

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE QUERETARO

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

TESINA TEORICO-PRACTICA:

" CONTROL TOTAL DE LA CALIDAD EN EL LABORATORIO CLINICO "

PRESENTA:

MARIA GUADALUPE TREJO OLVERA

Para obtener el título de Químico Farmacobiólogo

Querétaro, Gro. 1993.

FACULTAD DE
QUIMICA



BIBLOTECA

No. 150716

No. T

Clas. S42.1

T 787c

UNIVERSIDAD DE
QUINDIA



BIBLIOTECA

INDICE

	Pags.
INTRODUCCION	1
PLANEACION Y ORGANIZACION DEL LABORATORIO CLINICO	3
1. PLANEACION Y DISEÑO	3
1.1. Personal	4
1.2. Equipo y materiales	5
1.3. Locales	5
1.3.1. Otras consideraciones importantes	7
2. ORGANIZACION	8
2.1. Dirección	8
2.1.1. Características personales que debe reunir un director de laboratorio	9
2.1.2. Dirección del personal	10
2.1.3. Indicadores de la mala dirección de un laboratorio clínico	12
2.2. Evaluación	12
2.3. Unificación de los servicios de laboratorio	13
2.3.1. Laboratorios centrales	13
2.3.2. Laboratorios intermedios	14
2.3.3. Laboratorios periféricos	14
FUENTES DE VARIACION	15
1. FASE PREANALITICA	15
1.1. Variaciones debidas a la preparación del paciente	15
1.2. Variaciones debidas a la preparación de la muestra ..	17
2. FASE ANALITICA	18
2.1 Tipos de error analítico	18
2.1.1. Errores instrumentales	18
2.1.2. Errores del método	19
2.1.3. Errores personales	19
2.2. Detección y eliminación de errores analíticos	20
2.2.1. Detección y eliminación de errores instrumentales y personales	20

2.2.2. Detección de errores del método	21
2.3. Requerimientos básicos para una buena ejecución analítica	22
2.3.1. Equipo	23
2.3.2. Reactivos	23
2.3.3. Condiciones óptimas de reacción	25
2.3.4. Instructivo del método analítico	25
3. Fase post-analítica	26
3.1. Errores en los cálculos	26
3.2. Errores en la transcripción y transmisión de los resultados	27
UTILIZACIÓN DE SUEROS Y SOLUCIONES ESTANDAR EN EL CONTROL DE CALIDAD	29
1. ESTANDARES Y SOLUCIONES ESTANDAR	29
1.1. Calidad de las sustancias	29
1.2. Soluciones estándar	29
1.3. Estándares de calibración	30
1.4. Efectos de matriz	31
1.5. Dilución del estándar	32
1.6. Almacenamiento y utilización de muestras para control	33
1.6.1. Especímenes de control líquidos	33
1.6.2. Especímenes de control liofilizados	34
2. Sueros para el control de la calidad	36
2.1. Sueros comerciales	36
2.2. Preparación de los sueros control por el laboratorio	36
2.2.1. Utilización de sueros de los pacientes	36
2.2.2. Sueros liofilizados de origen animal	37
2.2.3. Sueros líquidos estabilizados por medios químicos	39
2.3. Estabilidad de los componentes de los sueros control	40

CONTROL DE CALIDAD EN EL LABORATORIO CLINICO	41
1. IMPORTANCIA DE LA BUENA CALIDAD EN EL TRABAJO DE LABORATORIO	42
2. CONTROL DE CALIDAD INTERNO	42
2.1. Control de calidad interno basado en el empleo de muestras control	43
2.2. Control de calidad interno basado en muestras de los pacientes	45
3. CONTROL DE CALIDAD EXTERNO	45
3.1. Pre-requisitos para llevar a cabo el control de calidad externo	47
3.2. Requisitos que debe cumplir un programa de control externo de la calidad	48
3.3. Características del material de control para su utilización en el control de calidad externo	50
3.4. Evaluación de los resultados	50
4. COSTOS DE LA CALIDAD	51
4.1. Costos preventivos	52
4.2. Costos de evaluación	53
4.3. Costos de fallas internas	53
4.4. Costos de fallas externas	54
4.5. Costos indirectos	54
CONCEPTOS ESTADISTICOS ESENCIALES Y LAS TECNICAS DE CONTROL DE CALIDAD UTILIZADOS EN EL LABORATORIO CLINICO ...	55
1. CONCEPTOS ESTADISTICOS ESENCIALES	55
1.1. Distribuciones de frecuencias	55
1.2. Medidas de tendencia central	56
1.3. Medidas de dispersión	58
1.4. Precisión, reproducibilidad y exactitud de los métodos de medición	60

2. TECNICAS DE CONTROL DE CALIDAD UTILIZADAS EN EL LABORATORIO CLINICO	62
2.1. Varianza bajo condiciones óptimas (VCO)	62
2.1.1. Utilización de los resultados de VCO	63
2.1.2. Distribución normal o de Gauss	63
2.1.3. Utilidad de las gráficas de control	64
2.2. Varianza en condiciones de rutina (VCR)	71
2.2.1. Varianza bajo condiciones de rutina (valores conocidos)	71
2.2.2. Varianza bajo condiciones de rutina (valores desconocidos)	91
2.2.3. Relación entre VCO y VCRC	111
2.3. Sumas acumuladas (CUSUM)	111
2.3.1. Construcción de gráficas CUSUM	112

EJERCICIO Nº 1

Calibración de espectrofotómetro en base a los picos de máxima absorbancia y los puntos isobesticos de una solución colorida a tres valores distintos de pH.	127
---	-----

EJERCICIO Nº 2

Determinación del coeficiente de variación individual y de grupo mediante un ejercicio de pipeteo.	147
--	-----

EJERCICIO Nº 3

Optimización de un método analítico. Determinación de urea.	153
---	-----

EJERCICIO Nº 4

Elección de un método analítico para la determinación de un metabolito en química clínica. Determinación de calcio.	159
--	-----

ANEXO 1

Terminología utilizada en control de calidad. 169

ANEXO 2

Sistema internacional de unidades. 173

ANEXO 3

Seguridad e Higiene. 177

REFERENCIAS 189

INTRODUCCION

El control total de calidad (CTC) puede definirse como un sistema eficaz para integrar los esfuerzos en materia de desarrollo de calidad, mantenimiento de calidad y mejoramiento de calidad realizados por los diversos grupos en una organización, de modo que sea posible producir bienes y servicios a los niveles más económicos y que sean compatibles con la plena satisfacción de los clientes. El CTC exige la participación de todas las divisiones, Feigenbaum sugirió que el CTC estuviera respaldado por una función gerencial bien organizada, cuya única área de especialización fuera la calidad de los productos y cuya única área de operaciones fuera el control de calidad.

El concepto actual de control de calidad o control de calidad en toda la empresa implica la participación de todo individuo en cada división de la empresa.

Al igual que en cualquier otra empresa el control de calidad en el laboratorio clínico no se limita solamente al control en la ejecución de una técnica analítica para obtener valores correctos, sino que esto es el resultado de un proceso llamado planeación de la calidad que incluye la planeación, el diseño, administración y organización del laboratorio. Así mismo, para obtener resultados analíticos adecuados, es necesario conocer las posibles fuentes de variación a las que se encuentra sujeto el proceso y, en su momento, eliminarlas o atenuarlas.

Si en una industria el control de calidad, es de suma importancia esto es más evidente en un laboratorio clínico, en el cual la veracidad de los resultados obtenidos tiene una seria repercusión sobre la salud de las personas. Es por esto que cada laboratorio clínico debe implementar programas de evaluación interna de la calidad y, de ser posible, participar en programas de control de calidad interlaboratorio. En la actualidad se dispone de una gran

Todo el personal que va a colaborar en la planificación del laboratorio debe estar perfectamente informado de estos objetivos y de las medidas que se han de adoptar, porque de esta manera trabajará con mayor entusiasmo ya que tendrá la sensación de que a él se deben, en parte, los progresos que se vayan logrando.

