueba, bitácoras de mantenimiento y calibración de equipos, guía para la toma y transporte de muestras, manual de seguridad e higiene y manual de aseguramiento de la calidad (Terrés-Speziale, 2006; Vargas-Morales y col., 2010).

La Norma Oficial Mexicana hacía mención de cuatro normas complementarias en las que se establecieron otros requerimientos que debía cumplir el personal del laboratorio, mediante el seguimiento de las medidas preventivas para su protección durante la manipulación, almacenamiento y transporte de sustancias tóxicas e infecciosas, tomando en cuenta las disposiciones generales aplicables en la materia; dichas normas eran: 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 generan en establecimientos que presten atención médica), NOM-009-STPS-1993 (Relativa a las condiciones de seguridad e higiene para el almacenamiento, transporte y manejo de sustancias corrosivas, irritantes y tóxicas en los centros de trabajo), NOM-012-STPS-1993 (Que menciona las condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo donde se produzcan, usen, manejen, almacenen o transporten fuentes de radiación ionizantes), y la NOM-114-STPS-1994 (Que trata del sistema para la identificación y comunicación de riesgos por sustancias químicas en los centros de trabajo). Es importante destacar que las especificaciones contenidas en las Normas

Oficiales Mexicanas mencionadas anteriormente corresponden de un modo conceptual con algunos requisitos de las normas ISO (Arellano-Gajón, 2008).

El día 27 de febrero del 2012 se publicó en el Diario Oficial de la Federación la Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA3-2011, Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos, bajo autorización del Subsecretario de Integración y Desarrollo del Sector Salud y Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Innovación, Desarrollo, Tecnologías e Información en Salud; que entró en vigor a partir de esa fecha y dejó sin efectos a la Norma Oficial Mexicana NOM-166-SSA1-1997. Cabe señalar que la Norma NOM-007-SSA3-2011 basa sus lineamientos en la anterior Norma, por lo que su finalidad sigue siendo la misma, pero se diferencia de su predecesora en el uso de terminología diferente, por ejemplo en el cambio de la palabra “requisitos” por el término “especificaciones”, en la actualización de las normas adicionales a las que hace referencia, además de incluir un párrafo en donde se menciona la información que se le debe proporcionar al paciente cuando va a participar en proyectos de investigación, también describe en forma más detallada el contenido de los registros cronológicos de pacientes y estudios así como el informe de los resultados, y ya que en la realización de esta actualización participó la Entidad Mexicana de Acreditación se incluye un apartado en donde se menciona que el responsable sanitario o representante legal del laboratorio puede pedir la evaluación de la conformidad respecto a esta norma ante los organismos acreditados y aprobados para dicho propósito (Secretaría de salud, 2012).

1.2.2.1.2. Normas Mexicanas

Las Normas Mexicanas (NMX) son elaboradas por la Secretaría de Economía a través de la Dirección General de Normas que se encarga de construir, organizar y prescindir el Comité Consultivo Nacional de Normalización. Las NMX estipulan los requerimientos mínimos de calidad de los productos y servicios ofertados por una organización, con la finalidad de orientar y defender a los consumidores. Su implementación es opcional, y solo tienen un carácter obligatorio en los casos en que las instituciones declaren que sus productos, procesos o servicios se realizan

conforme a las mismas, o cuando en una NOM requiera del cumplimiento de una NOM para fines específicos (Secretaría de Economía, 2015).

De acuerdo a lo anterior el 16 de febrero del 2009 se expidió la declaratoria de vigencia de las Normas Mexicanas NMX-EC-15189-IMNC-2008 Laboratorios clínicos-Requisitos particulares para la calidad y la competencia, y la NMX-EC-15195-IMNC-2008 Laboratorio clínico requisitos para laboratorios de referencia de medición. Mismas que fueron elaboradas, aprobadas y publicadas bajo la responsabilidad del organismo nacional de normalización denominado Instituto Mexicano de Normalización y Certificación, A.C. (IMNC) y que entraron en vigor 60 días después de esta publicación. La Norma NMX-EC-15189-IMNC-2008 que es idéntica a la Norma Internacional ISO 15189:2007 "Medical laboratories Requirements for quality and competence", fue establecida para ser utilizada por dos sectores: El primero, por los laboratorios clínicos, dándoles indicaciones para desarrollar su sistema de gestión de calidad y para evaluar su competencia técnica. Y el segundo, para ser utilizada por los organismos de acreditación cuando confirmen o reconozcan la competencia de los laboratorios clínicos a los que evalúan (IMNC, 2009)

La Norma NMX-EC-15189-IMNC-2008 fue sustituida el 27 de julio del 2015, por la Norma NMX-EC-15189-IMNC-2015 Laboratorios clínicos requisitos de la calidad y competencia, que tiene como objetivo especificar los requisitos de la calidad y el grado de competencia técnica de los laboratorios clínicos, para el desarrollo de sus sistemas de gestión de calidad y la evaluación de su propia competencia, aunque también puede ser utilizada para confirmar o reconocer la competencia de los laboratorios clínicos por parte de los clientes del laboratorio, autoridades regulatorias y organismos de acreditación. Esta norma coincide totalmente con la norma internacional ISO 15189:2012, "Medical laboratories Requirements for quality and competence" y es la Norma que rige actualmente los procesos de evaluación, acreditación y cualquier tipo de trámite de los laboratorios clínicos y bancos de sangre

ante la Entidad Mexicana de Acreditación (EMA por sus siglas, mismas que serán utilizadas en lo sucesivo) (Zamora-Palma, 2015).

1.2.2.1.3. Entidad Mexicana de Acreditación

La Entidad Mexicana de Acreditación es el primer organismo de administración privada en el país, que tiene como función principal acreditar a los llamados “organismos de la evaluación de la conformidad” que son: los laboratorios de ensayo, laboratorios de calibración, laboratorios clínicos, unidades de verificación (organismos de inspección) y organismos de certificación, proveedores de ensayos de aptitud y a los organismos verificadores/validadores de emisión de gases efecto invernadero (EMA, 2014).

Anteriormente la realización de los procesos de acreditación de los organismos de la evaluación de la conformidad en México, estaba a cargo del Gobierno Federal mediante la Dirección General de Normas de la Secretaría de Comercio y Fomento Industrial (que hoy en día es conocida como la Secretaría de Economía). Sin embargo, debido a la evolución del mercado exterior, al desafío que suponía la apertura de las fronteras para dar paso al comercio internacional, y a la necesidad de impulsar al sector productivo nacional, se modificó la Ley Federal sobre Metrología y Normalización alrededor de los años 1992 y 1997, las reformas que surgieron en ese mandato legal crearon la oportunidad de que una entidad de administración privada se encargara de gestionar los procesos de acreditación para el sector productivo mexicano de manera imparcial, incluyente y profesional. Así fue como a partir de la publicación del 15 de enero de 1999 en el Diario Oficial de la Federación se da la autorización por parte de la que un año después pasaría a ser la Secretaría de Economía, para que la EMA empezara a actuar como el primer organismo acreditador privado en México. Por tanto su creación se promovió al detectar los desafíos que se introducían con el intercambio de productos, bienes y servicios en el mercado internacional; para proporcionar a la industria y al comercio las herramientas que les permitieran competir equitativamente en la inclusión al comercio globalizado (Navarro-Álvarez y col., 2006).

De acuerdo con la EMA, acreditar es la acción mediante la cual un organismo de acreditación otorga un reconocimiento a las instituciones de la evaluación de la conformidad tras confirmar su competencia técnica y confiabilidad. Para efectuar esta acción las entidades de acreditación basan sus parámetros de evaluación en normas nacionales que a su vez se fundamentan en normas internacionales, como las normas ISO, que establecen los requisitos con los que deben cumplir las organizaciones que desean acreditarse (EMA, 2014; Zamora-Palma, 2015).

1.2.2.2. Regulación internacional

1.2.2.2.1. Organización Internacional para la Normalización

En 1947, se funda en Londres Inglaterra, la Organización Internacional para la Normalización (Internacional Organización for Standardization ISO), cuya sede se encuentra en Ginebra Suiza, y que en la actualidad está conformada por entidades nacionales de normalización de más de 170 países. La labor técnica realizada por ISO es desarrollada en una jerarquía de 3,274 comités técnicos, subcomités y grupos de trabajo, que están conformados por comisionados altamente calificados provenientes de industrias, institutos de investigación, autoridades gubernamentales, consumidores y diversas organizaciones internacionales. El objetivo de ISO es impulsar el desarrollo de la normalización en todo el mundo, de manera que se facilite el intercambio de productos y servicios entre las naciones, con esto se hace posible llegar a un entendimiento mutuo en términos intelectuales, científicos técnicos y económicos. ISO también es responsable de la creación y emisión de las normas de calidad reconocidas internacionalmente, desde que ISO fue fundada ha desarrollado más de 18,600 normas para todos los sectores de producción, incluidos: la industria, el sector salud, el sector alimentario y tecnológico. En el año 1951 fue publicada la primera norma ISO, la ISO/R 1:1951, que al igual que las demás normativas ISO fue actualizada en varias ocasiones hasta llegar a la más actual; que en el caso de la R 1:1951 es la del año 2002 (Bustelo-Ruesta, 2011).

El conjunto de normas que constituyen la serie ISO 9000 fueron resultado de las necesidades creadas a partir de la segunda guerra mundial. Las deficiencias de

producción, que en un inicio pertenecían sólo al sector militar, se hicieron más notables también en otros sectores como por ejemplo el sector energético, por lo que varios países se dieron a la tarea de mejorar su calidad impulsando la generación de debates y originando propuestas con las que se pudieran satisfacer los requerimientos de inspección, verificación, cumplimiento de especificaciones y aseguramiento de la calidad en sus procesos. Se creó entonces la BS 5750, que fue un método dirigido hacia el control de resultados durante los procesos de elaboración de productos, fue hasta el año 1987 cuando la BS 5750, se transformó en la serie ISO 9000, con el propósito de facilitar el comercio internacional (Padilla-Bastidas, 2014).

Durante 1994 la serie de normas ISO fue sujeta a una revisión y como resultado surgió una nueva versión que hace hincapié en la documentación y la estandarización, además de promover la mejora en el desarrollo de los procesos, aunque esto último realmente no se acató conforme se indicaba en la norma. Por esta razón en los 90's se comenzó a desarrollar una nueva edición de las normas ISO 9000 con el objetivo de responder al creciente interés de las organizaciones en lo referente a la calidad, apegado a las nuevas prácticas administrativas. Así, la versión 2000 de las normas ISO 9000 fue reformada radicalmente, reduciendo la importancia que se le daba a la documentación y reforzando la necesidad de la mejora continua y el enfoque al cliente. La nueva serie ISO 9000:2000, abarca como ya lo hacía desde 1994, los requerimientos para implementar un sistema de gestión de calidad, aunque su verdadero propósito radica en ayudar a las organizaciones de todo tipo y tamaño, en la implantación y operación de sistemas eficaces para la administración de la misma; lo sobresaliente de esto no es solo el enfoque en la importancia de la calidad, sino que estas normas manifiestan lo que de acuerdo con expertos de todo el mundo debe ser un sistema de gestión de calidad. Dicho de otra manera, se trata de un convenio internacional sobre los conceptos, principios, directrices y requisitos que debe abarcar un sistema de calidad para ser eficiente (James y col., 2008).

La versión actual de la norma es la que data del año 2008 (última actualización). Mientras que la versión de 1994 se dirigía más claramente a empresas de procesos productivos, la versión actual se reformó para ser aplicable a todo tipo de instituciones incluso de servicios o de administración pública. Para que una organización se certifique bajo la norma ISO 9000:2008 es necesaria una auditoría de implantación y aplicación de la misma, que en caso de ser aprobada, emite un certificado de conformidad. Tal caso aplica a los laboratorios clínicos que buscan la certificación en la parte de gestión total del laboratorio bajo la norma ISO 9001 y en particular en su competencia técnica bajo la norma ISO 15189 (Terrés-Speziale, 2010).

La Norma ISO 15189 “Laboratorios médicos, requisitos para la calidad y la competencia”, es una norma de acreditación internacional ISO que se puede aplicar a todo tipo de laboratorios de biodiagnóstico y que cuenta con un contenido y redacción completo, minucioso y altamente exigente. Determina claramente las actividades del laboratorio clínico así como las acciones que éste debe realizar para alcanzar un mayor nivel de competencia técnica, en relación a los requerimientos de la comunidad científica. El objetivo de la norma 15189, es definir los requisitos particulares de calidad y competencia técnica para los laboratorios, abarca todas las pruebas y marca las instrucciones para sus procedimientos con la finalidad de asegurar su calidad, se puede destinar a todas las áreas de servicio de laboratorio clínico y a los sistemas de calidad administrativos y técnicos que dirijan el funcionamiento de los mismos. Se fundamenta en las normas ISO 17025 (Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración) e ISO 9001 y es la norma a aplicar por los organismos nacionales y oficiales que deseen confirmar o reconocer la competencia de los laboratorios otorgando la acreditación (Carbajales-León, 2010; Padilla-Bastidas, 2014).

En otras palabras, acreditar un laboratorio es reconocer formalmente su capacidad para prestar los servicios o pruebas analíticas, confirmando su calidad en base a la norma ISO 15189 que está específicamente orientada a la acreditación de diferentes

tipos de laboratorios clínicos. Mientras que la norma ISO 17025 es aplicable sobre todo a la fase analítica de los procedimientos con resultados que tienen valores bien definidos incluidos en escalas racionales, la norma ISO 15189 se puede dirigir también a las fases preanalítica y postanalítica, e incluso a los procedimientos no normalizados como los que han sido desarrollados por el propio laboratorio y que arrojan resultados con valores nominales, como la determinación de los grupos sanguíneos o el análisis de preparaciones histológicas, los cuales son muy importantes en el laboratorio clínico (Zamora-Palma, 2015).

En resumen la norma ISO 15189 incluye dos apartados fundamentales: el primero trata sobre el sistema de gestión de calidad y los requisitos para alcanzar la certificación y el segundo menciona los requerimientos técnicos adicionales que se necesitan para conseguir la acreditación. La norma se desarrolló con la finalidad de incitar a los profesionales de laboratorio a vigilar la confiabilidad y la adecuada interpretación de los resultados (Arellano-Gajón, 2008; Carbajales-León, 2010; Padilla-Bastidas, 2014).

1.3. Validación y verificación de métodos analíticos

En los procesos de acreditación que se mencionaron anteriormente la validación y la verificación de los métodos analíticos son una serie de actividades imprescindibles que forman parte del aseguramiento de la calidad y que impactan en el resultado que el laboratorio clínico emite a sus usuarios (Camaró-Sala y col., 2013).

Validación, según la NMX-CH-152-IMNC-2005 (Metrología en química-vocabulario), es la confirmación mediante la entrega de evidencia objetiva de que se han cumplido los requerimientos del método para una aplicación específica prevista. Mientras que la verificación es la confirmación mediante la aportación de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos especificados para un método. La verificación se basa en la evaluación del desempeño de un método con la finalidad de demostrar que este cumple con los requisitos para el uso previsto, que fueron establecidos como resultado de su validación (Brambila, 2009).