A fin de poder medir el progreso de las actividades llevadas a cabo, debe evaluarse la situación existente antes de iniciarlas. El proceso de planificación puede resumirse como sigue:

- Determinación de las metas o resultados finales que se persiguen.

- Formulación de los objetivos específicos que se vayan logrando en el avance de las respectivas metas.

- Determinación de las medidas que se deben adoptar para conseguir estos objetivos.

- Evaluación de la situación inicial, a fin de poder comprobar periódicamente los progresos realizados hacia la meta final, a través de los correspondientes objetivos.

- Determinación de los recursos necesarios (personal, equipo, materiales, locales, y fondos).

- Establecimiento de un plan cronológico de las actividades que se van a llevar a cabo, estas actividades deben responder a un orden de prioridad, y se debe informar periódicamente sobre ellas a las autoridades de salud (Vázquez, 1991).

1.1. PERSONAL

El buen funcionamiento de una institución depende primordialmente de los conocimientos y voluntad de trabajo de su personal. De ahí que sea muy importante que quienes la

integran sean personas idóneas, cuya formación sea acorde al tipo de actividad que se va a llevar a cabo. Sin embargo, en los países en desarrollo es muy frecuente que los técnicos de laboratorio hayan sido formados sin inculcarles los conocimientos necesarios para realizar una labor eficaz en relación con los problemas de salud prevalentes en el área del laboratorio.

En cuanto al número necesario de técnicos, el planificador debe tener en cuenta, desde luego, que ha de estar en relación con el volumen de trabajo o cantidad de análisis que se van a realizar en el laboratorio. Si el personal es excesivamente numeroso, se producirá un encarecimiento innecesario; por el contrario, si el personal es escaso estará sobrecargado y la presión y el cansancio lo llevarán a cometer errores que de otra manera no ocurrirían.

1.2. EQUIPO Y MATERIALES

En una institución es de mucha importancia tanto el equipo como los materiales de que se disponga para el proceso de la totalidad de las muestras que se reciban. Si el volumen de trabajo es grande, el planificador debe orientarse hacia la selección de equipo que acelere el ritmo de ejecución de los análisis. El laboratorio podrá recurrir, por ejemplo, al uso de pipetas o distribuidores automáticos de reactivos, o al de equipo mecanizado o incluso automático (Vázquez, 1991).

La investigación del producto y las especificaciones bien desarrolladas contribuyen a asegurar la calidad adecuada de las compras, mientras que el control del inventario contribuye a asegurar la cantidad adecuada de materiales para el trabajo en el laboratorio (Bernard, 1990).

1.3. LOCALES

Debe llevarse a cabo un estudio cuidadoso de los locales y de sus dimensiones. La superficie variará de acuerdo con las funciones que se hayan de realizar y con el volumen de

población a la que se le va a prestar el servicio. Debe ofrecer posibilidades de ampliación, ya que el volumen de trabajo en los laboratorios de salud va en constante aumento.

Es importante la determinación de la superficie neta. Esta representa la superficie total, una vez deducidas las superficies correspondientes a vestíbulos, escaleras, ascensores, salas de espera y otros espacios comunitarios. La superficie neta, por tanto, indica la superficie real disponible para el uso del laboratorio (Vázquez, 1991).

Las instalaciones se deben planear de tal modo que el movimiento en el interior del laboratorio esté separado del movimiento exterior.

Se debe decidir, además, si va a existir un área central de procesamiento preanalítico y almacenamiento de las muestras o si esto se va a llevar a cabo en cada una de las áreas del laboratorio (Bernard, 1990).

Además de la superficie neta, es decir, donde se lleva a cabo el procesamiento de las muestras, el laboratorio clínico debe contar con las siguientes instalaciones:

Almacenes. En cada laboratorio se debe disponer de suficiente espacio para la conservación del material crítico durante días o semanas. Se debe contemplar el uso de armarios de almacenamiento modulares que pueden ser llenados en un almacén para ser transportados luego a las áreas del laboratorio. De especial consideración es el almacenamiento de sustancias inflamables y gases comprimidos.

Área de lavado de material. Debe haber un lugar adecuado para el lavado de material y sistemas adecuados de esterilización.

Área de toma y de recepción de muestras. Deben proyectarse áreas adecuadas para este propósito, incluyendo salas de espera y de descanso para los pacientes.

Biblioteca y sala de juntas. Estos locales son esenciales para todos los niveles de personal de laboratorio.

Despachos. Como centros organizativo del departamento deben ser diseñados para que permitan la realización de las distintas funciones (proporcionar información y asistencia a la dirección, consultas, y emplazamiento de los recursos del departamento.

Espacio para la investigación y el desarrollo. De acuerdo con las metas y necesidades del laboratorio, éste debe disponer de un espacio adecuado para la investigación y el desarrollo.

Habitación para el personal. Para la comodidad y estímulo del personal, se debe de contar con un área de estancia adecuada.

1.3.1. OTRAS CONSIDERACIONES IMPORTANTES

Comunicación. Una de las actividades primarias del laboratorio consiste en proporcionar comunicación e información en el seno del laboratorio y entre éste y las personas que lo utilizan.

Seguridad. Las listas moderadoras actuales del College of American Pathologists Inspection and Accreditation Program proporcionan una guía adecuada de las necesidades de seguridad.

Las medidas de seguridad contra incendios están determinadas en su mayor parte por disposiciones locales; sin embargo, los planificadores deben prestar atención a la localización de los extinguidores de incendios, duchas de seguridad, lugares para el lavado de los ojos y vías de evacuación y salida. También deben considerarse los peligros biológicos, tóxicos y radiactivos. El proyecto de campanas y sistemas de ventilación

debe estar basado en los riesgos tóxicos o biológicos de las distintas áreas del laboratorio. El almacenamiento de grandes cantidades de reactivos tóxicos o inflamables requiere precauciones especiales y una planificación meditada (Bernard, 1990).

Es importante el control de la temperatura y el manejo del aire para dar comodidad y seguridad al personal. El control del ruido también es de importancia vital para la moral y productividad del personal de laboratorio.

2. ORGANIZACION

La organización comprende dos aspectos:

- uno relativo a la estructura, el cual abarca la agrupación de funciones que sean similares, el establecimiento de un plan de supervisión, la clara definición de funciones y niveles jerárquicos a fin de que se sepa, sin dudas, quién es responsable ante quién.
- Otro relativo al procedimiento, el cual abarca el conjunto de técnicas a las que se ha de recurrir para realizar, por ejemplo, las operaciones de toma de muestra y la selección de análisis y métodos.

2.1 DIRECCION

Las funciones de la dirección abarcan la orientación y supervisión de las actividades que se determinan en el proceso de la planificación y la organización. La dirección debe llevar a cabo una evaluación continua de las labores efectuadas. Debe administrar los fondos disponibles y mantener una estrecha relación con otros servicios de salud, por ejemplo, los de epidemiología y estadística.

Aunque en algunos casos se ha sostenido que el director debe ser médico, la experiencia ha demostrado que hay algo más

importante que el título profesional: la motivación. Esta motivación puede poseerla un biólogo o un bioquímico que cuente con conocimientos de salud, y con especialización en ciencias de laboratorio (Bernard, 1990).

2.11. CARACTERISTICAS PERSONALES QUE DEBE REUNIR UN DIRECTOR DE LABORATORIO

Motivación. El valor del director es directamente proporcional a su capacidad de motivarse a sí mismo y a sus trabajadores.

Visión. Cada director es un supervisor. La palabra supervisor comporta el sentido de ser alguien que posee una "super" visión; por tanto, alguien capaz de observar por encima y más allá de lo obvio.

Capacidad de tomar decisiones. El hombre que no sabe tomar decisiones debe entregar su autoridad a alguien que lo pueda hacer.

Buena salud. En este caso, buena salud comporta más que buena forma física. Significa llevar una vida física, emocional y espiritual equilibrada como el mejor antídoto contra las tensiones, frustraciones, fatiga y esfuerzo que constituyen la suerte del ejecutivo.

Humildad. Implica el reconocimiento de que todos tenemos defectos, de que no somos autosuficientes y de que necesitamos la ayuda de nuestros subordinados del mismo modo que ellos necesitan de la nuestra.

proceder al despido (Bernard, 1990; Contrato colectivo de trabajo. IMSS, 1991).

2.13. INDICADORES DE LA MALA DIRECCION DE UN LABORATORIO CLINICO

- Incapacidad de mantener un equipo adecuado. La deficiencia puede ser debida a una cantidad insuficiente de trabajadores entrenados o al uso ineficaz del personal disponible.
- Desavenencias repetidas o persistentes con la administración del hospital.
- Confusión frecuente o repetida en relación con las solicitudes o comunicaciones del trabajo del laboratorio.
- Frecuentes solicitudes "urgentes" de suministros.
- Baja moral en el laboratorio
- Costo excesivo de trabajo.
- Ignorancia del costo de las operaciones.
- Pérdida de la mayor parte del tiempo del director en tomar decisiones de poca importancia.
- Incapacidad de realizar uno o más análisis cuando un operario tiene un día libre (Bernard, 1990).

2.2. EVALUACION

Deben evaluarse periódicamente los resultados obtenidos, tomando como base el nivel existente cuando se iniciaron las actividades. Con este fin, se han de establecer indicadores que

demuestren, por ejemplo, si se están obteniendo resultados de calidad, o si el rendimiento del trabajo es el que se esperaba obtener o bien si el costo de operación del laboratorio está de acuerdo con los cálculos preestablecidos. El control permite introducir las rectificaciones que sean necesarias.

Los controles no deben ser tan frecuentes que lleguen a agobiar al personal, pero tampoco deben quedar tan espaciados que resulten ineficaces para aplicar a tiempo las rectificaciones correspondientes.

2.3. UNIFICACION DE LOS SERVICIOS DEL LABORATORIO

La estructura de los laboratorios requiere su escalonamiento en tres niveles esenciales: central, intermedio y periférico.

2.3.1. LABORATORIOS CENTRALES

Como laboratorio de referencia, el laboratorio central ha de tener atribuciones normativas entre las cuales están, la selección de análisis y métodos que han de utilizar los laboratorios de los demás niveles y su descripción en manuales, así como la evaluación y estandarización de nuevas técnicas. Debe, también, practicar los análisis complejos en muestras enviadas por otros laboratorios, prestar asesoramiento técnico a los laboratorios que lo soliciten y ejecutar programas de investigación, evaluar la calidad de los reactivos, preparar sueros control y organizar programas para evaluar la calidad de los resultados obtenidos por los laboratorios.

La supervisión periódica es importante, no solo para encontrar las faltas y corregirlas, sino que sirve también para apoyar y estimular al personal, mejorando así su rendimiento.

2.3.2. LABORATORIOS INTERMEDIOS

Conviene que dependan del hospital más importante de la zona." Estos laboratorios deben de contar, por lo menos, con, departamentos de bioquímica, hematología (con una sección anexa para los análisis necesarios para transfusión sanguínea), y microbiología clínica y de salud pública. Además, debe haber una sección de control de calidad.

Estos laboratorios han de servir de apoyo a los laboratorios de distrito y han de ayudar a la formación de personal para los niveles periféricos. Además, han de llevar a cabo las actividades que para ellos se hayan planificado a nivel de laboratorio central y de referencia.

2.3.3. LABORATORIOS PERIFERICOS

Laboratorios de distrito. Están situados en el primer nivel de hospitalización procedente de zonas periféricas. Realizan análisis básicos de química clínica, hematología y microbiología clínica y sanitaria. También tienen a su cargo análisis básicos de agua y pruebas sencillas para controlar la calidad de los resultados de los análisis realizados. Así mismo, deben servir de referencia y apoyo a los centros de salud.

Centros de salud. Dependen del hospital de distrito. En estos centros se llevan a cabo trabajos sencillos como: microscopía directa, o después de coloración, para el diagnóstico de parásitos; exámenes microscópicos para el diagnóstico bacteriológico; análisis hematológicos (hemoglobina y recuento de células sanguíneas); y análisis de orina (Vázquez, 1991).

FUENTES DE VARIACION EN EL LABORATORIO CLINICO

" El clínico utiliza el laboratorio como medio de ayuda para el diagnóstico y tratamiento del paciente. La recolección, manipulación y procesamiento de la muestra antes de realizar el análisis son fundamentales. La validez de los datos obtenidos en la muestra dependen en gran medida de la calidad de la técnica de laboratorio, en la que influyen la adecuada manipulación del equipo, el empleo de reactivos puros y el control ambiental.

El proceso analítico se inicia con la preparación del paciente, continúa con la recolección del espécimen biológico y finaliza con la emisión de un informe (Vázquez, 1991).

Las fuentes de variación se clasifican en tres etapas: fase pre-analítica, fase analítica y fase post-analítica.

1. FASE PRE-ANALITICA

La fase pre-analítica de variación incluye todas aquellas variaciones debidas a la preparación del paciente previa a la toma de muestra así como la obtención, manejo y preparación de la muestra.

1.1. VARIACIONES DEBIDAS A LA PREPARACION DEL PACIENTE

Dentro de los factores más importantes de variaciones relacionados con el paciente estan:

Ejercicio físico previo. Provoca una disminución inmediata y posterior incremento de la concentración de ácidos grasos libres en el plasma; incremento en la actividad enzimática, medida en suero, de las enzimas musculares creatincinasa, aldolasa, aspartato-amino-transferasa y lactato deshidrogenasa; cambio en los niveles de algunas hormonas como testosterona, androstendiona y hormona luteinizante.

eritrocito o bien la interferencia de la hemoglobina con diversos ensayos.

Almacenamiento del espécimen antes de la determinación. la pérdida de agua por evaporación da lugar a resultados más elevados de concentración o actividad enzimática. Se debe tener en cuenta la estabilidad de los componentes químicos durante su almacenamiento. Por ejemplo, la pérdida de CO₂ del suero conduce a un incremento del pH sérico y cuando se alcanza un pH alcalino de 8.5 se destruye la fosfatasa ácida (Bernard, 1990; Instructivo para el control de calidad en el laboratorio clínico. IMSS, 1982)

2. FASE ANALITICA

No es posible clasificar todas las fuentes de error imaginables que pueden afectar a las medidas analíticas. Sin embargo, se puede reconocer que las limitaciones en la precisión y exactitud se pueden asociar a tres fuentes generales: 1) errores instrumentales, que se atribuyen a imperfecciones en los aparatos de medida; 2) errores del método, que son causados por la conducta física o química no ideal del sistema de análisis, y 3) errores personales, que resultan de las limitaciones físicas o psicológicas del analista.

2.1. TIPOS DE ERROR ANALITICO

2.1.1. ERRORES INSTRUMENTALES

Todos los aparatos de medida son una fuente potencial de errores determinados. Por ejemplo, el material volumétrico sirve para verter o contener volúmenes que frecuentemente difieren de lo que indican sus graduaciones. Estas diferencias pueden atribuirse a la utilización de material volumétrico a

temperaturas que difieren significativamente de la temperatura de calibración, distorsiones en las paredes del recipiente, resultantes de un excesivo calentamiento durante el secado, errores en la calibración original, o contaminación de la superficie interior. La calibración eliminará la mayoría de los errores determinados de este tipo.

2.1.2. ERRORES DEL METODO

El comportamiento físico o químico no ideal de las reacciones o reactivos en que se basa un análisis, puede originar frecuentemente errores determinados. Tales causas de comportamiento no ideal incluyen la lentitud de algunas reacciones, el incompleto desarrollo de otras, la inestabilidad de muchas especies, la falta de especificidad de la mayoría de los reactivos y la existencia de reacciones secundarias que interfieren con el proceso de medición.