La validación determina la capacidad del desempeño de los procedimientos de examen y da a conocer las limitantes reales de la aplicación de los mismos. Los resultados de la validación los proporciona el fabricante en los instructivos de uso de los reactivos, sin embargo, antes de emplear dicha metodología, es responsabilidad del laboratorio verificar que se pueden aplicar adecuadamente los métodos ya validados bajo sus condiciones propias de operación (equipo, calibradores, analistas, instalaciones etc.) mediante la obtención de evidencia objetiva, que pueda confirmar un adecuado desempeño (Guglielmone y col., 2011).

La verificación otorga seguridad y confianza, por lo cual debería realizarse rutinariamente para evaluar cada metodología, equipo y procedimiento empleado durante el desarrollo del análisis de las muestras. Algunas de las ventajas que se pueden obtener al realizar esta valoración son: Un aumento en los registros de satisfacción de los clientes al proporcionar resultados basados en certidumbre y confiabilidad. La optimización de los procesos al disminuir los costos por desperdicios evitando la repetición de pruebas, con lo que además se minimiza el gasto adicional de insumos y reactivos. Satisfacer las demandas de los usuarios en lo que respecta a tiempos de atención y nivel de servicio. Incitar a que los proveedores de servicios, equipos y reactivos aumenten sus estándares de calidad en servicio, atención y producto. Y finalmente, pero no menos importante, fomentar una cultura de calidad global y no aislada (Baptista-González y col., 2009).

Un sistema acreditado se diferencia de uno certificado principalmente por el reconocimiento de su competencia técnica y el aseguramiento de la calidad de las fases: preanalítica, analítica y posanalítica. En estas etapas el equipo técnico y computarizado juega un papel muy importante, además hay que tener en cuenta el material y los métodos que intervienen en todas las fases del proceso de obtención, preparación y análisis de las muestras, ya que generalmente son las fuentes de múltiples factores potenciales de variación, que comprometen la calidad de los resultados si no están controlados. Por este motivo, la verificación se convierte en un

requisito obligatorio más de calidad ISO-17025 e ISO-15189 (Navarro-Álvarez y col., 2006; Chávez-Almazán y col., 2009).

Un laboratorio clínico acreditado o en proceso de acreditación debe demostrar que tiene la suficiente competencia técnica para llevar a cabo y superar las actividades de verificación de los métodos analíticos incluidos en su alcance de acreditación. La información que debe recopilar son los resultados de la evaluación de al menos los siguientes parámetros: linealidad (intervalo analítico), precisión, veracidad e incertidumbre (Gella-Tomás y col., 2013)

Previo a la ejecución de la verificación en el trabajo cotidiano del laboratorio, debe realizarse la calibración analítica de los equipos, y debido a que la verificación de un método depende en gran medida de los cambios realizados en las condiciones de trabajo, la evaluación debe repetirse cuando se presenten cambios mayores, tomando en cuenta que se entiende como cambio mayor al reemplazo de un equipo o al mantenimiento correctivo del mismo, entre otros; por otro lado se consideran cambios menores a la modificación del tamaño de muestra, el cambio de analista, la sustitución de reactivos, etcétera (Rosales y col., 2012).

1.3.1. Linealidad

La linealidad se refiere a la capacidad para producir resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito de interés presente en las muestras de estudio, dentro de un intervalo determinado. Cuando el término se aplica a un método analítico, se hace referencia al tramo de concentraciones del analito en el que la respuesta del sistema de medición corresponde a una función lineal; para que se considere que la linealidad del método analítico en cuestión es aceptable, la representación gráfica (concentración frente a respuesta) en un intervalo definido, debe mostrar una buena correlación de los puntos experimentales hacia la recta de regresión (Cáñez-Carrasco y col., 2015).

El Instituto de estándares clínicos y de laboratorio (CLSI por sus siglas en inglés, mismas que serán utilizadas en lo sucesivo) recomienda realizar la evaluación de la linealidad mediante el análisis de alícuotas que representen, un mínimo de 4 y preferiblemente 5, niveles de concentración del analito de interés, preparados a partir de muestras con concentraciones conocidas, o mediante la dilución de una muestra altamente concentrada. Los resultados de dichas determinaciones se deben representar gráficamente en función de los valores esperados o teóricos, y mediante el cálculo de la pendiente y el coeficiente de correlación se puede determinar si el método es lineal o no al comparar los resultados contra los criterios de aceptación correspondientes. Es importante incluir en la evaluación de la linealidad el rango analítico útil de un método, que en el caso de los métodos del laboratorio clínico es el intervalo de concentración que resulta de utilidad diagnóstica (Quam, 2015).

1.3.2. Precisión

La precisión es definida como el grado de concordancia observada entre los resultados obtenidos al analizar varias veces una muestra homogénea bajo las mismas condiciones de estudio. Los resultados suelen reportarse como el grado de imprecisión y se expresan generalmente en términos de desviación estándar, aunque debido a que la desviación estándar depende de la magnitud de la concentración de la sustancia en la muestra, es más conveniente expresar la imprecisión en términos del coeficiente de variación, el cual refleja el valor porcentual de la desviación estándar con respecto a la media de los valores obtenidos (Sandoval-Vegas y col., 2012).

Para realizar la evaluación de la precisión en el laboratorio clínico existen dos opciones: La primera opción es la recomendación del CLSI en sus documentos EP15-A y EP05-A2. Para realizar estos protocolos pueden utilizarse varios materiales como un pool de muestras de pacientes, materiales de control de calidad o estándares comerciales con valores conocidos. El protocolo EP05-A2 establece que la evaluación se realiza con al menos dos niveles de concentración realizando la determinación del analito de interés por duplicando durante 20 días, para simular la

operación real cada determinación debe realizarse con un tiempo mínimo de dos horas y/o 10 determinaciones de muestras de pacientes entre cada medición, y debe modificarse el orden del análisis del material de prueba cada día. El protocolo EP15-A es similar, excepto que en este experimento se realizan tres réplicas de cada muestra durante cinco días, utilizando al menos dos niveles de concentración (Zamora-Palma, 2011).

La segunda opción es lo recomendado por la EMA en su “Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de exámenes cuantitativos empleados por el laboratorio clínico”, según la cual se pueden utilizar alguna de las siguientes opciones: La primera opción es realizar el análisis de un material (que bien puede ser alguna muestra de un paciente, un suero control, un calibrador, entre otros) del que se puede conocer o no el valor verdadero, examinándolo por lo menos 20 veces en forma continua (evaluación intraserial o intracorrída) o bien 20 veces en el transcurso del día (evaluación intradía). La segunda opción consiste en recopilar 20 valores obtenidos uno cada día al analizar la misma muestra de un paciente, o bien obtener 20 datos provenientes del programa de control de calidad interno de 20 días diferentes correspondientes al análisis de alícuotas del mismo lote (evaluación interserial o intercorrída). Sin importar cuál de los protocolos se escoja se debe calcular la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación y realizar la comparación de estos resultados con los parámetros de aceptación correspondientes (CENAM, 2008).

Los protocolos recomendados por el CLSI resultan ser más complicados que los propuestos en la guía para la validación y la verificación de la EMA, sin embargo son los protocolos con mayor fortaleza metrológica para evaluar la imprecisión y son los más reconocidos a nivel internacional, esto no significa que el modelo propuesto por la EMA, a pesar de ser mucho más sencillo, sea menos confiable que los primeros para evaluar la precisión. Ambos métodos son instrumentos estadísticos fundamentales que le posibilitan al profesional del laboratorio realizar la evaluación

del desempeño de sus métodos analíticos de una manera confiable (Zamora-Palma, 2011).

1.3.3. Veracidad

El término veracidad se define como el grado de concordancia existente entre la media aritmética de un número dado de repeticiones y el valor verdadero o aceptado como referencia (Guerrero-Vega, 2014).

La veracidad de un método analítico se determina por medio de la estimación del error sistemático o sesgo, el cual puede tener su origen en causas muy diversas. El error sistemático puede valorarse conociendo el valor aceptado como verdadero de una muestra que será analizada bajo el método de estudio que se desea evaluar. Son valores considerados como verdaderos los siguientes:

- El valor asignado de un material de referencia.
- El valor que se obtiene al aplicar un procedimiento de medición de referencia.
- El valor obtenido por consenso de un programa de comparación entre laboratorios (evaluación externa de la calidad) (Gella-Tomás y col., 2013).

El procedimiento para la evaluación de la veracidad que utiliza materiales de referencia con valores asignados para estimar el error sistemático, es el más sencillo de los tres métodos ya que solo implica la medición del material de referencia empleando el método que se desea evaluar y realizar posteriormente el cálculo del porcentaje de recuperación o el porcentaje de error relativo, la principal desventaja de este método es el costo elevado del material de referencia. El segundo método implica un cálculo estadístico complicado y la colaboración con un laboratorio usuario de una metodología de referencia. Mientras que el último método requiere la inversión de más tiempo (al menos 6 meses de participación en un programa de evaluación externa) para realizar adecuadamente la evaluación (Gella-Tomás y col., 2010).

Generalmente se especifican los requisitos para la calidad analítica en tres formas distintas: la desviación estándar permitida definida en términos de precisión, en donde se ve involucrado el error aleatorio; el sesgo permitido expresado como la veracidad del método, relacionado con el error sistemático; y el error total permitido que involucra el efecto combinado de los dos anteriores al cual se le conoce como exactitud. Y aunque la precisión y la veracidad se puedan evaluar y reportar de manera aislada, la calidad del resultado de un paciente está determinada por el error neto, es por esto que el error total es el parámetro más relevante clínicamente. Las estimaciones de los errores aleatorios y sistemáticos (precisión y veracidad respectivamente) se pueden relacionar de manera gráfica en lo que se conoce como una “carta de decisión del método” (Figura 1), en donde se incluyen 6 parámetros de decisión correspondientes a diferentes metas analíticas y que toma como base el error total permitido establecido por CLIA (“Clinical Laboratory Improvement Amendments” -Enmiendas para la mejora del laboratorio clínico- por sus siglas en inglés, mismas que serán usadas en lo sucesivo) (Westgard, 2013).

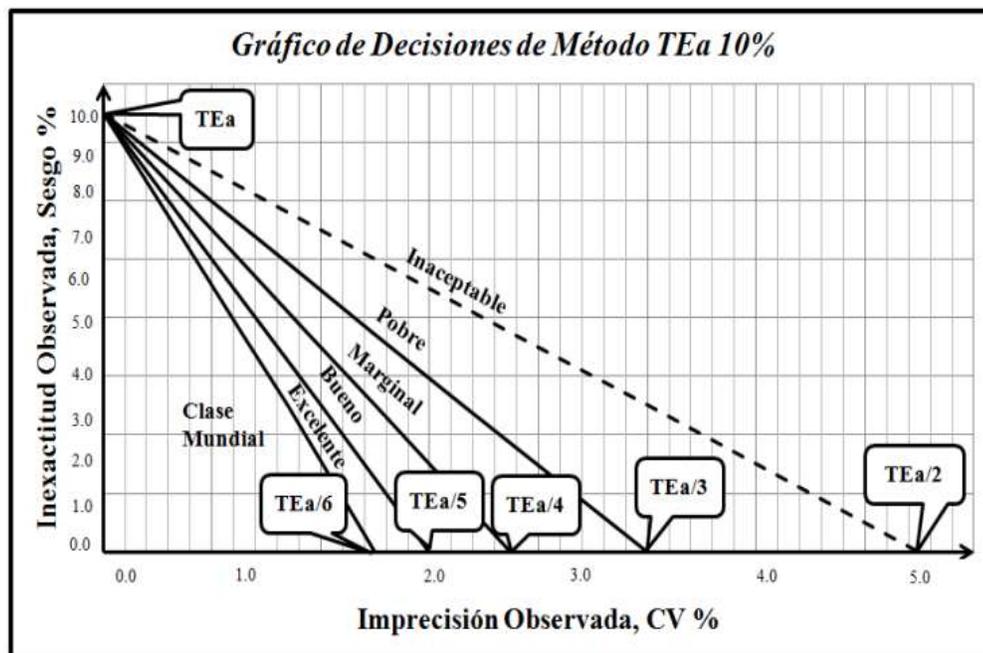


Figura 1. Ejemplo de una carta de decisión del método en donde se toma como base un error total permitido de 10% (Westgard, 2013).

Para usar una gráfica de decisión del método se debe colocar un punto en las coordenadas correspondientes utilizando los resultados obtenidos en la evaluación de la precisión (eje x) y la veracidad (eje y) del método que se desea evaluar, a este punto se le conoce como “punto operativo” ya que describe cómo funciona dicho método, una vez colocado el punto se realiza la evaluación en base a la localización del mismo tomando en cuenta lo siguiente: Un método con desempeño inaceptable no cumple con los requisitos de calidad y no es apto para su uso en el laboratorio. Un método con desempeño pobre se pudo haber considerado como adecuado antes de la introducción de los principios de gestión de calidad Seis Sigma, sin embargo actualmente no es verdaderamente apto para su uso rutinario. Un método con desempeño marginal provee la calidad necesaria siempre y cuando se apliquen estrategias adecuadas de control de calidad, haciendo énfasis en la capacitación del personal, el mantenimiento preventivo y un monitorio cuidadoso de los resultados, además será necesario introducir de 4 a 8 controles con cada corrida analítica. Un método con un buen desempeño cumple con los requisitos de calidad y puede ser aplicado en las determinaciones de rutina introduciendo de 2 a 4 controles por corrida, estableciendo en las cartas control límites de 2.5 desviaciones estándar. Un método con desempeño excelente es claramente aceptable y puede ser utilizado en operaciones de rutina introduciendo 2 controles por corrida y estableciendo límites de control de 2.5 o 3 desviaciones estándar. Finalmente un método con desempeño de clase mundial es más fácil de controlar por lo que solo requiere de la introducción de 1 o 2 controles por corrida aplicando límites altos de 3 o 3.5 desviaciones estándar en las cartas control (Westgard, 2013).

1.3.4. Incertidumbre

El término incertidumbre está definido como el parámetro, asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser razonablemente atribuidos al mensurando. En las determinaciones químicas, generalmente la incertidumbre relacionada con el valor de un analito tiene diferentes factores que contribuyen, las cuales a su vez tienen diversos orígenes, por ejemplo: el muestreo, los efectos de la matriz, interferencias, la temperatura y la humedad, la

variabilidad de los instrumentos de medición, entre otros. A cada uno de los factores anteriores se les denomina como componente de incertidumbre (Perdomo-Morales y col., 2007).

La aportación de cada uno de los diferentes componentes de la incertidumbre que se logran identificar en un método de determinación, se puede evaluar utilizando alguna de las siguientes opciones, las cuales se basan en la delimitación y vinculación de una distribución de probabilidad determinada a los valores de dichos componentes. La evaluación Tipo A. Es aquella que estima la incertidumbre mediante métodos estadísticos a partir de un valor que cambia de forma aleatoria, y que se obtiene de un conjunto de cierto número de repeticiones experimentales. Esta evaluación obtiene la estimación de la incertidumbre estándar mediante el cálculo de la desviación estándar o la desviación estándar relativa de la media obtenida del número total de repeticiones realizadas. Mientras que la evaluación Tipo B. Es aquella que estima la incertidumbre mediante métodos diferentes al análisis estadístico de un conjunto de repeticiones. Para este caso la determinación de la incertidumbre estándar requiere del análisis de la información proporcionada por el fabricante en cuanto a la incertidumbre que él mismo estimó para sus instrumentos y/o reactivos, lo cuales se ven involucrados en el método que se está evaluando, dicha información se puede obtener de algunos documentos tales como: certificados de materiales de referencia, certificados de calibración de instrumentos, catálogos o manuales y especificaciones técnicas, entre otros La elección de uno u otro método para la estimación de la incertidumbre dependerá realmente de las características del método que se esté evaluando y de la facilidad que se tenga para realizar las repeticiones que requiere la evaluación tipo A; si el método a evaluar se encuentra validado y se tiene toda la información proporcionada por el proveedor, la evaluación a aplicar será la tipo B, sin embargo si se trata de un método nuevo cuyos valores de incertidumbre de cada componente no se pueden localizar en la bibliografía, se empleara la evaluación tipo A, procurando efectuar la valoración de cada componente de la incertidumbre que sea posible realizar, tomando en cuenta las restricciones propias de cada método (Pérez-Castorena y col., 2002).

Adicionalmente a la información anterior y en base a que la incertidumbre de una medición se obtiene por la contribución de una serie de fuentes de incertidumbre que se combinan según la ley de propagación de incertidumbres; la mayoría de los métodos requerirá de la consideración de dos contribuciones a la incertidumbre estándar total: una contribución de tipo A, por ejemplo repetibilidad, y un componente que resulta de la combinación de todas las demás contribuciones obtenidas por métodos tipo B. En estos casos se obtiene la incertidumbre combinada dada por la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de cada componente considerando un nivel de confianza de 95% (Schmid, 2002).

1.4. Métodos analíticos empleados por el laboratorio clínico

Un método es aquel procedimiento de investigación que consiste en la fragmentación de un todo, dividiéndolo en sus partes o elementos para observar sus causas, su naturaleza y sus efectos. El análisis es la observación y estudio de un fenómeno en particular, para llevarlo a cabo es necesario conocer algunas de las características del objeto de estudio, con la finalidad de llegar a conocer más sobre su naturaleza. El método analítico permite entender más sobre lo que se estudia, ya que en base a la información obtenida como consecuencia de su aplicación se pueden realizar múltiples acciones como son: obtener explicaciones de un hecho, realizar analogías, comprender mejor el comportamiento de un objeto o fenómeno, establecer teorías y generar conclusiones sobre el objeto de estudio (Ruiz-Limón, 2006; Ramírez, 2015).

El aumento de la importancia que se le ha dado al desarrollo de la investigación en hospitales, centros de investigación y en la industria del diagnóstico in vitro ha originado la posibilidad de que para la determinación de un analito en un tipo específico de muestra se tengan disponibles varios métodos analíticos distintos. Debido a esto se ha vuelto sumamente importante que el laboratorio usuario de la metodología evalúe los distintos métodos que tiene a su disposición y seleccione aquel que mejor se adapte a sus necesidades y recursos. El método sobre el cual se realiza la evaluación de los parámetros de verificación que conforma el objetivo del presente trabajo es la química seca, debido a la gran importancia que ha tomado en

los últimos años en el diagnóstico clínico. Sus características y ventajas se mencionan a continuación (CENAM, 2008; Gella-Tomás y col., 2013).

1.4.1. Química seca

Una de las técnicas actualmente implementadas que permite realizar las determinaciones de diversos analitos de interés clínico es la llamada química seca. La tecnología de la química seca fue dada a conocer por primera vez alrededor de los años 70's. En 1976 el desarrollo del método ya presentaba algunos avances pero fue hasta 1978 cuando realmente se introdujo esta tecnología en el sector clínico. Los dispositivos que se requieren para el uso de esta técnica se usan desde hace décadas para llevar a cabo el análisis químico cualitativo de muestras de orina, pero fue hasta finales del siglo XX que su aplicación se incrementó de manera significativa en la cuantificación de diversos analitos en muestras biológicas usando la reflectometría (Suardíaz y col., 2004; Prada-Quesada, 2010).

La implementación de la química seca en el laboratorio ha revolucionado el análisis clínico, debido a la facilidad, confiabilidad y rapidez de su aplicación. Entre sus múltiples ventajas se destaca que es una técnica con la cual se consigue el resultado de una determinación específica a partir de un pequeño volumen de muestra (10µl), el cual puede ser suero, plasma, líquido cefalorraquídeo u orina; que se coloca sobre una laminilla, denominada "slide", que contiene los reactivos necesarios para que se produzca la reacción (Prada-Quesada, 2010).

Otra de las ventajas de la química seca es que no requiere el empleo de reactivos químicos líquidos, lo que facilita la eliminación de residuos y minimiza la contaminación que se produce como resultado de su implementación, este hecho también genera una reducción considerable en los tiempos de preparación de los reactivos para realizar las determinaciones. Una de las características de la técnica que impulso su desarrollo fue la posibilidad de poder usar las tiras reactivas tanto por el médico en su consultorio como por el propio paciente en su casa, para determinar por ejemplo, sus niveles de glucosa en sangre y orina, lo cual ha contribuido al buen

control de los pacientes diabéticos, más tarde aparecieron los glucómetros, que sustituyeron la lectura visual por la reflectometría, actualmente se pueden encontrar en el mercado múltiples aplicaciones de la química seca que van desde las pruebas de embarazo hasta la detección de marcadores tumorales como el antígeno prostático específico (March-Pujol y col., 2012).

Las mejoras que se obtienen con el uso de esta metodología son muy importantes, ya que se ha logrado un aumento en la calidad de los resultados gracias a la disminución de las interferencias. La reducción de los tiempos de entrega de los resultados y la fusión con equipos automáticos, han tenido también repercusiones muy importantes en la atención médica (Suardíaz y col., 2004; March-Pujol y col., 2012).

1.4.1.1. Fundamento del método

El método de química seca se fundamenta en la reflectometría que es una técnica de detección remota en la cual las características de la reflexión de una señal conocida dentro de un medio conocido se utilizan para determinar de manera exacta la localización espacial y la naturaleza de las discontinuidades en el medio permitiendo medir, por reflexión difusa o reflectancia (reflexión producida al penetrar la luz en las capas internas de la superficie iluminada) en una determinada longitud de onda, los cambios en la intensidad de coloración de una tira. En este caso nos apoyamos en la reflectometría para cuantificar la concentración de un producto de reacción entre un compuesto procedente del analito de interés, en una muestra, con un cromógeno presente en el medio de reacción (Flores-Larsen y col., 2011).

La incorporación de un microprocesador al equipo permite simplificar e incluso omitir muchos pasos en el procedimiento operativo y en la calibración. La facilidad de operación de los reflectómetros unida al pequeño espacio requerido para el almacenamiento de las tiras reactivas, el hecho de que la calibración del equipo es estable por un largo periodo de tiempo, y que las características de las laminillas favorecen la eliminación de interferencias, hace que el método de química seca se

considere ideal para el uso en el laboratorio (Suardíaz y col., 2004; Prada-Quesada, 2010).

1.4.1.2. Equipos y reactivos empleados en química seca

La implementación de esta técnica en el laboratorio clínico necesita básicamente dos cosas: un reflectómetro o analizador y las laminillas reactivas o slides.

La química seca se basa en la estabilización de los componentes de la reacción necesarios para el análisis (indicadores, enzimas y reactivos auxiliares), por pretratamiento y secado de las respectivas soluciones, en papel de filtro, fijado a su vez sobre una tira de material sintético. Los componentes estructurales de la laminilla son (Figura 2): un soporte de material sintético con un código magnético en un extremo, sobre el soporte del material sintético, un material de transporte del plasma, una serie de capas que contienen material separador (por lo general, fibra de vidrio) y reactivos, recubierto todo con una capa protectora. La muestra es depositada sobre el material separador, que retiene los eritrocitos, otras moléculas de alto peso molecular y sustancias interferentes y permite la difusión del plasma hacia el material de transporte. De aquí, pasa por capilaridad a través de las capas embebidas con los reactivos, en las cuales se lleva a cabo la reacción (Prada-Quesada, 2010).

Una laminilla de reacción típica consta de cuatro capas (Figura 3) que se clasifican de acuerdo a la función que cumplen:

- 1) La capa difusora es una capa porosa que permite distribuir uniformemente la muestra además de funcionar como filtro, ya que no deja pasar moléculas como proteínas, lípidos, hemoglobina, o bilirrubina (dependiendo de la determinación a realizar). Sirve también como pantalla para la reflexión de la luz. En algunas pruebas las reacciones se inician en esta capa, como en el caso del colesterol y triglicéridos ya que son moléculas muy grandes como para atravesar la capa difusora.

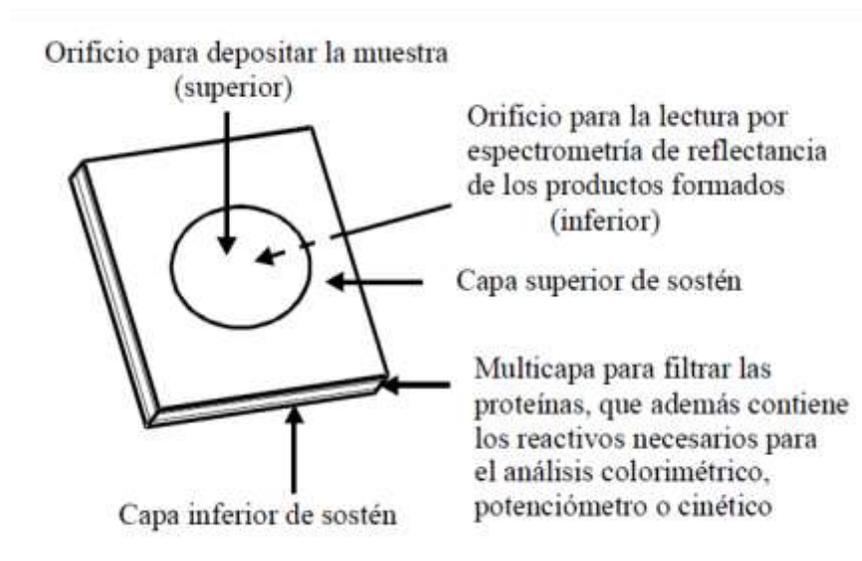


Figura 2. Partes que componen la placa fotográfica múltiple de un analizador que utiliza el principio de la química seca (Prada-Quesada, 2010).

- 2) La capa de reacción es aquella que contiene las sustancias que pueden ser enzimas o cualquier otro compuesto químico, que se encuentran en condiciones muy controladas para intervenir en la reacción.
- 3) La capa indicadora contiene el colorante para formar el complejo colorido, que será proporcional a la concentración del analito, el cual se cuantifica por espectrofotometría de reflexión.
- 4) Y la capa de soporte que es la base de la laminilla donde están depositadas las demás capas, está fabricada con un material de plástico transparente que permite que pase la luz para que la reacción pueda ser medida (Suardíaz y col., 2004).

Existen además algunas capas extras para pruebas específicas, como son:

- Membrana semipermeable: elimina interferencias y aumenta la especificidad. Se encuentra en las laminillas de amonio y BUN.
- Capa enmascaradora: permite tapar pigmentos como en el caso de la laminilla de BuBc (Bu bilirrubina no conjugada, Bc bilirrubina conjugada), en donde se elimina la interferencia causada por la hemoglobina.

- Capa depuradora: esta capa forma compuestos con sustancias que interfieren en la reacción, como en el caso del ácido úrico, donde se utiliza la enzima ascorbato oxidasa para eliminar la interferencia del ácido ascórbico. También puede contener agentes quelantes como en el caso de la laminilla de hierro, para eliminar la interferencia causada por el zinc (Ortho Clinical Diagnostics, 2004).

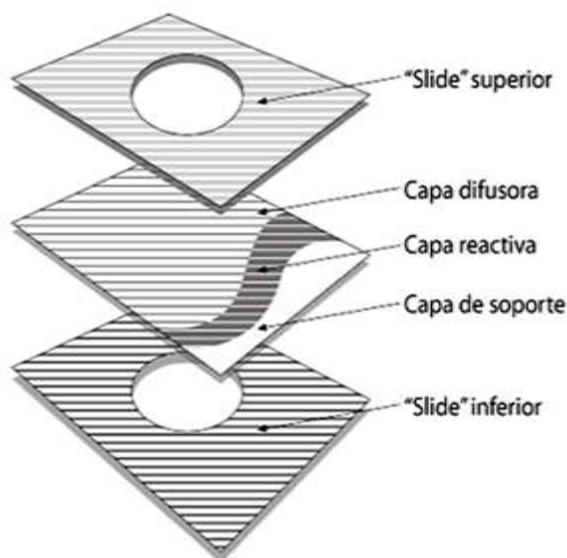


Figura 3. Capas que constituyen un slide típico (Ortho Clinical Diagnostics, 2004).

La presencia de estas últimas capas y de la capa difusora en las laminillas de reacción otorgan a la química seca las ventajas que se mencionan en el apartado anterior en comparación con la química líquida, ya que se eliminan las interferencias de la medición, la representación gráfica de este proceso se muestra en la Figura 4.

Los tiempos de preincubación y de reacción, así como las temperaturas necesarias para realizar estas acciones, son controlados por el equipo. Algunos sistemas poseen dos compartimientos en la tira, uno para la muestra, y otro para un calibrador acuoso (Suardíaz y col., 2004; Prada-Quesada, 2010).

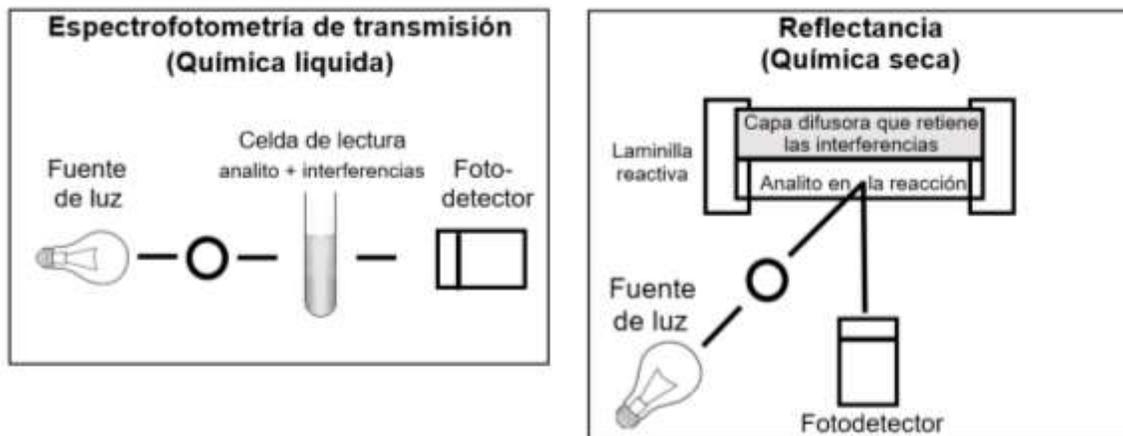


Figura 4. Espectrofotometría de transmisión contra reflectancia, representación gráfica del efecto de las capas que eliminan las interferencias en las laminillas de reacción (Ortho Clinical Diagnostics, 2004).