Los errores inherentes en un método son frecuentemente difíciles de detectar y son por ello el tipo más grave de errores determinados.

2.1.3. ERRORES PERSONALES

Muchas medidas requieren un juicio personal. Por ejemplo, la estimación de la posición de una aguja indicadora entre dos divisiones de la escala, el nivel de un líquido con respecto a las marcas de graduación, o el color de una solución en el punto final de una valoración. Los juicios de este tipo están frecuentemente sujetos a incertidumbres unidireccionales sistemáticas. Una persona puede constantemente observar un valor alto en la lectura de un indicador, otro puede ser lento al activar un interruptor, mientras que un tercero puede carecer de sensibilidad a los cambios de color y utilizar un exceso de valorante en un análisis volumétrico. En las personas daltónicas o con otras limitaciones físicas aumenta la probabilidad de estos errores.

Una fuente casi universal de error personal es el prejuicio o predisposición. La mayoría de los analistas, por muy objetivos que pretendan ser, tienen una propensión a estimar las lecturas en un sentido que tiende a mejorar la precisión de una serie de resultados, o a dar mayor crédito a los datos que se encuentran más cercanos a un valor preconcebido como verdadero para la medida. Incluso, la predisposición numérica es otra fuente común de error personal. Se tiende a preferir los números 0 y 5, frente a otros, al estimar la posición de un indicador con respecto a una escala; asimismo, es frecuente prejuzgar a favor de cifras pequeñas frente a las grandes, e incluso números enteros frente a decimales.

Finalmente, existe el error personal que resulta de cometer una gran equivocación. Errores de cálculo, transposición de números al apuntar datos, lectura de una escala al revés, inversión de un signo, o uso de una escala incorrecta, son ejemplos comunes. Estos errores pueden afectar a un sólo valor o a una serie completa de medidas. Generalmente, los errores de este tipo pueden ser consecuencia del descuido y se pueden eliminar mediante la disciplina.

2.2. DETECCION Y ELIMINACION DE ERRORES ANALITICOS

2.2.1. DETECCION Y ELIMINACION DE ERRORES INSTRUMENTALES Y PERSONALES

Los errores instrumentales generalmente se detectan y corrigen mediante la calibración. La respuesta de la mayoría de los instrumentos sufrirá variaciones con el tiempo debido al uso, la corrosión o los malos tratos. Por tanto, siempre es aconsejable volver a calibrar periódicamente los instrumentos.

Los errores personales pueden ser minimizados trabajando con cuidado y autodisciplina. Por ello, la mayor parte de los analistas practican la costumbre de comprobar sistemáticamente las lecturas en los instrumentos, las

anotaciones en el diario de laboratorio y los cálculos. Los errores que resultan de alguna deficiencia física se evitan normalmente con una adecuada elección del método (en el supuesto de que se conozca la deficiencia).

2.2.2. DETECCION DE ERRORES DEL METODO

Los errores del método son particularmente difíciles de detectar. La identificación y compensación de tales errores puede conseguirse por uno o más de los sistemas descritos a continuación.

Análisis de muestras patrón. Los errores de un método pueden comprobarse mediante el análisis de una muestra sintética cuya composición se conoce y es muy parecida a la del material para el que se ensaya el análisis. Las muestras patrón deben prepararse cuidadosamente para asegurar que la concentración del analito se conoce con un alto grado de certeza. Desafortunadamente muchas veces es imposible preparar una muestra cuya composición sea estrechamente parecida a la de una sustancia natural compleja; en efecto, los problemas asociados con la preparación de las muestras patrón pueden ser tales como para no recurrir al uso de este sistema.

The National Bureau of Standar dispone de varias sustancias comunes cuidadosamente analizadas, tales como minerales, aleaciones, vidrios, aceites que contienen bifenilos policlorados y orina congelada seca. Existen además otras fuentes comerciales disponibles tales como muestras patrón de materiales tan diversos como carbón, pesticidas, polucionantes y productos del petróleo. Estos patrones han sido específicamente diseñados para comprobar los errores determinados de los métodos analíticos.

Análisis independiente. Cuando no se dispone de muestras de composición conocida, es importante realizar un análisis

paralelo de la muestra con un método distinto y de fiabilidad garantizada. En general, el método independiente no debería parecerse al que se investiga para evitar la posibilidad de que algún factor común de la muestra tenga efectos semejantes en ambos métodos.

Determinaciones en blanco. Es posible detectar los errores constantes que afectan a las medidas físicas mediante una determinación en blanco, en la que todas las etapas del análisis se llevan a cabo en ausencia de la muestra. El resultado obtenido se utiliza para corregir la medida correspondiente a la muestra. Las determinaciones en blanco son particularmente útiles para descubrir los errores debido a la introducción de contaminantes procedentes de reactivos, y de recipientes usados en el método. Los blancos también permiten al analista corregir los datos de la valoración respecto al volumen de reactivo necesario para originar el cambio de color del indicador en el punto final.

Variación del tamaño de la muestra. El hecho de que un error constante disminuya al aumentar la magnitud que se mide, puede utilizarse para detectar tales errores en un método analítico. Se llevan a cabo una serie de análisis en los que se varía lo más ampliamente posible el tamaño de la muestra. La observación de los resultados permitirá correlacionar aumentos o disminuciones sistemáticas con el tamaño de la muestra (Skoog, 1990; Christian, 1981).

2.3. REQUERIMIENTOS BASICOS PARA UNA BUENA EJECUCION ANALITICA

Existen algunos requerimientos mínimos para la buena ejecución de una técnica analítica tales como: equipo y reactivos adecuados, condiciones óptimas de reacción (mezclado, tiempo de reacción, temperatura de incubación) y pericia del personal de laboratorio.

2.3.1. EQUIPO

Para la selección y compra del equipo de laboratorio se deben tener en cuenta los siguientes factores:

- Incorporación de tecnología moderna y de aplicación directa a la solución de problemas de salud de la zona donde debe utilizarse.

- Evaluación estricta de sus características antes de adquirirlo.

- Existencia de servicios adecuados de mantenimiento y reparación, así como personal competente.

- Se debe contar con lo siguiente: espacio adecuado para su instalación, electricidad (voltaje, potencia, frecuencia), agua y soluciones tampon, gas u otros servicios, así como condiciones ambientales adecuadas (Torres, 1989).