Existen diferentes tipos de laminillas reactivas, dependiendo del tipo de análisis por realizar estos pueden ser:

- Colorimétricos los cuales hacen una determinación de punto final, ya que hacen la medición una vez terminada la reacción, ejemplo: glucosa, ácido úrico, colesterol.
- Enzimáticos que llevan a cabo varias lecturas durante el curso de la reacción, ejemplo: lactato deshidrogenasa, amilasa, lipasa.
- Y potenciométricos que miden el diferencial de potencial entre la muestra y el fluido de referencia, por medio de un electrodo de ion selectivo permitiendo así medir la concentración de electrolitos.

En los primero dos casos (colorimétricos y enzimáticos) la concentración del analito se cuantifica a través de una medición espectrofotométrica por reflexión, en el tercer caso la determinación se realiza mediante la medición del diferencial de potencial del analito presente en la muestra contra una solución de referencia (Ortho Clinical Diagnostics, 2004).

El núcleo de un reflectómetro está compuesto por la llamada esfera de Ulbricht, la cual contiene una fuente de emisión de luz en una determinada longitud de onda constituida en algunos sistemas por un diodo y en otros por una lámpara de arco de

xenón. El rayo emitido incide sobre el área de lectura de la laminilla de reacción y es reflejado por ésta, los detectores comparan la intensidad de la luz emitida por el diodo emisor con la de la luz reflejada. Mientras mayor sea esta última, menor será la concentración del analito. Algunos sistemas solo pueden realizar determinaciones colorimétricas, mientras que otros pueden llevar a cabo análisis enzimáticos (Sanz-González, 2014).

Toda la información que el equipo requiere, está contenida en el código magnético de la tira: identificación del analito, duración de la fase de preincubación y de reacción, longitud de onda requerida, número de mediciones e intervalo de tiempo entre ellas, cálculo de los resultados y factores de conversión (Suardíaz y col., 2004; Prada-Quesada, 2010).

El método de química seca tiene múltiples aplicaciones en el laboratorio clínico, pero sin duda la aplicación más importante se da en el área de bioquímica clínica o química sanguínea cuya finalidad es la aplicación de la ciencia química para contribuir a la resolución de problemas de salud. La función del área de bioquímica clínica es realizar análisis, tanto cualitativos como cuantitativos, en fluidos corporales; para que los resultados de dichos estudios sean útiles a los médicos en el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de una enfermedad (Velázquez-Salgado, 2009; Guerrero-Vega, 2014).

Dentro de las determinaciones más importantes que se incluyen en esta categoría se encuentran las cuantificaciones séricas de glucosa, colesterol y triglicéridos que forman parte de las determinaciones consideradas como estudios de rutina y que en los últimos años han tenido una relevancia médica creciente debido al aumento en la incidencia del síndrome metabólico que presenta gran parte de la población mundial en la actualidad y que provoca alteraciones con consecuencias potencialmente mortales (Hernández-Tamayo, 2011).

1.4.2. Determinación de glucosa

La principal función bioquímica de la glucosa es la de proporcionar energía para los procesos de la vida. El adenosín trifosfato (ATP) es la fuente de energía universal para las reacciones biológicas. La oxidación de la glucosa por las vías glucolítica y del ácido cítrico es la fuente principal de energía para la biosíntesis del ATP. Cuando se tiene un exceso de glucosa en la sangre por arriba del límite superior normal (110mg/dL) se presenta la hiperglucemia, el aumento de la concentración de glucosa sérica se dan en: respuesta a la tensión, enfermedad de Cushing, diabetes mellitus, acromegalia, hipertiroidismo, pancreatitis crónica, administración de algunos fármacos como diuréticos clorotiacídicos, coma hiperosmolar no cetónico, entre otros. Mientras que la hipoglucemia es un trastorno caracterizado por una concentración de glucosa en ayunas menor al límite inferior normal (75mg/dL) esto sucede en: enfermedad hepática, desnutrición, posgastrectomía, tolerancia deficiente a la glucosa, administración excesiva de insulina, hipoglucemia funcional o espontánea, ingestión de alcohol en ayunas (Velázquez-Salgado, 2009; Guerrero-Vega, 2014).

Para la determinación de la concentración de glucosa en suero sanguíneo el fundamento del método de química seca se basa en la oxidación de la glucosa contenida en la muestra la cual es catalizada por la glucosa oxidasa para formar peróxido de hidrógeno y gluconato. Esta reacción va seguida de un acoplamiento oxidativo catalizado por la peroxidasa en presencia de precursores colorantes para producir un pigmento (la concentración de glucosa es proporcional a la concentración del peróxido formado). La intensidad del pigmento se mide por la luz reflejada (VITROS, 2012).

1.4.3. Determinación de colesterol

El colesterol es una sustancia hidrófoba, que se sintetiza sobre todo en el hígado, es esencial para el funcionamiento normal del organismo ya que es un componente estructural esencial de las membranas de todas las células animales y partículas subcelulares, precursor de ácidos biliares, hormonas esteroides y de la vitamina D.

La cuantificación de colesterol en suero es clínicamente importante, ya que existe una relación entre la concentración del colesterol plasmático elevado (más de 200mg/dL) y la presencia de problemas cardíacos coronarios. Las concentraciones séricas de colesterol disminuyen en: desnutrición, esteatorrea, hepatitis, hipertiroidismo, personas con infección aguda y anemia; y aumentan en: hiperlipoproteinemia, cáncer de la cabeza del páncreas, hipotiroidismo, síndrome nefrótico, el tercer trimestre del embarazo y predisposición genética (Velázquez-Salgado, 2009; Guerrero-Vega, 2014).

Para la determinación de la concentración de colesterol en suero sanguíneo empleando el método de química seca, el fundamento está basado en la acción de la enzima colesterol esterasa que hidroliza los ésteres de colesterol presentes en la muestra dando colesterol libre y ácidos grasos, en una posterior oxidación mediante la colesterol oxidasa se forma H_2O_2 y colesterona. El H_2O_2 se valora por la reacción de Trinder, mediante un cromógeno: fenol y 4-Aminoantipirina, en presencia de peroxidasa, formando una quinonimina cuya coloración, es proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra (VITROS, 2012).

1.4.4. Determinación de triglicéridos

Los triglicéridos están constituidos por glicerol y ácidos grasos. Aproximadamente del 40% del consumo de calorías en la dieta consta de lípidos. Los triglicéridos constituyen una porción importante (del 98 a 99%) de los lípidos animales y el resto son colesterol y otros lípidos. Los padecimientos en los cuales se observa una concentración elevada de triglicéridos en sangre (más de 190mg/dL) son: xantoma eruptivo, lipemia retiniana, organomegalia, pancreatitis, intolerancia a la glucosa, hiperuricemia, aterosclerosis prematura, diabetes mellitus insulínopénica, disglobulinemia, lupus eritematoso, embarazo, uso de hormonas, enfermedad por almacenamiento de glucógeno, alcoholismo, enfermedad de Gaucher, mieloma (Velázquez-Salgado, 2009; Guerrero-Vega, 2014).

El método de química seca para la determinación de triglicéridos en suero sanguíneo se fundamenta en la hidrólisis enzimática de los triglicéridos, presentes en la muestra, a glicerol el cual, mediante la enzima glicerol cinasa y glicerol-p-oxidasa, libera peróxido de hidrógeno que se valora mediante la reacción de Trinder (VITROS, 2012).

2. HIPÓTESIS

Los métodos de química seca para la determinación sérica de glucosa, colesterol y triglicéridos implementados por el laboratorio clínico evaluado, presentan un adecuado desempeño analítico, bajo sus condiciones de trabajo establecido mediante la evaluación de la linealidad, precisión, veracidad e incertidumbre de cada método.

3. OBJETIVOS

3.1. General

Evaluar los parámetros de verificación de los métodos de química seca implementados por un laboratorio clínico para la cuantificación sérica de glucosa, colesterol y triglicéridos.

3.2. Específicos

Evaluar de manera preliminar las condiciones funcionales del laboratorio.

Evaluar la linealidad de los métodos de química seca empleados para la determinación de glucosa, colesterol y triglicéridos.

Evaluar la precisión de los métodos de química seca empleados para la determinación de glucosa, colesterol y triglicéridos.

Evaluar la veracidad de los métodos de química seca empleados para la determinación de glucosa, colesterol y triglicéridos.

Realizar una estimación de la incertidumbre de los métodos de química seca empleados para la determinación de glucosa, colesterol y triglicéridos.

4. METODOLOGÍA

4.1. Materiales

Pipeta automática de volumen ajustable 200 - 1000µL

Analizador Vitros® 250

Pipeta volumétrica de 3mL

Puntas desechables para pipeta automática (200 - 1000µL)

Termómetro

4.2. Reactivos

Slides marca Vitros® para glucosa

Slides marca Vitros® para colesterol

Slides marca Vitros® para triglicéridos

Material de referencia certificado de glucosa y colesterol con matriz sérica.

Calibrador marca Vitros® kit I

Calibrador marca Vitros® kit II

4.3. Metodología para realizar la evaluación.

4.3.1. Evaluación de las condiciones preliminares del laboratorio.

Se evaluaron las condiciones preliminares realizando una comparativa entre el estado óptimo y las entonces condiciones actuales del laboratorio clínico en cuanto a instalaciones, recursos técnicos y personal, de acuerdo con el Cuadro 1, anotando en las últimas dos columnas de la derecha si el laboratorio cumplía o no con las condiciones recomendadas para realizar las evaluaciones posteriores. La elección de las condiciones evaluadas se realizó en base a los requisitos del fabricante para la implementación de la metodología.

Se realizó un registro de la temperatura ambiente del laboratorio en un día representativo de trabajo, tomando lecturas cada hora durante el horario funcional del establecimiento.

Cuadro 1. Evaluación de las condiciones preliminares del laboratorio

	Parámetros evaluados	Condiciones del laboratorio evaluado	
		Cumple	No cumple
Instalaciones	<ul style="list-style-type: none"> • Espacio y distribución adecuados • Condiciones climáticas: <ul style="list-style-type: none"> ○ Temperatura ($20\pm 5^{\circ}\text{C}$) ○ Control de humedad ($40\pm 5\%$) 		
Recursos técnicos	<ul style="list-style-type: none"> • Analizador funcional: <ul style="list-style-type: none"> ○ Instalación adecuada (Regulador de corriente eléctrica) ○ Programa de mantenimientos preventivos (diario, semanal, mensual y anual) ○ Programa de control de calidad 		
Personal	<ul style="list-style-type: none"> • Personal capacitado • Personal de uso exclusivo para el analizador • Capacitación continua 		
Observaciones:			

4.3.2. Evaluación de la linealidad.

Se llevó a cabo la evaluación de la linealidad, preparando disoluciones patrón en 5 niveles de concentración, empleando el kit de calibradores I y II marca Vitros®, que incluye sueros control de concentración alta y baja para los analitos de interés, en este caso glucosa, colesterol y triglicéridos.

La preparación de las disoluciones patrón se realizó de acuerdo al Cuadro 2, tomando 1mL como volumen final de cada alícuota.

Cuadro 2. Preparación de las diluciones patrón para la evaluación de la linealidad

Numero de dilución	Proporción en volumen de la muestra 1 (M1)	Proporción en volumen de la muestra 2 (M2)
1	Usar sin diluir	0
2	3	1
3	2	2
4	1	3
5	0	Usar sin diluir

Se realizaron cuatro mediciones de cada dilución empleado el analizador y las laminillas reactivas correspondientes para las determinaciones de glucosa, colesterol y triglicéridos respectivamente.

Se construyó una gráfica por cada analito con la media aritmética de las réplicas, colocando sobre el eje Y las concentraciones calculadas y sobre el eje X el valor teórico de concentración para cada dilución. Se calculó la ecuación de la recta para los puntos dados, y el coeficiente de correlación.

Para la validación del intervalo reportable, se llenó la columna 2 del Cuadro 3 y se realizaron los cálculos ahí mencionados para la obtención del sesgo o desviación y el porcentaje de error para cada uno de los analitos (glucosa, colesterol y triglicéridos).

Los resultados de ambas pruebas se analizaron de acuerdo a los criterios de aceptación que menciona la “Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico” expedida por la EMA y el CENAM.

Cuadro 3. Cuantificación de errores en el intervalo reportable.

Numero de dilución	Media de los valores de concentración (Y)	Valor teórico (X)	Sesgo (Desviación)	% Error
1	Ingresar valor medio	$(M1 \times 1) + (M2 \times 0)$	$Y1 - X1$	$(\text{Sesgo}1 / X1) \times 100$
2	Ingresar valor medio	$(M1 \times 0.75) + (M2 \times 0.25)$	$Y2 - X2$	$(\text{Sesgo}2 / X2) \times 100$
3	Ingresar valor medio	$(M1 \times 0.5) + (M2 \times 0.5)$	$Y3 - X3$	$(\text{Sesgo}3 / X3) \times 100$
4	Ingresar valor medio	$(M1 \times 0.25) + (M2 \times 0.75)$	$Y4 - X4$	$(\text{Sesgo}4 / X4) \times 100$
5	Ingresar valor medio	$(M1 \times 0) + (M2 \times 1)$	$Y5 - X5$	$(\text{Sesgo}5 / X5) \times 100$

4.3.3. Evaluación de la precisión.

La evaluación de la precisión de los métodos se realizó repitiendo 20 veces el análisis de los calibradores: kit 2 vial 2 para colesterol, kit 2 vial 3 para triglicéridos y kit 1 vial 2 para glucosa, de forma continua (interserial), empleando el analizador y las laminillas reactivas correspondientes para cada determinación.

Se procedió a calcular la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación expresado en porcentaje, para cada una de las determinaciones. Los datos obtenidos fueron comparados con el error permitido por CLIA para cada analito de interés (glucosa, colesterol y triglicéridos).

4.3.4. Evaluación de la veracidad.

La evaluación de la veracidad de los métodos para la determinación de glucosa y colesterol se realizó por medio del análisis de un material de referencia certificado por el CENAM, mientras que la evaluación de la veracidad del método para la determinación de triglicéridos se realizó mediante el análisis del vial 3 del kit 2 de calibradores marca Vitros debido a que el material de referencia certificado que se adquirió, no especificaba una concentración definida para este analito.

Se realizó el análisis 10 veces para cada uno de los analitos empleando el analizador y las laminillas reactivas correspondientes para cada determinación.

Se calculó la media aritmética de las repeticiones y en base a estos datos se obtuvo el porcentaje de recuperación y el porcentaje de error relativo para cada analito, estos resultados junto con los obtenidos en la evaluación de la precisión se incluyeron en un gráfico de decisión del método para determinar el grado de desempeño analítico de cada uno de los métodos.

4.3.5. Estimación de la incertidumbre.

La evaluación de la incertidumbre de los métodos de análisis para la determinación de los tres analitos (glucosa, colesterol y triglicéridos) se realizó calculando la incertidumbre expandida tomando en cuenta los resultados del control de calidad interno del laboratorio clínico en el último periodo de calibración y la incertidumbre de los calibradores proporcionada por el fabricante.

5. RESULTADOS

5.1. Evaluación de las condiciones preliminares del laboratorio.

El Cuadro 4 muestra los resultados de la evaluación preliminar de las condiciones funcionales del laboratorio antes de comenzar con la evaluación de los parámetros de verificación.

Cuadro 4. Resultados de la evaluación de las condiciones preliminares del laboratorio

	Parámetros evaluados	Condiciones del laboratorio evaluado	
		Cumple	No cumple
Instalaciones	<ul style="list-style-type: none"> • Espacio y distribución adecuados • Condiciones climáticas: <ul style="list-style-type: none"> ○ Temperatura ($20\pm 5^{\circ}\text{C}$) ○ Control de humedad ($40\pm 5\%$) 	✓	X X
Recursos técnicos	<ul style="list-style-type: none"> • Analizador funcional: <ul style="list-style-type: none"> ○ Instalación adecuada (Regulador de corriente eléctrica) ○ Mantenimientos preventivos (diario, semanal, mensual y anual) ○ Programa de control de calidad 	✓	X X
Personal	<ul style="list-style-type: none"> • Personal capacitado • Personal de uso exclusivo para el analizador • Capacitación continua 	✓	X X
Observaciones:			
<p>El equipo no estaba conectado a un regulador de corriente eléctrica, lo que podría alterar los resultados emitidos y dañar el instrumento.</p> <p>El laboratorio no cuenta con un sistema para controlar la temperatura ni la humedad de las instalaciones, condiciones que afectan el funcionamiento del analizador.</p> <p>El laboratorio no cuenta con personal de uso exclusivo del analizador, por lo que varias personas manipulan el equipo y dificulta el control en los cambios que se realizan en el instrumento.</p>			

En el Cuadro 5 se muestra el registro de la temperatura ambiente del laboratorio durante un día normal de trabajo, se realizó una medición de la temperatura cada hora durante el horario de funcionamiento del establecimiento (08:00-15:00 horas).

Cuadro 5. Registro de la temperatura ambiente del laboratorio.

Hora	Temperatura	Hora	Temperatura
08:00am	24°C	12:00pm	29°C
09:00am	25°C	01:00pm	30°C
10:00am	26°C	02:00pm	32°C
11:00am	27°C	03:00pm	33°C

5.2. Evaluación de la linealidad del método.

5.2.1. Glucosa

El Cuadro 6 muestra los resultados obtenidos de las 4 réplicas para cada uno de los 5 niveles de concentración que se realizaron durante la evaluación de la linealidad del método para la determinación de glucosa, la columna de la derecha muestra la media aritmética de las 4 repeticiones.

Cuadro 6. Resultados de las réplicas de los 5 niveles de concentración para la evaluación de la linealidad de glucosa.

Número de dilución	Resultados				Media mg/dL
	1	2	3	4	
1	37	37	37	37	37
2	181	180	180	180	180.25
3	334	331	328	333	331.5
4	435	436	436	437	436
5	569	567	566	566	567

El Cuadro 7 muestra los resultados del sesgo y del porcentaje de error obtenido para cada nivel de concentración (intervalo reportable) en base a la concentración teórica de cada dilución.

Cuadro 7. Resultados de sesgo y porcentaje de error con respecto al valor teórico en el intervalo reportable para el método de determinación de glucosa.

Número de dilución	Media mg/dL	Concentración teórica mg/dL	Sesgo (desviación)	% Error
1	37	35	2	5.71
2	180.25	176.25	4	2.27
3	331.5	317.5	14	4.41
4	436	458.75	-22.75	4.96
5	567	600	-33	5.50

La Figura 5 es la representación gráfica obtenida de la evaluación de la linealidad para el método de determinación de glucosa. Muestra la ecuación de la recta y el coeficiente de correlación obtenidos de la relación entre la media aritmética de las 4 repeticiones para los 5 niveles de concentración, en función de la concentración teórica de cada dilución.

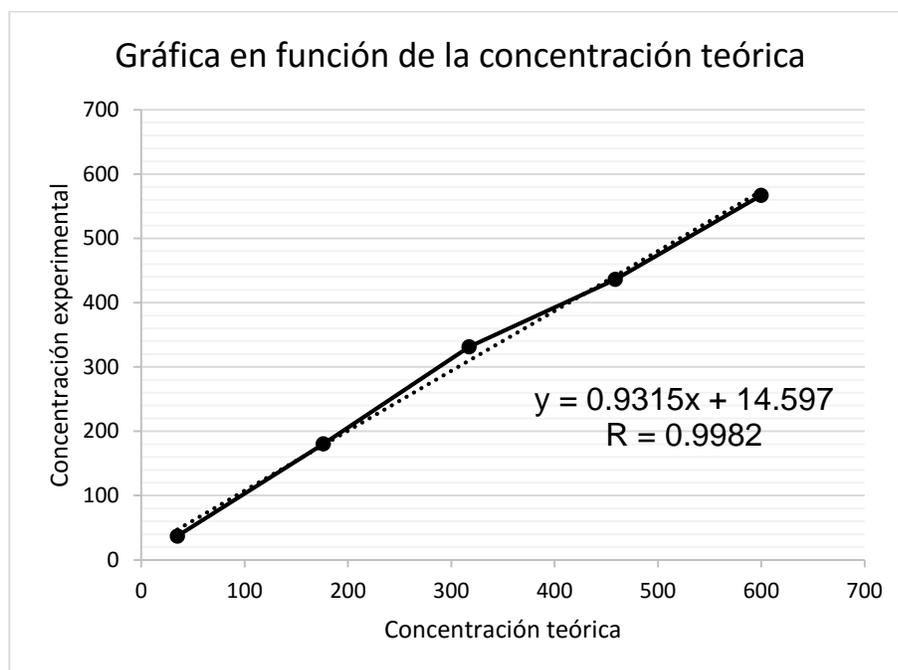


Figura 5. Gráfica de la concentración experimental en función de la concentración teórica de los resultados de la evaluación de la linealidad del método para determinación de glucosa.

5.2.2. Colesterol

El Cuadro 8 muestra los resultados obtenidos de las 4 réplicas para cada uno de los 5 niveles de concentración que se realizaron durante la evaluación de la linealidad del método para la determinación de colesterol, la columna de la derecha muestra la media aritmética de las 4 repeticiones.

Cuadro 8. Resultados de las réplicas de los 5 niveles de concentración para la evaluación de la linealidad de colesterol.

Número de dilución	Resultados				Media mg/dL
	1	2	3	4	
1	60	58	58	59	58.75
2	127	125	122	125	124.75
3	221	219	215	217	218
4	331	319	316	314	320
5	413	404	398	400	403.75

El Cuadro 9 muestra los resultados del sesgo y del porcentaje de error obtenido para cada nivel de concentración (intervalo reportable) en base a la concentración teórica de cada dilución en la evaluación de la linealidad del método de determinación de colesterol.

Cuadro 9. Resultados de sesgo y porcentaje de error con respecto al valor teórico en el intervalo reportable para el método de determinación de colesterol.

Número de dilución	Media mg/dL	Concentración teórica mg/dL	Sesgo (desviación)	% Error
1	58.75	60	-1.25	2.08
2	124.75	130.5	-5.75	4.41
3	218	237	-19	8.02
4	320	343.5	-23.5	6.84
5	403.75	450	-46.25	10.28

La Figura 6 es la representación gráfica obtenida de la evaluación de la linealidad del método de determinación de colesterol. Muestra la ecuación de la recta y el

coeficiente de correlación obtenidos de la relación entre la media aritmética de las 4 repeticiones para los 5 niveles de concentración, en función de la concentración teórica de cada dilución.

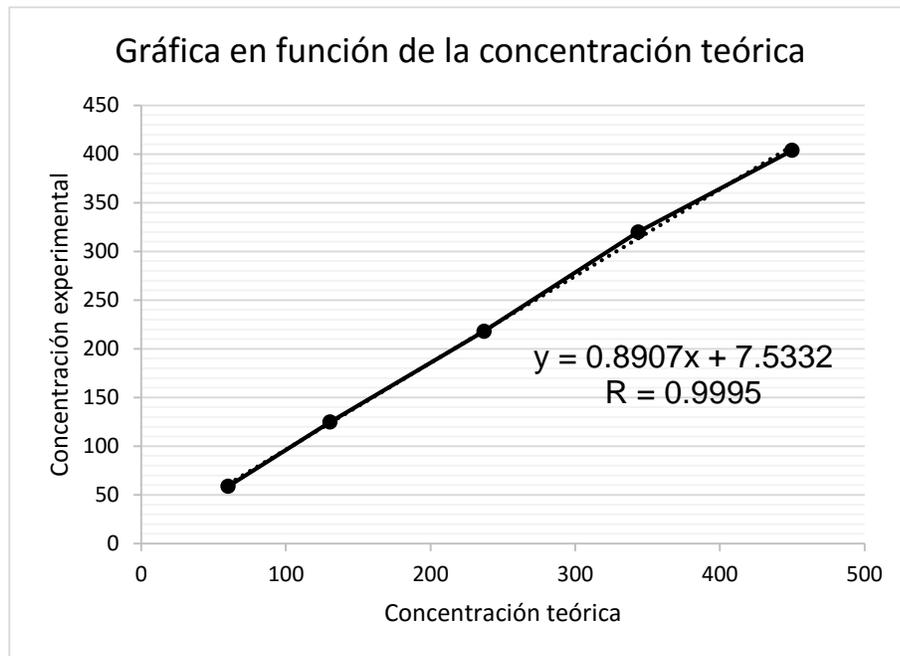


Figura 6. Gráfica de la concentración experimental en función de la concentración teórica de los resultados de la evaluación de la linealidad del método para la determinación de colesterol.

5.2.3. Triglicéridos

El Cuadro 10 muestra los resultados obtenidos de las 4 réplicas para cada uno de los 5 niveles de concentración que se realizaron durante la evaluación de la linealidad del método para la determinación de triglicéridos, la columna de la derecha muestra la media aritmética de las 4 repeticiones.

El Cuadro 11 muestra los resultados del sesgo y del porcentaje de error obtenido para cada nivel de concentración (intervalo reportable) en base a la concentración teórica de cada dilución obtenidos en la evaluación de la linealidad del método para la determinación de triglicéridos.

Cuadro 10. Resultados de las réplicas de los 5 niveles de concentración para la evaluación de la linealidad de triglicéridos.

Número de dilución	Resultados				Media mg/dL
	1	2	3	4	
1	29	30	28	30	29.25
2	133	134	133	132	133
3	242	242	238	239	240.25
4	348	349	346	347	347.5
5	435	434	432	433	433.5

Cuadro 11. Resultados de sesgo y porcentaje de error con respecto al valor teórico en el intervalo reportable para el método de determinación de triglicéridos.

Número de dilución	Media mg/dL	Concentración teórica mg/dL	Sesgo (desviación)	% Error
1	29.25	35	-5.75	16.43
2	133	151.25	-18.25	12.07
3	240.25	267.5	-27.25	10.19
4	347.5	383.75	-36.25	9.45
5	433.5	500	-66.5	13.30

La Figura 7 es la representación gráfica obtenida de la evaluación de la linealidad para el método de determinación de triglicéridos. Muestra la ecuación de la recta y el coeficiente de correlación obtenidos de la relación entre la media aritmética de las 4 repeticiones para los 5 niveles de concentración, en función de la concentración teórica de cada dilución.

5.3. Evaluación de la precisión del método.

5.3.1. Glucosa

El cuadro 12 muestra los 20 resultados obtenidos en la evaluación intraserial de la precisión del método para la determinación de glucosa, además del resultado de la media aritmética de las repeticiones, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

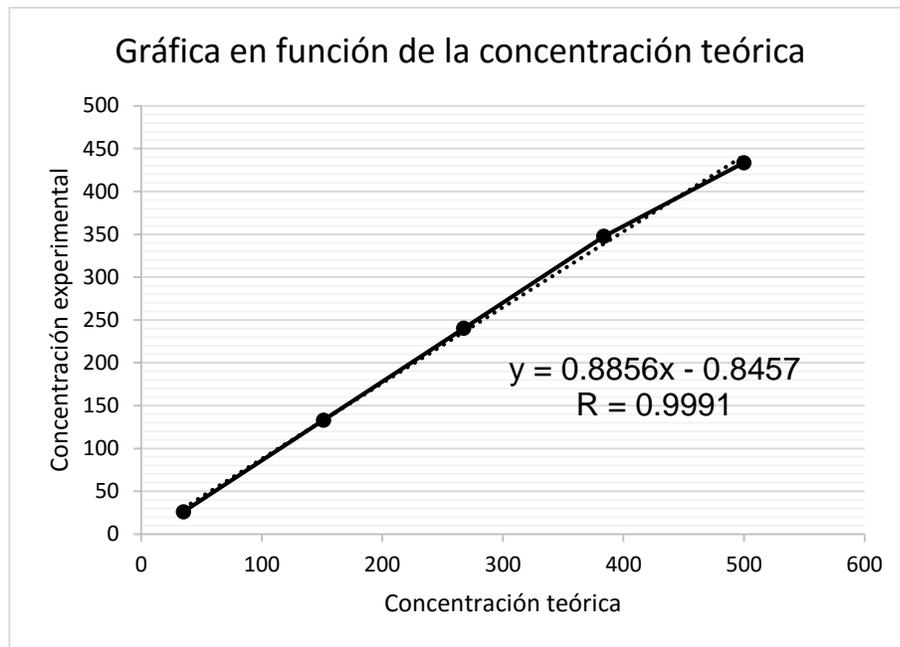


Figura 7. Gráfica de la concentración experimental en función de la concentración teórica de los resultados de la evaluación de la linealidad del método para la determinación de triglicéridos.

El cuadro 13 muestra los 20 resultados obtenidos en la evaluación interserial de la precisión del método para la determinación de glucosa, además del resultado de la media aritmética de las repeticiones, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

5.3.2. Colesterol

El cuadro 14 muestra los 20 resultados obtenidos en la evaluación intraserial de la precisión del método para la determinación de colesterol, además del resultado de la media aritmética de las repeticiones, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

El cuadro 15 muestra los 20 resultados obtenidos en la evaluación interserial de la precisión del método para la determinación de colesterol, además del resultado de la media aritmética de las repeticiones, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

Cuadro 12. Resultados de la evaluación intraserial de la precisión del método para la determinación de glucosa.

Precisión			
Repetición	Resultado mg/dL	Repetición	Resultado mg/dL
1	303	11	301
2	299	12	301
3	299	13	301
4	301	14	300
5	301	15	300
6	299	16	300
7	297	17	298
8	297	18	295
9	297	19	297
10	296	20	298
Media			299.00
Desv. estándar			2.08
CV			0.70%

Cuadro 13. Resultados de la evaluación interserial de la precisión del método para la determinación de glucosa.

Control de calidad interno			
Fecha	Resultado mg/dL	Fecha	Resultado mg/dL
28-ago	77.7	10-sep	79.9
29-ago	78	11-sep	81.3
31-ago	78.1	12-sep	82.1
01-sep	78.2	14-sep	83.8
03-sep	78.5	15-sep	79.9
04-sep	77.5	17-sep	82.4
05-sep	77.3	18-sep	82.9
07-sep	77.9	19-sep	83.5
08-sep	76.6	28-sep	80
09-sep	80.7	30-sep	79.8
Media			79.81
Desv. Estándar			2.23
CV			2.8%

Cuadro 14. Resultados de la evaluación intraserial de la precisión del método para la determinación de colesterol.