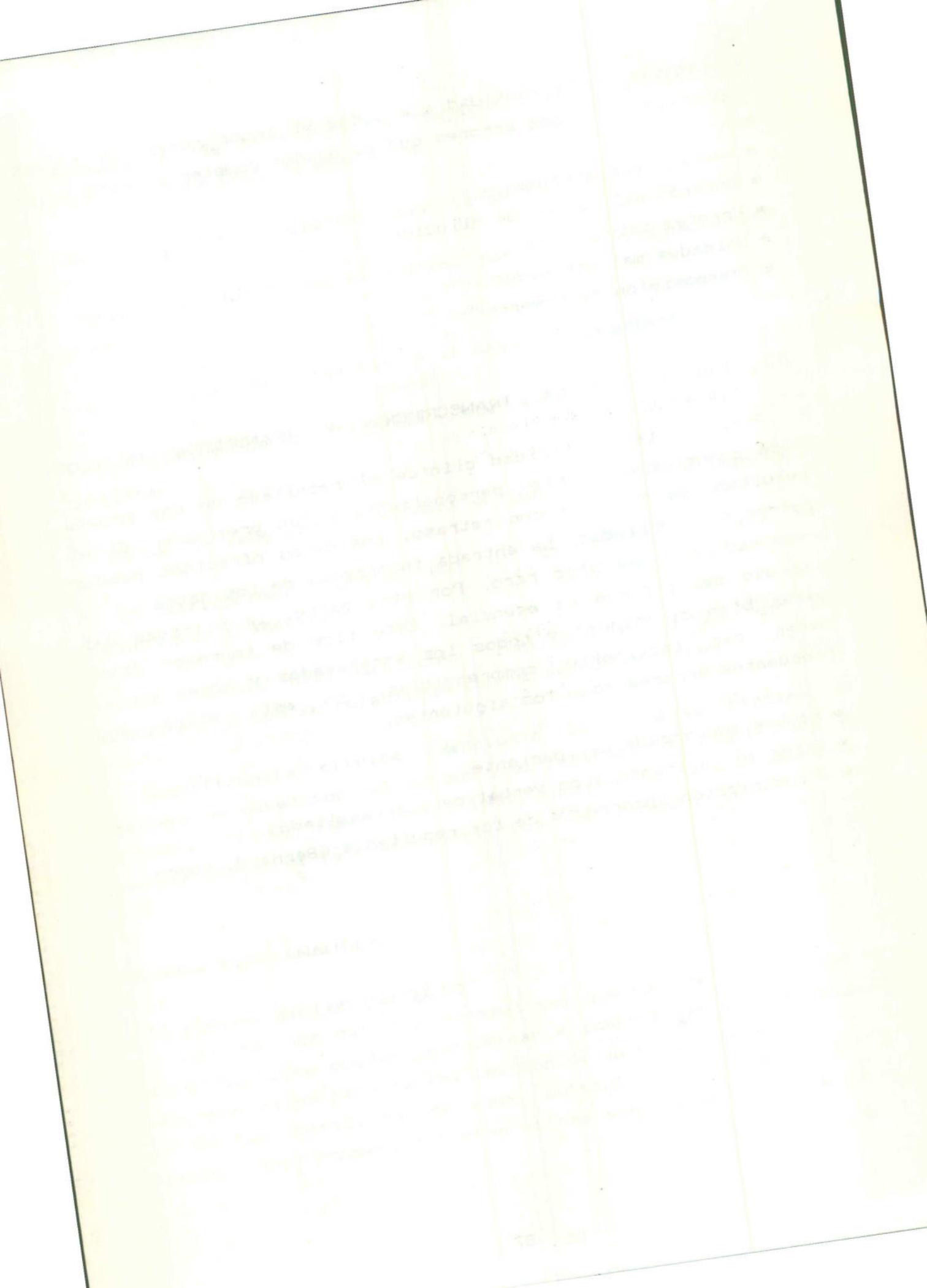
2.3.2. REACTIVOS

Para la preparación de los reactivos se debe contar con lo siguiente:

SUBSTANCIAS QUIMICAS INCLUYENDO EL AGUA. Las sustancias químicas tienen diversos grados de pureza, entre los cuales deben observarse: grado espectrofotométrico, analítico y reactivo. Para las determinaciones cuantitativas y la preparación de soluciones estándar exactas es importante utilizar sustancias químicas puras e identificar las cantidades precisas de los compuestos o elementos deseados así como el grado de contaminación.

- Grado reactivo o grado reactivo analítico (R.A.)

Corresponde a centenares de reactivos que satisfacen especificaciones dadas para permitir su uso en análisis cualitativos y cuantitativos.



UTILIZACION DE SUEROS Y SOLUCIONES ESTANDAR EN EL CONTROL DE CALIDAD

1. ESTANDARES Y SOLUCIONES ESTANDAR.

En los métodos químicos analíticos los estándares adquieren una enorme importancia para la verificación de resultados y de la aplicación del método, de ahí la importancia de la clasificación, preparación, dilución y almacenamiento de los estándares.

1.1. CALIDAD DE LAS SUBSTANCIAS.

Los estándares se clasifican, según su calidad, en primarios y secundarios.

Estándares primarios. Son productos químicos muy purificados. Se pueden pesar directamente para la preparación de soluciones de concentración determinada. La pureza no ha de ser menos del 99.95%. Estos productos, han de ser sustancias estables de composición definida, que puedan secarse, de preferencia a 104-110 °C sin cambio en su composición. No han de ser higroscópicos. La masa se determina pesando exactamente la sustancia pura.

Estándares secundarios. Son soluciones cuya concentración no puede ser determinada directamente a partir del peso del soluto y del volumen de la solución. La masa se determina por análisis químico (Vázquez, 1991; Bernard, 1990; Sonnenwirth, 1986).

1.2. SOLUCIONES ESTANDAR.

Solución estándar primaria. Es una solución de concentración conocida. Se prepara pesando el estándar primario y disolviéndolo en un solvente adecuado.

Solución estándar secundaria. Se prepara disolviendo un estándar secundario en un solvente apropiado.

1.3. ESTANDARES DE CALIBRACION.

Los estándares de calibración se utilizan en los procesos analíticos para asignar valores a las muestras, relacionando las lecturas o respuestas analíticas obtenidas a la concentración u otras cantidades presentes.

Las especificaciones de las sustancias de calibración dependen del uso que se pretenda darles. Deben ser apropiadas tanto al método analítico empleado como a las muestras analizadas.

Con los estándares de calibración, el valor establecido, debe ser exacto hasta el más alto nivel asequible. La incertidumbre asociada con el valor asignado debe ser pequeña comparada con la imprecisión analítica. Cualquier error o incertidumbre en este valor se reflejará en los resultados de las muestras de los pacientes.

El método de preparación del estándar y de la obtención del valor asignado, debe describirse de tal manera que pueda ser reproducido exactamente.

La composición de los estándares y las muestras de control debe conocerse tanto como sea posible.

Debe especificarse la fuente y naturaleza de las muestras y el principio o material de base, también debe conocerse cualquier modificación física o química que se les haya hecho.

Se deben especificar todos los aditivos, incluyendo preservativos, ya sea que se sepa o se piense que afectan el resultado analítico.

Los tratamientos tales como la liofilización pueden introducir artificios. La composición del material puede cambiar con el tiempo.

El almacenamiento a bajas temperaturas o el liofilizado, aumentan considerablemente la estabilidad de la mayoría de los componentes. Una excepción notable es la lipoproteína sérica humana.

Estándares primarios de calibración. Son aquellos preparados a partir de un soluto puro y de un solvente puro con valores de concentración establecidos por medio de la preparación, tienen grandes ventajas operacionales sobre aquellos materiales cuyos valores deben ser establecidos por análisis. Los estándares primarios deben utilizarse siempre que sea posible.

El nivel de incertidumbre, es aquel que únicamente se asocia con las operaciones de pesado y aforo del volumen y las limitaciones de la evaluación de la pureza. En la mayoría de los casos es menor de $\pm 0.2\%$ del valor medio.

Estándares secundarios de calibración. Son estándares secundarios que contienen los mismos componentes que muestras clínicas. En ambos se determina la concentración por medio de análisis químico.

En los estándares secundarios de calibración, el nivel de incertidumbre generalmente es mayor que el de los estándares primarios, ya que éste depende de la precisión y exactitud del método empleado para establecer el valor (Vázquez, 1991).

1.4. EFECTO DE MATRIZ.

Un método analítico involucra tres tipos de materiales cuya composición puede diferir: el estándar de calibración, la muestra control y la muestra del paciente.

Diferencias en las características físicas o químicas de estos materiales pueden afectar la validez de los resultados (efectos de matriz).

Un proceso analítico ideal es insensible a los efectos de matriz y como resultado, las limitantes sobre los estándares y material de control deben ser pocas, pero con materiales biológicos analizados por métodos de rutina, los efectos de matriz, no son poco comunes y los mecanismos a menudo son complejos.

- Por regla general, los especímenes de control pueden ser utilizados solamente alrededor de unos 14 días después de que el frasco haya sido abierto por vez primera. Por consiguiente, se recomienda que si el laboratorio realiza series de análisis se adquiera el tamaño más pequeño.