Precisión			
Repetición	Resultado mg/dL	Repetición	Resultado mg/dL
1	207	11	200
2	206	12	203
3	203	13	204
4	205	14	205
5	204	15	198
6	206	16	203
7	204	17	205
8	204	18	203
9	207	19	203
10	204	20	201
Media			203.75
Desv. estándar			2.22
CV			1.09%

Cuadro 15. Resultados de la evaluación interserial de la precisión del método para la determinación de colesterol.

Control de calidad interno			
Fecha	Resultado mg/dL	Fecha	Resultado mg/dL
28-ago	131	10-sep	134
29-ago	132	11-sep	134
31-ago	135	12-sep	135
01-sep	130	14-sep	137
03-sep	132	15-sep	130
04-sep	131	17-sep	136
05-sep	129	18-sep	136
07-sep	132	19-sep	136
08-sep	129	28-sep	141
09-sep	134	30-sep	140
Media			133.7
Desv. Estándar			3.39
CV			2.53%

5.3.3. Triglicéridos

El cuadro 16 muestra los 20 resultados obtenidos en la evaluación intraserial de la precisión del método para la determinación de triglicéridos, además del resultado de la media aritmética de las repeticiones, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

Cuadro 16. Resultados de la evaluación intraserial de la precisión del método para la determinación de triglicéridos.

Precisión			
Repetición	Resultado mg/dL	Repetición	Resultado mg/dL
1	225	11	228
2	226	12	230
3	224	13	231
4	225	14	232
5	226	15	230
6	235	16	226
7	231	17	230
8	233	18	230
9	233	19	228
10	232	20	228
Media			229.15
Desv. estándar			3.12
CV			1.36%

El cuadro 17 muestra los 20 resultados obtenidos en la evaluación interserial de la precisión del método para la determinación de triglicéridos, además del resultado de la media aritmética de las repeticiones, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

5.4. Evaluación de la veracidad del método.

5.4.1. Glucosa

El Cuadro 18 muestra los resultados de las 10 determinaciones de glucosa realizadas al material de referencia certificado, incluye el resultado del cálculo de la media

aritmética de las repeticiones y el dato proporcionado por el CENAM como la concentración verdadera del analito en el material de referencia, además muestra el resultado del porcentaje de error relativo y porcentaje de recuperación calculados a partir de los dos datos anteriores.

Cuadro 17. Resultados de la evaluación interserial de la precisión del método para la determinación de triglicéridos.

Control de calidad interno			
Fecha	Resultado mg/dL	Fecha	Resultado mg/dL
28-ago	110.1	10-sep	111.3
29-ago	108.8	11-sep	110.6
31-ago	108.6	12-sep	110.2
01-sep	111.3	14-sep	111.5
03-sep	109.1	15-sep	111.1
04-sep	110.7	17-sep	109.9
05-sep	109.9	18-sep	111.1
07-sep	104.6	19-sep	112.4
08-sep	126.9	28-sep	113.8
09-sep	108.7	30-sep	115.3
Media			111.3
Desv. Estándar			4.26
CV			3.83%

En la Figura 8 se muestra el gráfico de decisión del método correspondiente al utilizado para la determinación de glucosa, el punto operativo está ubicado en las coordenadas correspondientes al porcentaje de error obtenido en la evaluación de la veracidad frente al coeficiente de variación obtenido en la evaluación intraserial de la precisión.

5.4.2. Colesterol

El Cuadro 19 muestra los resultados de las 10 determinaciones de colesterol realizadas al material de referencia certificado, incluye el resultado del cálculo de la media aritmética de las repeticiones y el dato proporcionado por el CENAM como la

concentración verdadera del analito en el material de referencia, además muestra el resultado del porcentaje de error relativo y porcentaje de recuperación calculados a partir de los dos datos anteriores.

Cuadro 18. Resultados de la evaluación de la veracidad del método para la determinación de glucosa.

Veracidad	
Repetición	Resultado mg/dL
1	41
2	42
3	41
4	41
5	41
6	41
7	42
8	42
9	42
10	43
Media	41.6
Valor verdadero	41.9
Porcentaje de recuperación	99.3%
Error relativo	0.72%

En la Figura 9 se muestra el gráfico de decisión del método correspondiente al utilizado para la determinación de colesterol, el punto operativo está ubicado en las coordenadas correspondientes al porcentaje de error obtenido en la evaluación de la veracidad frente al coeficiente de variación obtenido en la evaluación intraserial de la precisión.

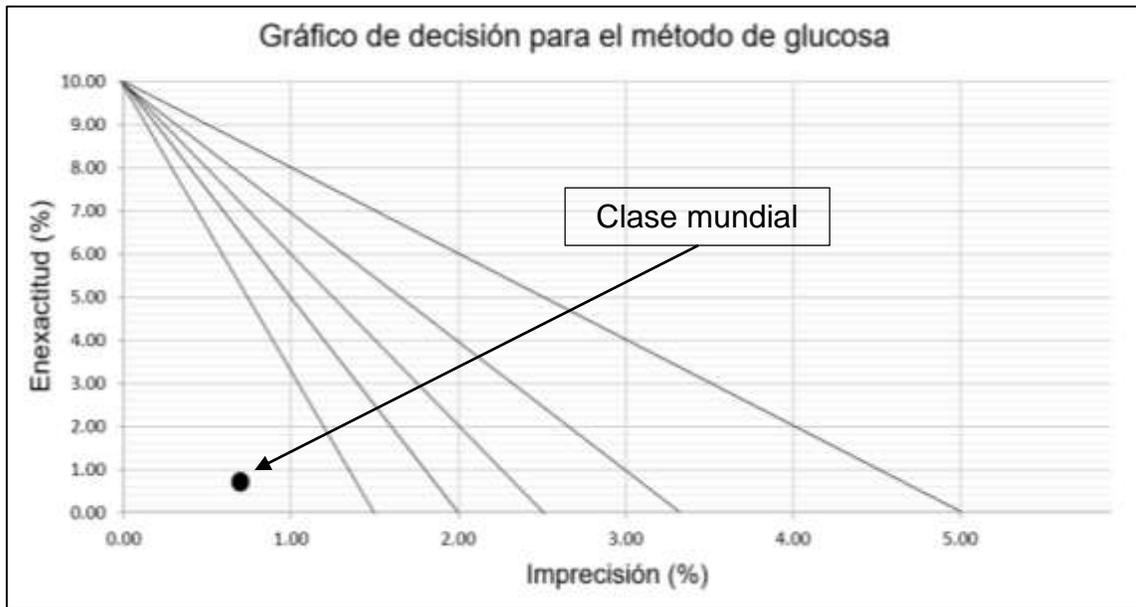


Figura 8. Gráfico de decisión del método para la determinación de glucosa.

Cuadro 19. Resultados de la evaluación de la veracidad del método para la determinación de colesterol.

Veracidad	
Repetición	Resultado mg/dL
1	126
2	124
3	126
4	126
5	126
6	126
7	123
8	126
9	123
10	129
Media	125.5
Valor verdadero	161.1
Porcentaje de recuperación	77.9%
Error relativo	22.10%

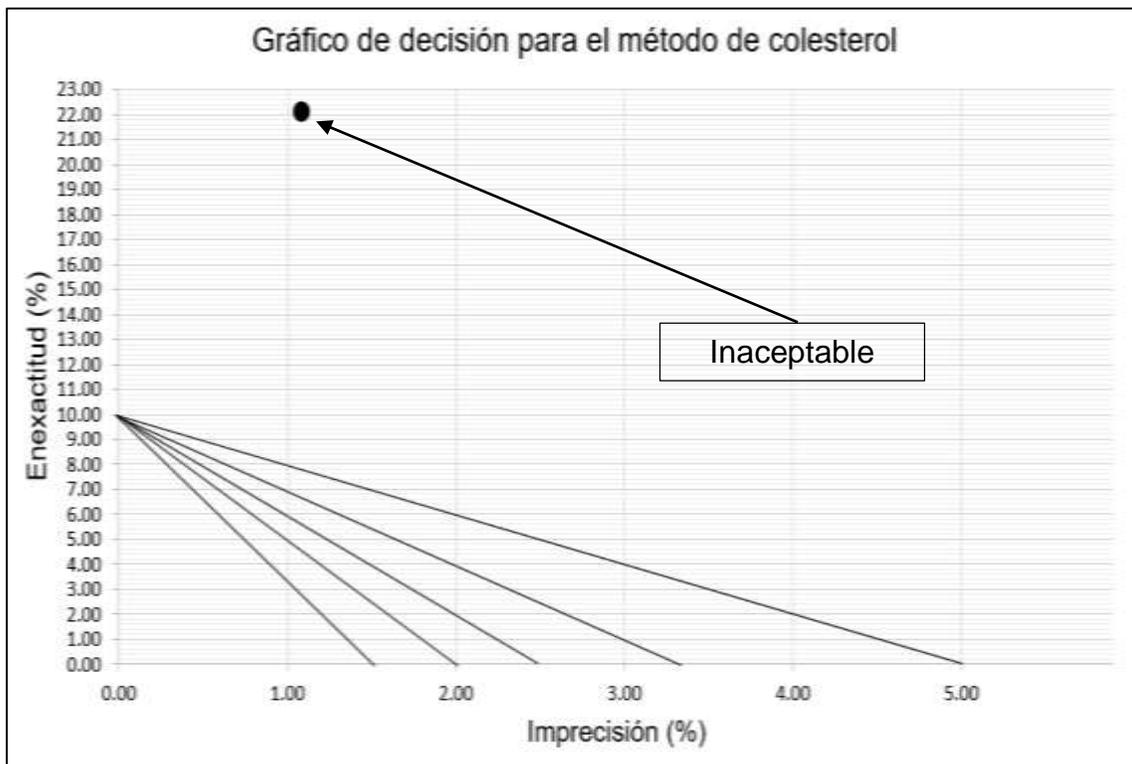


Figura 9. Gráfico de decisión del método para la determinación de colesterol.

5.4.3. Triglicéridos

El Cuadro 20 muestra los resultados de las 10 determinaciones de triglicéridos realizadas al calibrador nivel 3 del kit 2 marca Vitros, incluye el resultado del cálculo de la media aritmética de las repeticiones y el dato considerado como la concentración verdadera del analito en el calibrador proporcionado por el fabricante en su certificado de trazabilidad, además muestra el resultado del porcentaje de error relativo y porcentaje de recuperación calculados a partir de los dos datos anteriores.

En la Figura 10 se muestra el gráfico de decisión del método correspondiente al utilizado para la determinación de triglicéridos, el punto operativo está ubicado en las coordenadas correspondientes al porcentaje de error obtenido en la evaluación de la veracidad frente al coeficiente de variación obtenido en la evaluación intraserial de la precisión.

Cuadro 20. Resultados de la evaluación de la veracidad del método para la determinación de triglicéridos.

Veracidad	
Repetición	Resultado mg/dL
1	225
2	226
3	224
4	225
5	226
6	226
7	225
8	230
9	228
10	228
Media	226.3
Valor verdadero	210
Porcentaje de recuperación	107.8%
Error relativo	7.76%



Figura 10. Gráfico de decisión del método para la determinación de triglicéridos.

5.5. Evaluación de la incertidumbre.

Para realizar el cálculo de la incertidumbre expandida de los tres métodos se tomaron en cuenta dos componentes: la incertidumbre de medición del valor del calibrador y la precisión interdiaria de cada método.

5.5.1. Glucosa

El cuadro 21 muestra los resultados del control de calidad interno del laboratorio, obtenidos en el periodo del 28 de agosto al 28 de septiembre del 2015, para la obtención de la precisión interdiaria del método para la determinación de glucosa.

Cuadro 21. Resultados del control de calidad interno (nivel 2) del periodo del 28 de agosto al 28 de septiembre del 2015, para la obtención de la precisión interdiaria del método de determinación de glucosa.

Control de calidad interno			
Fecha	Resultado mg/dL	Fecha	Resultado mg/dL
28-ago	285.9	10-sep	289
29-ago	280.7	11-sep	293.4
31-ago	286.1	12-sep	297.5
01-sep	286.7	14-sep	302
03-sep	287.4	15-sep	289.1
04-sep	284	17-sep	300.2
05-sep	282.5	18-sep	301.9
07-sep	284.2	19-sep	297.4
08-sep	279.4	28-sep	281.3
09-sep	286.7	30-sep	290
Media			289.27
Desv. Estándar			7.12
CV			2.46%

Los datos de la incertidumbre de la medición del valor del calibrador proporcionados por el fabricante son los siguientes: Calibrador kit 1 vial 2: 297.44 ± 4.88 mg/dL (equivalente a una incertidumbre típica relativa del 0.82% con un nivel de confianza del 95%).

Aplicando la fórmula del error cuadrático medio obtenemos la incertidumbre estándar combinada. La incertidumbre expandida (atribuible a cada medición realizada durante ese periodo de calibración) con un nivel de confianza del 95%, se obtiene al multiplicar el resultado anterior por el factor de cobertura igual a 2.

$$\sqrt{(0.82)^2+(2.46)^2} = (2.59\%) \times (2) = \pm 5.18\%$$

5.5.2. Colesterol

El cuadro 22 muestra los resultados del control de calidad interno del laboratorio, obtenidos en el periodo del 28 de agosto al 28 de septiembre del 2015, para la obtención de la precisión interdiaria del método para la determinación de colesterol.

Cuadro 22. Resultados del control de calidad interno (nivel 2) del periodo del 28 de agosto al 30 de septiembre del 2015 para la obtención de la precisión interdiaria del método de determinación de colesterol.

Control de calidad interno			
Fecha	Resultado mg/dL	Fecha	Resultado mg/dL
28-ago	224	10-sep	219
29-ago	220	11-sep	223
31-ago	221	12-sep	227
01-sep	218	14-sep	222
03-sep	221	15-sep	222
04-sep	226	17-sep	219
05-sep	213	18-sep	226
07-sep	213	19-sep	232
08-sep	217	28-sep	221
09-sep	217	30-sep	226
Media			221.35
Desv. Estándar			4.72
CV			2.13%

Los datos de la incertidumbre de la medición del valor del calibrador proporcionados por el fabricante son los siguientes: Calibrador kit 2 vial 2: 176.45 ± 4.32mg/dL (equivalente a una incertidumbre típica relativa del 1.22% con un nivel de confianza del 95%).

Aplicando la fórmula del error cuadrático medio obtenemos la incertidumbre estándar combinada. La incertidumbre expandida (atribuible a cada medición realizada durante ese periodo de calibración) con un nivel de confianza del 95%, se obtiene al multiplicar el resultado anterior por el factor de cobertura igual a 2.

$$\sqrt{(1.22)^2+(2.13)^2} = (2.45\%) \times (2) = \pm 4.9\%$$

5.5.3. Triglicéridos

El cuadro 23 muestra los resultados del control de calidad interno del periodo del 28 de agosto al 30 de septiembre del 2015, para la obtención de la precisión interdiaria del método para la determinación de triglicéridos.