1.6.2. ESPECIMENES DE CONTROL LIOFILIZADOS.

En cierto modo es más difícil almacenar y utilizar especímenes de control liofilizados. Deben seguirse las siguientes instrucciones ya que, en caso contrario, se producirán errores que dejarán sin valor al espécimen de control:

- Los frascos sin abrir con el material liofilizado deben almacenarse bajo refrigeración a temperaturas comprendidas entre los 4 °C y los 8 °C.

- Debe observarse la fecha de caducidad impresa en el envase. Si el envase no está abierto y se ha almacenado correctamente, en particular por lo que se refiere a la temperatura, la mayor parte de materiales liofilizados pueden almacenarse durante más de dos años sin ningún cambio apreciable en la concentración.

- Antes de añadir agua al material liofilizado el frasco debe ser abierto lentamente (se trata de envases cerrados al vacío, de modo que si se abre repentinamente puede perderse parte del material).

- El agua utilizada para la reconstitución debe ser desionizada y destilada, y añadida utilizando únicamente pipetas calibradas oficialmente.

- Después de medir el agua desionizada y destilada, cerrar el contenedor fuertemente y girarlo cuidadosamente arriba y abajo

tres o cuatro veces, de modo que cualquier traza de polvo en el tapón quede sumergido por el líquido. En seguida, dejar reposar el frasco durante 30 a 60 minutos a temperatura ambiente (los tiempos indicados en el envase o en el folleto pueden variar y deben ser escrupulosamente observados). Después del tiempo de espera, girar la botella cuidadosamente arriba y abajo varias veces hasta que el material esté completamente mezclado (debe hacerse cuidadosamente para evitar la formación de espuma).

- Después de la reconstitución, la duración de los constituyentes almacenados es limitada. Por ejemplo, la luz destruye la bilirrubina. Debe prestarse especial atención a cualquier información contenida en el folleto que acompaña al envase en relación con el almacenamiento después de la reconstitución.

- Si el contenido de un frasco nunca ha sido utilizado, se recomienda insistentemente que en el futuro el espécimen de control reconstituido sea congelado tras ser repartido entre los contenedores de plástico como se crea que serán utilizados de una vez.

- Un espécimen de control congelado debe ser llevado a temperatura ambiente antes de ser utilizado. La reconstitución debe hacerse a 25°C. Deben evitarse temperaturas superiores con la utilización de baños de agua o termobloques (Vázquez, 1991; Bernard, 1990).

en centrifugas refrigeradas, y se separa el suero por succión. Una segunda centrifugación, en las mismas condiciones, permite eliminar las últimas trazas de glóbulos rojos.

También se puede separar el suero utilizando sangre coagulada, en las seis horas siguientes a su obtención. Sin embargo, en éste caso el rendimiento del suero será menor.

En todos los casos se debe utilizar la prueba directa de aglutinación para el diagnóstico de la brucelosis. Se deben descartar todos los sueros cuyo título sea mayor de 1:80.

- Ajuste de la concentración de los componentes: La concentración de los componentes del suero control se debe ajustar a valores clínicamente útiles, agregando la substancia deseada, o bien, diluyendo el suero con agua. De esta manera es posible obtener sueros control de concentración alta, media o baja de sus distintos componentes.

La concentración de enzimas se puede modificar agregando concentrados comerciales.

- Filtración: Después del ajuste de la concentración de los componentes del suero, se debe proceder a su filtración para reducir la contaminación al mínimo, ya que es muy difícil conseguir una esterilización completa.

Hay una gran variedad de sistemas de filtración. Uno muy utilizado consiste en pasar el suero a presión, utilizando nitrógeno gaseoso, a través de membranas filtrantes.

- Distribución, liofilización y almacenamiento: Una vez filtrado el suero, se distribuye en pequeños recipientes o ampolletas para su liofilización. La distribución se ha de llevar a cabo con gran precisión (no menor de 0.2%), por lo que es aconsejable realizarla con distribuidores automáticos.

Una buena liofilización asegura la estabilidad del material por varios años, si éste se almacena en refrigeradores a una

temperatura que oscile entre 2 y 8°C. El almacenamiento a -20°C

temperatura que oscile entre 2 y 8°C. El almacenamiento a -20°C asegura la estabilidad por mucho tiempo más.

● Etiquetado: La etiqueta debe indicar el nombre del laboratorio, el origen del suero (humano o animal), la temperatura para el almacenamiento, el volumen de agua destilada (u otros líquidos) para la reconstitución y la composición, así como cualquier otra información que se considere útil.

2.2.3. SUEROS LIQUIDOS ESTABILIZADOS POR MEDIOS QUIMICOS.

La estabilización de los sueros para el control de la calidad, por medio de la liofilización, plantea algunos problemas. Por ejemplo:

● Requiere un equipo que, por su costo, puede estar fuera del alcance de los laboratorios que dispongan solamente de un presupuesto limitado.

● Los sueros reconstituidos pueden presentar cierta turbidez.

● En el proceso de reconstitución se puede incurrir en errores debido, por ejemplo, a la inexactitud del volumen de los reconstituyentes.

Por estos y otros motivos, algunos laboratorios prefieren utilizar sueros líquidos. Para estabilizarlos, se puede recurrir a la filtración; sin embargo, por este medio no se logra ni una estabilidad prolongada ni la resistencia a altas temperaturas.

Existe también la posibilidad de recurrir a ciertos productos químicos, como el timerosal, el fluoruro, la azida, e incluso los antibióticos. Pero los efectos que se obtienen no son muy satisfactorios porque, aparte de otros problemas,

algunos de estos productos influyen en los resultados e inhiben la actividad de las enzimas (Vázquez, 1991).

En un estudio reciente se observó que una mezcla de azida de sodio y etilenglicol tiene un efecto más importante como estabilizante de los componentes del suero, a excepción de la albúmina (Ramos, 1990).

2.3. ESTABILIDAD DE LOS COMPONENTES DE LOS SUEROS CONTROL.

Los laboratorios de Derbyshire Royal Infirmary, en Derby, Inglaterra, realizaron estudios sobre la estabilidad de los componentes que se indican a continuación: albúmina, amilasa, aspartato aminotransferasa, bicarbonato, bilirrubina, calcio, creatinina, fosfatasa alcalina, glucosa, potasio, proteína total y urea.

Los resultados que obtuvieron son los siguientes:

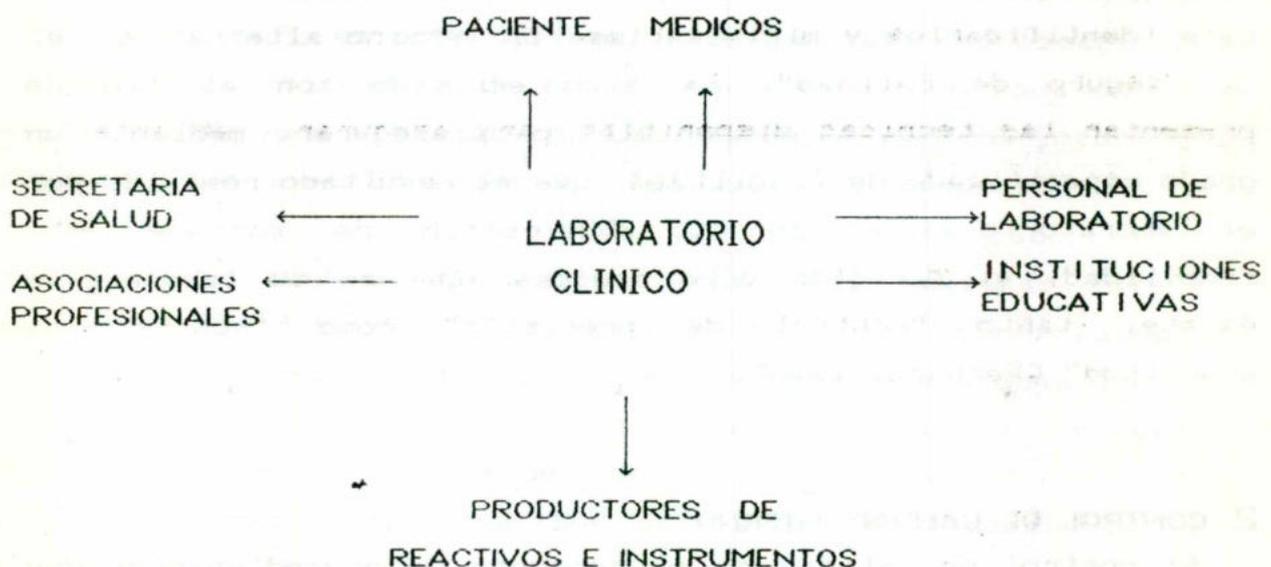
- Todas estas sustancias son estables por 8 meses cuando los sueros se almacenan a -20°C . Hay variaciones muy pequeñas en la bilirrubina y la fosfatasa alcalina.
- Las enzimas (amilasa, aspartato aminotransferasa y fosfatasa alcalina) y la bilirrubina, almacenadas a 4°C , son estables durante 4 meses. En tales condiciones, la estabilidad de todos los demás componentes estudiados es de 8 meses.
- A 25°C , todos los componentes son estables durante 6 días; a 37°C , la estabilidad es de 3 días.
- Los periodos de estabilidad pueden variar de acuerdo con el grado de contaminación, lo que equivale a decir que cuanto mayor sea la contaminación menores serán los periodos de estabilidad de los constituyentes del suero (Vázquez, 1991).