Los datos de la incertidumbre de la medición del valor del calibrador proporcionados por el fabricante son los siguientes: Calibrador kit 2 vial 3: 206.43 ± 6.20mg/dL (equivalente a una incertidumbre típica relativa del 1.5% con un nivel de confianza del 95%).

Aplicando la fórmula del error cuadrático medio obtenemos la incertidumbre estándar combinada. La incertidumbre expandida (atribuible a cada medición realizada durante ese periodo de calibración) con un nivel de confianza del 95%, se obtiene al multiplicar el resultado anterior por el factor de cobertura igual a 2.

$$\sqrt{(1.5)^2+(0.74)^2} = (1.67\%) \times (2) = \pm 3.34\%$$

Cuadro 23. Resultados del control de calidad interno (nivel 2) para la obtención de la precisión interdiaria del método para la determinación de triglicéridos.

Control de calidad interno			
Fecha	Resultado mg/dL	Fecha	Resultado mg/dL
28-ago	237.1	10-sep	236.3
29-ago	238.5	11-sep	236.2
31-ago	236.4	12-sep	237.3
01-sep	236.3	14-sep	238.7
03-sep	237.1	15-sep	239.2
04-sep	238.8	17-sep	235.3
05-sep	238.9	18-sep	239
07-sep	238.2	19-sep	237.9
08-sep	238.3	28-sep	240.8
09-sep	233.9	30-sep	241.2
Media			237.77
Desv. Estándar			1.77
CV			0.74%

El Cuadro 24 muestra en resumen los resultados de la evaluación de los parámetros de verificación de los métodos de química seca para la determinación de glucosa, colesterol y triglicéridos.

Cuadro 24. Resultados de la evaluación de los parámetros de verificación de los métodos de química seca para las determinaciones de glucosa, colesterol y triglicéridos.

	Evaluación de los parámetros de verificación del método de química seca				
	Linealidad	Intervalo reportable (mg/dL)	Precisión	Veracidad	Incertidumbre expandida
Glucosa Clase mundial	R=0.9982 Lineal	35 - 600	Imprecisión <2.5% Preciso	% error: 0.72%	±5.18%
Colesterol Inaceptable	R=0.9995 Lineal	60 - 343.5	Imprecisión <2.5% Preciso	% error: 22.1%	±4.90%
Triglicéridos Clase mundial	R=0.9991 Lineal	35 - 500	Imprecisión <3.3% Preciso	% error: 7.76%	±3.34%

6. DISCUSIÓN

Actualmente en México el único requisito que necesita cumplir un laboratorio de análisis clínicos para funcionar es solicitar su registro ante la Secretaría de Salud y cumplir con los lineamientos establecidos en la NOM-007-SSA3-2011, Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos; y aunque dicha norma hace énfasis en el aseguramiento de la calidad de los resultados exigiendo que se implementen programas de control de calidad interno y externo de manera imperativa, el cumplimiento de sus decretos depende del compromiso del responsable de cada laboratorio hacia la calidad de los resultados que emite, esto se debe a que en la mayoría de los casos no se vigila el cumplimiento de la norma obligatoria, lo que genera la posibilidad de que existan laboratorios clínicos que brinden sus servicios al público sin tener conocimiento del grado de competencia técnica de los métodos que utilizan, lo que se ve reflejado directamente sobre el resultado que se le da a un paciente en base al cual el medico tomará la decisión de un diagnóstico y tratamiento. Lo anterior no se debe atribuir únicamente a la posible falta de ética o conocimientos que pudieran presentar los profesionales clínicos, sino también a la falta de recursos que puede estar relacionada con el poco compromiso de los administradores que ven al laboratorio solo como un negocio; aunado a esto hay que considerar que por cuestiones culturales en México la calidad se ha considerado como un lujo y se ha abusado de su uso solo como una estrategia de marketing (Arellano-Gajón, 2008; Vargas-Morales y col., 2010).

Afortunadamente en los últimos años ese enfoque ha empezado a cambiar, los laboratorios clínicos se preocupan cada vez más por otorgar confianza en los resultados que reportan y se está desarrollando una tendencia muy fuerte hacia la búsqueda de la acreditación de todas sus actividades. Desde el 2005 la EMA ha otorgado la acreditación bajo la norma NMX-EC-15189-IMNC (homologa a la norma ISO 15189) y en la actualidad se ha logrado acreditar a 81 laboratorios clínicos y 4 bancos de sangre en el país. Cuando se compara este monto con los más de 12mil laboratorios clínicos que se tienen registrados en México, es notorio que aún queda mucho camino por recorrer, pero hay que tomar en cuenta que lograr la acreditación

de un laboratorio no es una tarea sencilla e involucra una inversión de tiempo y dinero considerable. No obstante un laboratorio clínico puede iniciar su camino hacia la mejora continua evaluando los parámetros de verificación de sus métodos de análisis, de la misma forma que se evalúan para realizar un proceso de acreditación basándose en las guías que la EMA, el CENAM y otros autores han desarrollado para este fin (EMA, 2014).

Evaluar los parámetros de verificación de los métodos de análisis de un laboratorio clínico es sumamente importante debido a que los resultados obtenidos reflejan la capacidad del método en cuestión para ser usado en la rutina de ese laboratorio, y ya que las determinaciones de glucosa, colesterol y triglicéridos en suero sanguíneo son algunos de los estudios que se solicitan con más frecuencia, realizar la evaluación de las metodologías que se emplean en esas determinaciones se vuelve una tarea prácticamente obligatoria, que beneficia no solo al personal del laboratorio, sino sobre todo a la comunidad usuaria de sus servicios (Guglielmone y col., 2011).

Como primer paso se desarrolló un análisis de las condiciones funcionales del laboratorio, previo a la evaluación de los parámetros de verificación, el cual se basó en los requisitos establecidos por el fabricante para obtener un óptimo rendimiento del equipo, gracias a esta evaluación se pudieron identificar ciertas circunstancias que podrían tener una repercusión negativa en los resultados posteriores, entre las áreas de oportunidad identificadas se encontró que el equipo no estaba conectado a un regulador de corriente eléctrica, por lo que no era posible mantener la estabilidad constante del voltaje suministrado al instrumento, lo cual es de vital importancia sobre todo en el área donde se realiza la medición debido a que un cambio en la intensidad de la luz emitida genera alteraciones críticas sobre el resultado, el uso de un regulador eléctrico también disminuye los daños en los circuitos provocados por descargas eléctricas espontáneas, alargando la vida útil del equipo.

Adicionalmente se detectó que el laboratorio clínico evaluado no cuenta con un sistema regulador de temperatura y humedad por lo que estas condiciones están en

constante cambio a lo largo de la jornada de trabajo, la regulación de estos dos factores ambientales es importante debido a que afectan directamente el rendimiento del equipo que está programado para trabajar bajo ciertas condiciones. El fabricante indica un rango de temperatura de operación entre 15°C y 30°C, al observar el registro de temperaturas en un día normal de trabajo se observa que aproximadamente alrededor de las 13:00 horas se supera la temperatura permitida y ya no es posible operar el instrumento de manera normal, por lo que todas las determinaciones del área de química clínica deben realizarse por la mañana para evitar problemas de sobrecalentamiento del instrumento y prevenir de esta manera que la temperatura externa supere la capacidad del equipo para regular su temperatura interna principalmente en las áreas de incubación y almacenamiento de las laminillas reactivas. De la misma forma, al no tener un adecuado control, la variación de los niveles de humedad del laboratorio podría superar la capacidad del analizador para regular su humedad interna, con lo que además de generar un costo extra por la compra de desecantes y humidificadores, el aumento de la humedad puede generar un desgaste en los componentes metálicos del analizador y disminuir el periodo de estabilidad de los reactivos contenidos en las laminillas (Ortho Clinical Diagnostics, 2004).

Otro factor a considerar es que el laboratorio no contaba personal que se dedicara exclusivamente al uso del analizador y en ocasiones tenían acceso al él personas que no estaban lo suficientemente capacitadas para su uso, por lo que no era posible mantener un adecuado registro de errores y control de cambios sobre el analizador. Al finalizar el análisis preliminar se logró corregir estos factores, se compró e instaló un regulador de corriente eléctrica y se capacitó a personal designado para el uso correcto del instrumento, además se delimitó un horario para realizar las determinaciones del área y así evitar errores por efecto de la temperatura.

Una vez optimizadas las condiciones del laboratorio se procedió a realizar la evaluación de la linealidad de los métodos para la cuantificación de glucosa, colesterol y triglicéridos. Según los resultados obtenidos y realizando una

comparación de los mismos contra el criterio de aceptación que emite la EMA en su guía para la validación y verificación de métodos analíticos en el laboratorio clínico, el cual indica que el valor del coeficiente de correlación obtenido de la evaluación de la linealidad de un método debe ser mayor o igual a 0.9900, y en base al porcentaje de error total permitido por CLIA para la determinación de cada analito (glucosa 10%, colesterol 10% y triglicéridos 25%), es posible declarar lo siguiente: Los métodos de química seca son lineales en un intervalo de 35 a 600mg/dL para la determinación de glucosa, de 60 a 343.5mg/dL para colesterol y de 35 a 500mg/dL para triglicéridos, bajo las condiciones de trabajo del laboratorio clínico evaluado. Debido a que el porcentaje de error (10.28%) obtenido en el último nivel de concentración (450mg/dL) de la evaluación de colesterol supera el porcentaje de error total permitido para este analito, no se puede considerar como parte del intervalo reportable, sin embargo los cuatro niveles de concentración restantes son suficientes para realizar la evaluación. Los intervalos reportables de los métodos para la determinación de los tres analitos son amplios e incluyen los niveles normales de referencia y los niveles de decisión clínica, además son muy similares a los reportados por el fabricante (20 a 625mg/dL para glucosa, 50 a 325 para colesterol y 10 a 525mg/dL para triglicéridos) (CENAM, 2008).

El siguiente parámetro que se evaluó fue la precisión de los métodos analíticos para la determinación de cada analito. Los criterios de aceptación para la precisión de un método según la EMA estipulan que el porcentaje de error obtenido debe ser menor o igual a un cuarto del error total permitido por CLIA para la evaluación intraserial (consecutiva en un solo día) y menor o igual a un tercio del error total permitido para la evaluación interserial (en días consecutivos). De acuerdo con lo anterior el coeficiente de variación obtenido de la evaluación de la precisión de los métodos para la determinación de glucosa y colesterol deberían ser menor a 2.5% (intraserial) y 3.33% (interserial); mientras que para triglicéridos los criterios a aplicar son 6.25% (intraserial) y 8.33% (interserial) (CENAM, 2008).

Ya que ninguno de los resultados obtenidos en la evaluación de la precisión de los tres métodos es mayor a sus respectivos criterios de aceptación, tanto de la precisión intraserial como de la interserial, se puede aceptar que los métodos para la determinación de glucosa, colesterol y triglicéridos son precisos bajo las condiciones de trabajo del laboratorio clínico evaluado.

Para realizar la evaluación de la veracidad de los métodos estudiados se decidió optar por el método de valoración de un material de referencia debido a que es más rápido a diferencia del método que requiere de la participación en un programa de comparación entre laboratorios (el cual requiere 6 meses de participación), e involucra cálculos más sencillos respecto a la comparación con un método de referencia además de que no requiere de la intervención de otro laboratorio para realizar la evaluación; también hay que mencionar que un material de referencia realmente tiene un valor determinado del analito en la muestra y no se maneja solo como una comparación entre varios resultados (Gella-Tomás y col., 2010).

Para el caso de glucosa y colesterol se utilizó un material de referencia certificado suministrado por el CENAM, mientras que para el caso de triglicéridos se evaluó un calibrador con trazabilidad hacia el material de referencia SRM 1951 certificado por el Instituto Nacional de Patrones y Tecnología (NIST) debido a que el material de referencia del CENAM no indicaba un valor para triglicéridos. De acuerdo con los criterios establecidos por la Comisión de Metrología y Sistemas Analíticos de la SEQC, un error sistemático (asociado a la veracidad del método) es aceptable y puede ser despreciado cuando es inferior o igual a una quinta parte del error total permitido. Según esto el criterio a aplicar para glucosa y colesterol es un porcentaje de error menor o igual a 2% y para triglicéridos menor o igual a 5% (Gella-Tomás y col., 2010).

Al comparar los resultados obtenidos con sus respectivos criterios solamente el método para la determinación de glucosa superó la prueba de veracidad, ya que los resultados de la evaluación de los métodos para colesterol y triglicéridos son de

22.1% y 7.76% respectivamente, ambos mayores a sus criterios de aceptación. Sin embargo la evaluación del error total que involucra el efecto del error aleatorio (precisión) y del error sistemático (veracidad) es lo que nos indica realmente el grado de competencia técnica de los métodos evaluados. Al observar los gráficos de decisión del método de glucosa y triglicéridos se observa que el punto operativo (correspondiente a sus respectivos resultados de precisión y veracidad) se encuentra en el área de métodos de “Clase mundial” lo que señala que ambos métodos son aptos para su uso en la rutina del laboratorio bajo sus propias condiciones de operación, no obstante el punto operativo del método para la determinación de colesterol se encuentra en el área de los métodos “Inaceptables”.

Los métodos de glucosa y triglicéridos implementados por el laboratorio clínico evaluado proveen una calidad analítica de clase mundial y se pueden aplicar y controlar fácilmente usando 2 controles por cada corrida analítica y aplicando límites de ± 3.5 desviaciones estándar en sus gráficos de control, mientras que el método de colesterol, bajo las condiciones del laboratorio, no otorga la calidad necesaria para cumplir con los requisitos que le permitan mostrar un desempeño aceptable incluso si se está trabajando perfectamente, la calidad analítica del método de colesterol se podría comparar con los métodos de tamizaje encontrados en farmacias y supermercados (Westgard, 2013).

El porcentaje de error tan grande obtenido en la evaluación de la veracidad del método para la determinación de colesterol es lo que provoca que su punto operativo se sitúe en dicha posición, esta desviación puede atribuirse a situaciones como: una calibración deficiente o la degradación de los reactivos en las laminillas de reacción y en segunda instancia podría estar involucrado el propio sistema del analizador a nivel de lectura e interpretación de la información correspondiente a la determinación de colesterol.

Por último se realizó la estimación de la incertidumbre de los métodos en base a los únicos dos componentes que combinados son los causantes de la incertidumbre en

la medición (debido a que se trata de un analizador automático con sistema cerrado) los cuales son la incertidumbre propia del calibrador (componente tipo A) y la imprecisión interdiaria de las mediciones (componente tipo B), en base a esto se calculó la incertidumbre expandida obteniendo los siguientes resultados para los métodos estudiados: glucosa $\pm 5.18\%$, colesterol $\pm 4.9\%$ y triglicéridos $\pm 3.34\%$. Los resultados de la incertidumbre para cada método se calcularon en porcentaje con la finalidad de poder aplicar dichos factores a todos los resultados obtenidos con el instrumento en el periodo de calibración concordante con los datos de la precisión interdiaria que se utilizaron para el cálculo, cada resultado refleja un intervalo, alrededor del valor reportado, en el cual se encuentra el resultado verdadero atribuido al analito. Debido a que el método para la determinación de colesterol resultó ser inaceptable, el resultado obtenido de su incertidumbre no puede ser aplicada los resultados producidos hasta que se mejoren sus condiciones de veracidad para que sean representativos (Pérez-Castorena y col., 2002).

Para finalizar, el análisis de los resultados obtenidos le permitirá al laboratorio clínico evaluado darse cuenta de la situación actual de los métodos que está empleando para reportar resultados a sus pacientes, y tomar las medidas correctivas necesarias para mejorar la calidad analítica de sus resultados; esta mejora no solo beneficiará a sus pacientes al obtener resultados más confiables, también guiará al laboratorio en la dirección correcta para realizar los procesos de verificación y acreditación de sus metodologías ante las entidades correspondientes, permitiéndole así participar activamente en un nivel más estricto de intercambio de servicios que se está exigiendo en el mercado globalizado.

7. CONCLUSIONES

Se realizó la evaluación de los parámetros de verificación de los métodos de química seca para la determinación de glucosa, colesterol y triglicéridos en suero sanguíneo bajo las condiciones de trabajo del laboratorio clínico evaluado. Los resultados obtenidos permiten concluir lo siguiente:

El método para la determinación de glucosa resultó ser lineal en un intervalo aceptable de 35 a 600mg/dL, es preciso y veraz y la incertidumbre asociada a las mediciones que se realizan con este método es de $\pm 5.18\%$ sobre el resultado obtenido. La calidad de los resultados que se emiten con este método es de “clase mundial” por lo que tiene un desempeño analítico aceptable.

El método para la determinación de colesterol resultó ser lineal en un intervalo aceptable de 60 a 343.5mg/dL, es preciso pero no veraz bajo las condiciones de trabajo del laboratorio en que se realizaron las mediciones, y al no obtener un grado aceptable de veracidad, la incertidumbre expandida calculada para este método no es aplicable a los resultados obtenidos, el método resultó tener un desempeño analítico inaceptable por lo que hay que trabajar en mejorar su veracidad.

El método para la determinación de triglicéridos resultó ser lineal en un intervalo de 35 a 500mg/dL, es preciso pero no veraz, sin embargo el efecto combinado del error sistemático y aleatorio indica que su calidad analítica es de “clase mundial” por lo que su desempeño es aceptable, y tiene una incertidumbre asociada a los resultados de 3.34%.

Es necesario tomar medidas para mejorar la competencia técnica del método para la determinación de colesterol antes de seguir usándolo para reportar resultados a los usuarios del laboratorio, y se debe vigilar el desempeño de los métodos para la cuantificación de glucosa y triglicéridos con la finalidad de mantener y si es posible mejorar su rendimiento analítico. Adicionalmente es recomendable que el laboratorio evaluado comience a registrar los resultados de sus controles en gráficas de Levey

Jennings para realizar el análisis del comportamiento de todos sus métodos y comenzar a mejorar su desempeño aplicando metas analíticas cada vez más estrictas, todo esto le permitirá al laboratorio desarrollar un plan estratégico de control de calidad e incluso lo colocará en la vía correcta para obtener su acreditación.

8. REFERENCIAS

Arellano-Gajón M. Sistema de Gestión de Calidad para el Laboratorio Clínico de Urgencias del Hospital “Dr. Rafael Lucio” CEMEV. Veracruz, Universidad Veracruzana. **2008**.

Austenfeld RB. W. Edwards Deming: The story of a truly remarkable person. Research Society of Commerce and Economics. **2001**;42:49-102.

Baptista-González HA, Santamaría-Hernández MC, Martínez-Reyes CS, Muñoz-Carmona M. Validación y verificación de métodos de laboratorio aplicados al Banco de Sangre. Asociación Mexicana de Medicina Transfusional, A.C. **2009**; 2: 20-29.

Barba-Evia JR. Contribución del laboratorio clínico en la seguridad del paciente. Latinoam Patol Clin Med Lab. **2014**;61:11-23.

Brambila E. Validación y verificación de sistemas de medición en el laboratorio clínico. Bioquímica. **2009**;34:53.

Bustelo-Ruesta C. La normalización internacional en información y documentación: ¿una historia de éxitos? El caso de la normalización ISO en gestión de documentos. MEI. **2011**;3:39-46.

Camaró-Sala ML, Catalá-Cuenca V, Gimeno-Cardona C, Martínez-García R, Olmos-Martínez P. Validación y verificación analítica de los métodos microbiológicos. España: Seimc, **2013**:2-11.

Campuzano-Maya G. Valores críticos en el laboratorio clínico: de la teoría a la práctica. Medicina & Laboratorio, **2011**;17:331-350.

Cáñez-Carrasco MG, García-Alegría AM. Validación de un método analítico para la determinación de fósforo por espectrofotometría ultravioleta-visible. Biotecnía. **2015**;17:32-39.

Carbajales-León AI, Rodríguez-Socarrás I, Morejón-Campa M. Primeros pasos para la implementación de un sistema de gestión de la calidad en los laboratorios clínicos de Camagüey. AMC. **2010**;14:1-11.

Centro Nacional de Metrología. **CENAM**. Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico. México. **2008**: 6-33.

Chávez-Almazán LA, López-Silva S, Barlandas-Rendón E, Armenta-Solís A. Evaluación del desempeño analítico del equipo hematológico Medonic CA 530 Thor. *Bioquímica*. **2009**;34:69-76.

Cubillos-Rodríguez MC, Rozo-Rodríguez D. El concepto de calidad: historia, evolución e importancia para la competitividad. *Rev Universidad de la Salle*. **2009**;48:80-99.

Entidad Mexicana de Acreditación, **EMA**. ¿Qué es ema? [Serie en internet]. **2014**. [consultado 2014 noviembre 16]. Disponible en: <http://www.ema.org.mx/portal/index.php/Ema/ema.html>.

Flores-Larsen MHS, Altamirano M, Saravia MGL. Estudio de reflectancia de espejos para un concentrador solar Fresnel lineal. *Rev Avances en energías renovables y medio ambiente*. **2011**;15:191-197.

García-Solís E, Terrés-Speziale AM. Bioética y calidad en el laboratorio clínico. *Latinoam Patol Clin Med Lab*. **2013**;60:259-262.

Gella-Tomás FJ, Alonso-Nieva N, Boned-Juliani B, Canalias-Reverter BF, Esteve-Poblador S, Izquierdo-Álvarez S, López-Martínez R, Macías-Blanco C, Rigo-Bonnin R, Serrat-Orús N. Validación analítica de los procedimientos de medida del laboratorio clínico. España: Documentos de la SEQC, **2013**: 70-75.

Gella-Tomás FJ, Canalias-Reverter F, Izquierdo-Alvarez S, Martínez-Morillo E, Sánchez-Manrique M. Recomendaciones para el estudio de la veracidad de los procedimientos de medida en el laboratorio clínico mediante la utilización de materiales de referencia. Documentos de la SEQC. **2010**: 2-6.

Guerrero-Vega VA. Evaluación de la química sanguínea básica mediante la utilización de un programa de control de calidad interno en el laboratorio clínico San Gabriel. Chile: Universidad técnica de Ambato, **2014**:13-39.

Guglielmone R, Elías R, Kiener O, Collino C, Barzón S. Verificación de métodos en un laboratorio acreditado y planificación del control de calidad interno. *Acta Bioquím Clín Latinoam*. **2011**;45:335-347.

Hernández-Tamayo M, Miguel-Soca PE, Marrero-Hidalgo MM, Pérez-López LM, Peña-Pérez I, Rivas-Estévez M. Comportamiento de variables clínicas,

antropométricas y de laboratorio en pacientes con síndrome metabólico. *Medisur*. **2011**;9:102-109.

Instituto Mexicano de Normalización y Certificación (**IMNC**). Declaratoria de vigencia de las normas mexicanas NMX-EC-15189-IMNC-2008 y NMX-EC-15195-IMNC-2008. México: Diario Oficial de la Federación, **2009**.

James RE, William ML. Administración y control de calidad. 7a. edición. México: Cengage learning, **2008**: 129-133.

Justiz-Lugo J. El progreso científico técnico y su repercusión en la calidad de los laboratorios clínicos. *Medwave*. **2010**;4:1-6.

López-Maldonado JA, Crovetto-Mattassi MM. Kaoru Ishikawa. Chile: Universidad de Playa Ancha, **2011**.

López-Silva S. Acreditación y Certificación de laboratorios clínicos: Situación actual y perspectivas. *Bioquimia*. **2000**;25:43-44.

March-Pujol M, Travé-Mercadé P. Manual de estancias en prácticas tuteladas. Barcelona: Ediciones de la Universidad de Barcelona, **2012**: 187.

Molero T, Panunzio A, Cruz S, Núñez M, Zambrano M, Parra I, Sánchez J. Gestión de la calidad de atención en laboratorios clínicos de hospitales públicos en Maracaibo, Venezuela. *Rev Salud pública*. **2010**;12:658-668.

Moran-Villatoro L. Obtención de muestras sanguíneas de calidad analítica. Mejoría continúa de la etapa preanalítica. México, D.F.: Editorial Médica Panamericana, **2001**: 18-28.

Navarro-Álvarez B, Latorre-García M. Acreditación y certificación en sistemas de calidad, para apoyo a la docencia y la investigación. *Revista Odontológica Mexicana*. **2006**;10:190-192.

Ochoa-Rico MA, Reyes-Maldonado E, Rosenfeld-Mann F, Gaminio-Gómez E, Moreno-Hernández M, Ramírez-Pérez S, Luna-Gaspar AR, Magaña-Pérez JA, Méndez-Tovar MS, Martínez-Murillo C. Programa de Evaluación Externa de la Calidad en Hemostasia. Una Propuesta Para México. *Revista de Hemostasia y Trombosis*. **2008**;2:115-120.

Ortho Clinical Diagnostics. Guía rápida de usuario del analizador Vitros 250. Johnson and Johnson Company, **2004**:2-81.

Padilla-Bastidas JE. Diseño de un manual de calidad basado en la norma ISO 15189 para el laboratorio clínico del hospital cantonal de Colta Dr. Publio Escobar. Ecuador: Escuela superior politécnica de Chimborazo, **2014**:1-25.

Perdomo-Morales AJ, Rodríguez-López J, Fernández-Álvarez F, Rodríguez-Mambuca R, Torres-Ponce B, Casanova-Cabezas CE, Borges-Gómez Y. Incertidumbre de la medición, repetibilidad y reproductibilidad interna en el laboratorio de ensayos y calibraciones azucareras (Leycaz) durante el quinquenio 2002-2006. INIMET. **2007**;1:18-25.

Pérez-Castorena A, Guevara-Hernández A. Calculo de la incertidumbre asociada al resultado de la medición de glucosa. Bioquímica. **2002**;27:32-40.

Prada-Quesada FJ. Diseño, implantación, procedimientos operativos y gestión de un laboratorio de análisis clínicos con capacidad para procesar 1000 muestras/día. Sevilla: Escuela superior de ingenieros de Sevilla, **2010**:68-79.

Quam EF. The linearity or reportable range experiment [Serie en internet]. **2009**. [consultado 2015 octubre 08]. Disponible en: <https://www.westgard.com/lesson26.htm>

Ramírez G, Gallardo T, Cansino N. Percepción de los profesores de educación física sobre la actividad física en los alumnos con necesidades educativas especiales. Talca: Colegio San Jorge Talca, **2015**:32.

Rosales I, Poutou R, Arias J. Validación de métodos analíticos empleados en el control de calidad de productos biotecnológicos. Rev Colombiana de Biotecnología. **2012**;14:73-75.

Ruiz-Limón R. Historia y evolución del pensamiento científico. Sinaloa, México. **2006**: 128.

Sandoval-Vegas MH, Barrón-Pastor HJ, Loli-Ponce RA, Salazar-Criado YV. Precisión en la determinación de glucosa, colesterol y triglicéridos séricos, en laboratorios clínicos de Lima, Perú. An Fac med. **2012**;73:233-238.

Sanz-González S. Química seca [Serie en internet]. **2014**. [consultado 2015 octubre 10]. Disponible en: <https://prezi.com/eh9q8rnohx3u/untitled-prezi/>

Schmid WA. La incertidumbre expandida y los grados de libertad: un análisis comparativo entre el método recomendado por la GUM y métodos simplificados. CENAM. **2002**:1-5.

Secretaría de Economía. Catalogo mexicano de normas [Serie en internet]. **2015**. [consultado 2015 octubre 07]. Disponible en: <http://www.economia.gob.mx/comunidad-negocios/competitividad-normatividad/normalizacion/catalogo-mexicano-de-normas>.

Secretaría de salud. Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA3-2011, Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos. México: Diario Oficial de la Federación, **2012**.

Suardiáez J, Cruz C, Colina A. Laboratorio clínico. La Habana: Editorial Ciencias Médicas, **2004**: 44-55.

Suarez R, Arévalo E, Linares L, Ustáriz F, Hernández G. Validación de un método analítico para la determinación de magnesio eritrocitario. Avances en Química. **2009**;4:53-62.

Terrés-Speziale AM. Clínica y Laboratorio. Medigraphic. **2001**;38:313-321.

Terrés-Speziale AM. La acreditación del Laboratorio clínico. Declaración de Política. Revista Mexicana de Patología Clínica. **2006**; 53(3): 174-177.

Terrés-Speziale AM. Mejorar la calidad al nivel Six Sigma integrando los resultados de la evaluación externa con los del programa interno aplicando el método QQCDC. Rev Mex Patol Clin. **2010**;57:110-121.

Vargas-Morales JM, Cano-Escalante JJ, Fragoso-Morales LE. Impacto del programa de evaluación externa de la calidad en química clínica en México de 2004 a 2008. ActaBioquím Clín Latinoam. **2010**;44:347-352.

Velázquez-Salgado R. Manual de prácticas de bioquímica clínica. México, D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México, **2009**: 73-84.

VITROS. Instrucciones de uso slides vitros chol dt de bioquímica. Publicación. C-304_ES, Versión 5.0. **2012**.

VITROS. Instrucciones de uso slides vitros glu dt de bioquímica. Publicación. C-300_ES, Versión 4.0. **2012**.

VITROS. Instrucciones de uso slides vitros trig dt de bioquímica. Publicación. C-303_ES, Versión 6.0. **2012.**

Westgard J. Validación básica de método, Entrenamiento en gestión de la calidad analítica para lavatorios clínicos. Madison, WI: Editorial Wallace Coulter, **2013:** 197-206.

Westgard J, Mercapide L, Sáez A, Porras A, Martínez O, Amaya E, Iturriza M, Mendoza E, Brambila E, Terrés A. Como garantizar la calidad analítica. Rev Mex Patol Clin. **2010;**57:179-189.

Zamora-Palma A. Evaluación de tres directrices para la implementación de un sistema de gestión de la calidad. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab. **2015;**62:11-15.

Zamora-Palma A. Verificación de la imprecisión empleando dos protocolos. Rev Mex Patol Clin. **2011;**58:180-185.

Zarco-Rubio E. Seguridad en Laboratorios. Prevención de Accidentes y Primeros Auxilios en Laboratorios Químicos. México, D.F: Editorial Trillas, **1998:** 27.