CONTROL DE CALIDAD EN EL LABORATORIO CLINICO

El control de calidad es un proceso que busca la excelencia en el trabajo realizado y garantiza la confiabilidad de los resultados. Es un sistema de retroalimentación que por pasos sucesivos logra detectar errores, investigar sus causas, corregirlas y avanzar para lograr la excelencia siempre en perspectiva.

El laboratorio clínico como ciencia interdisciplinaria pertenece tanto a la esfera médico-biológica como a la técnico-analítica y tiene como misión de servicio suministrar datos o resultados de medidas, útiles en la atención médica del paciente, por lo que la variación de los resultados debe ser lo suficientemente pequeña para que esos resultados tengan significancia médica.

El control de calidad en el laboratorio clínico abre canales de comunicación a todos los niveles:



resumen estadístico mensual y una revisión de los problemas aparentes.

El laboratorio de control de calidad también recibe y distribuye muestras de diversos estudios interlaboratorio, manteniendo informes sobre los registros de laboratorio en vigilancia.

Los detalles para la puesta en marcha y mantenimiento del sistema son :

- Selección de las muestras de control de calidad
- Elaboración de muestras control
- Selección de técnicas de control estadístico

Se han empleado numerosas técnicas de control estadístico en laboratorios clínicos en su mayor parte manuales, las cuales aportan distintos criterios para evaluar un estado sobre la base del parámetro que se encuentra en los límites de control elegidos.

Los registros de tabulación con cálculos apropiados pueden emplearse para complementar el desarrollo de las técnicas, aunque los registros gráficos son más fáciles de interpretar, ya que los datos tabulados no revelan sutilmente los cambios que se puedan producir en un método analítico; se han aceptado las gráficas de control como método para regular las técnicas de control. Tales gráficas representan la observación de control en función del tiempo, y entre ellas se encuentran:

- Gráfica de control de Levey-Jennings
- Técnica multiregla de Westgard
- Técnica de sumas acumulativas
- Técnica de media y espectro
- Análisis de tendencias
- Técnica de análisis de varianza

2.2. CONTROL DE CALIDAD INTERNO BASADO EN MUESTRAS DE LOS PACIENTES

El empleo de muestras idénticas a lo largo de un determinado periodo de tiempo está siendo ampliamente utilizado, ya que aporta un elemento de referencia constante. Sin embargo, las muestras de control comerciales no reproducen de forma exacta a las muestras clínicas y los errores analíticos observados a partir de muestras clínicas pueden no ser idénticos a los observados con las muestras de control.

En este caso de muestras de pacientes se deben tomar en cuenta las fuentes pre-instrumentales de variación, comprendiendo obtención de muestras, transporte y procesamiento.

Se han propuesto diversas pautas para el control de calidad que comprenden la determinación de la media diaria de ciertos resultados, empleando uno o más controles aritméticos sobre múltiples resultados obtenidos de la misma muestra, comparando el resultado previo del mismo paciente con el resultado actual y detectando resultados absurdos, así como valores de alerta que evalúan la combinación de resultados múltiples para patrones inhabituales, así mismo, se valoran las muestras de los pacientes por duplicado y en forma aleatoria (Bernard, 1990; Lewis, 1990).

3. CONTROL DE CALIDAD EXTERNO

Es la comparación de los resultados de los análisis del propio laboratorio, con los de otros laboratorios que utilizan el mismo material de control con el mismo y en ocasiones con otros métodos analíticos.

Los programas de control de calidad externo pueden llevarse a cabo de varias formas progresivamente desde los más simples hasta los más complejos. Es un suplemento del sistema de control interno de la calidad y se reconoce como la confirmación de la calidad de las etapas pre-analítica, analítica y post-analítica.

La actuación de cada laboratorio se compara con la de otros laboratorios participantes, con el objeto de que todos conozcan la habilidad y aptitud de los "mejores" laboratorios (Vargas, 1989).

El control externo o valoración externa de la calidad pudiera definirse como la evaluación de la exactitud analítica de un laboratorio mediante la comparación del resultado obtenido al procesar una muestra con los resultados de otros laboratorios con características semejantes.

Los procedimientos y metodologías descritas para llevar a cabo un esquema de valoración externa de la calidad en los laboratorios clínicos han sido muy variados. Sin embargo, sus objetivos fueron claramente definidos por la federación Internacional de Química Clínica (IFCC, 1983), independientemente del esquema en cuestión, los mismos son:

- Conocer el estado de la calidad de un análisis determinado
- Proveer datos comparativos de los laboratorios participantes.
- Actuar como complemento del Control Interno.
- Estimular a los laboratorios participantes a mejorar su calidad de manera sistemática.
- Proporcionar los llamados "valores de concenso" para un lote dado de un material de control.

Kilshaw (1987), precisó que la valoración externa de la calidad no puede ser nunca un sustituto del control interno debido a que la frecuencia de distribución de materiales de control es mucho menor que la requerida para un monitoreo adecuado de la calidad con que trabaja el laboratorio diariamente.

Por otra parte, Whitehead (1976) señaló que si el sistema de control interno de un laboratorio en particular indica que la calidad del trabajo es satisfactoria y el comportamiento del mismo laboratorio en un programa de control externo bien conducido es deficiente, entonces el control interno no está reflejando la situación real. De ahí que ningún laboratorio pueda garantizar que los resultados obtenidos en sus muestras

clínicas son confiables y comparables con los resultados de otros laboratorios si no participa en un esquema o programa de valoración externa de la calidad (Morejón, 1989).

El control externo de la calidad permite conocer:

- Imprecisión interlaboratorios
- Inexactitud intralaboratorio cuando el valor verdadero es conocido.

Además proporciona datos de:

- Imprecisión-inexactitud
- Control de los métodos empleados
- Errores en la calibración de los aparatos
- Estabilidad de los materiales empleados
- Defectos en el control interno
- Sugerencias para tomar medidas correctivas
- Hacer comparaciones entre laboratorios (Menjivar, 1990; Whitehead, 1984)

3.1. PRE-REQUISITOS PARA LLEVAR A CABO EL CONTROL DE CALIDAD EXTERNO

Para el participante:

- El material de control se debe manipular igual que todas las muestras, sin ningún trato especial.
- los estándares utilizados en la calibración no se alterarán

Para los organizadores:

- Anonimato de los participantes
- Confidencialidad absoluta

Bases científicas del esquema de control de calidad externo

- Evaluación estadística de los resultados
- Información acerca de los métodos empleados por los

participantes (instrucciones precisas).

- El tiempo de análisis y de entrega de resultados es el más corto posible.
- Instrucciones para la manipulación del material de control.

3.2. REQUISITOS QUE DEBE CUMPLIR UN PROGRAMA DE CONTROL EXTERNO DE LA CALIDAD

Las características ideales que deben reunir los programas que tratan de valorar el trabajo de los laboratorios de salud a través del suministro del mismo material a cada laboratorio son las siguientes:

Material suministrado. Debe ser homogéneo, de modo que todos los laboratorios reciban el mismo material. Debe indicarse la estabilidad del material una vez preparado (por ejemplo, reconstituido). Existen evidencias de que el material liofilizado utilizado en tales programas es homogéneo y está repartido en los viales de forma precisa. El material preparado correctamente es estable durante el periodo de tiempo necesario para el transporte de la sede de la organización hasta los laboratorios participantes. El desarrollo de la tecnología de preparación de material de control permite que se disponga de material estable para las determinaciones tales como la actividad enzimática.

Documentación (instructivo) que acompaña al material. Los especímenes deben acompañarse de documentación inequívoca referente a los análisis incluidos en el estudio. Debe agregarse un esquema en el que se trate de los diferentes tipos de unidades. Deberá incluirse la dirección a la que hay que enviar los resultados, la forma de remitirlos y el último día en que se aceptarán para ser incluidos en el análisis estadístico.

Metodología habitual. Se debe aconsejar a los laboratorios que los análisis se hagan dentro de la rutina habitual.

Número de laboratorios participantes. Cuanto mayor sea el número de laboratorios participantes, mayor será la utilidad del programa en términos de subdivisión de los resultados respecto a los métodos analíticos, proporcionando datos sobre la calidad de un amplio espectro de laboratorios. Existe un límite al número de laboratorios participantes, fijado por las necesidades de organización. Algunos países se verán obligados a combinarse con otros para que sus programas resulten viables desde el punto de vista organizativo, estadístico y científico.

Análisis estadístico de los resultados. El análisis estadístico de los resultados y la forma de presentarlos debe ser de fácil comprensión para todos los laboratorios participantes. Los métodos estadísticos utilizados deben tomar en consideración y excluir los errores debidos al azar, los cuales son errores administrativos inevitables en todos los programas. Los resultados deben subdividirse de acuerdo a los métodos analíticos utilizados, lo cual no resulta fácil porque en algunos casos modificaciones mínimas pueden hacer variar las técnicas, pero resulta suficiente con una clasificación general respecto a los fundamentos analíticos. Cualquier intento de introducir más subdivisiones puede disminuir la utilidad del programa sin proporcionar un beneficio equivalente. La calidad de cada laboratorio participante debe valorarse tanto para cada determinación individual como para un conjunto de todas ellas. Deben exponerse claramente los valores de las distintas determinaciones y el método por el cual han sido recogidos.

Frecuencia del programa y el tiempo de "Turn-Round". El tiempo de Turn-Round es el tiempo transcurrido entre el envío del material desde la organización y el momento en que todos los laboratorios participantes reciben los cálculos estadísticos. Para tener una utilidad máxima del programa, este tiempo debe ser lo más corto posible, en algunos programas es de días, en otros es de meses. Igualmente posee gran importancia la frecuencia y el número de los diferentes tipos

de análisis. Es de poco valor estudiar los análisis rutinarios de los laboratorios de salud una vez al año, al igual que es difícil hacerlo semanalmente, aunque cuanto más frecuente se haga tanto mejor.

Anonimato de los laboratorios participantes. Cada país en concreto deberá elegir entre preservar el anonimato estricto o poner a disposición de otros laboratorios o agencias los resultados de un laboratorio en particular. En algunos programas, la finalidad es proporcionar un servicio a los laboratorios para su propia información, en otros, la finalidad es una vigilancia con fines legales. Es importante que los organizadores de los programas externos de control de calidad ejerzan un papel de formación y que el objetivo no sea exclusivamente la vigilancia de la calidad del laboratorio.

3.3. CARACTERISTICAS DEL MATERIAL DE CONTROL PARA SU UTILIZACION EN EL CONTROL DE CALIDAD EXTERNO

- Debe ser estable
- Debe ser homogéneo
- Se debe conocer su naturaleza y sus limitaciones
- Instrucciones correctas para su reconstitución y almacenamiento
- Debe de ser probado antes de distribuirse
- Debe ser estéril para evitar interferencias por contaminación por cualquier tipo de microorganismo que pueda afectar los resultados finales.
- Se debe suministrar una cantidad suficiente para los análisis que se van a realizar.

3.4. EVALUACION DE LOS RESULTADOS

La evaluación estadística de los resultados se practica a través de análisis para verificar si los resultados del momento concuerden con la experiencia previa. Se debe llevar a cabo:

- Medida de los resultados individuales y los valores asignados al material de control.

- Medida de la dispersión de los resultados grupales.

Se desea que los programas externos de control de calidad sean importantes para mejorar la calidad de los laboratorios participantes, para lograrlo es esencial cubrir ciertos objetivos:

- Sencillez en la comunicación de los datos. Los laboratorios que precisan más ayuda son los que tienen más dificultades para interpretar cálculos estadísticos complejos.

- Debe ser posible que un laboratorio en particular pueda compartir su calidad con la de otros participantes.

- Deben de conocer los cambios en la calidad en el transcurso del tiempo.

- Es necesario dar un enfoque educativo al programa. Conviene que los participantes reciban la información referente a los métodos utilizados por los laboratorios que trabajan mejor.

Para conseguir estos objetivos, la información cuantitativa referida a la calidad debe expresarse de la forma más sencilla posible (Whitehead, 1984).

4. COSTOS DE LA CALIDAD

Durante muchos años no se hicieron esfuerzos directos para medir o explicar los costos de la función de la calidad. Sin embargo, al principio de la década de 1950, muchas organizaciones empezaron a evaluar formalmente los costos de la calidad.

Muchas organizaciones de producción y servicios utilizan cuatro categorías de costos de calidad: costos preventivos,

costos de evaluación, costos de fallas internas y costos de fallas externas.

4.1. COSTOS PREVENTIVOS

Los costos preventivos están relacionados con los esfuerzos en el diseño y la producción encaminados a prevenir la disconformidad (incumplimiento de especificaciones). Hablando en general, los costos preventivos son todos aquellos que se presentan al tratar de "hacer las cosas bien desde el principio". Las subcategorías importantes de los costos de prevención son las siguientes:

Planeación e ingeniería para la calidad. Esto incluye las actividades asociadas a la creación del plan general de calidad y los planes de inspección, de confiabilidad, del sistema de datos, así como las actividades de la función del aseguramiento de la calidad. Incluye la elaboración de manuales y procedimientos para comunicar el plan de calidad. También comprende los costos de la revisión o auditoría del sistema.

Revisión de nuevas técnicas y equipos de análisis. Abarca la elaboración de pruebas y programas experimentales para evaluar el funcionamiento de nuevas técnicas y equipos de análisis, y otras actividades anteriores a la implantación de una nueva técnica o equipo de análisis.

Adiestramiento. Costo de desarrollar, preparar, implementar, manejar y mantener programas formales de entrenamiento respecto a la calidad.

Obtención y análisis de los datos de la calidad. Es el costo de aplicar el sistema de datos de la calidad para obtener información respecto al funcionamiento del proceso. También incluye los costos de análisis de estos datos para detectar problemas. Comprende, además, el trabajo de resumir y publicar información acerca de la calidad para la administración.

4.2. COSTOS DE EVALUACION

Los costos de la evaluación están relacionados con la medición, evaluación o revisión de productos, componentes, y otros materiales comprados para asegurar la conformidad con las especificaciones.

Las subcategorías importantes son:

Inspección y pruebas del material entrante. Estos costos están relacionados con la inspección y prueba de todo el material suministrado por los proveedores. Esta subcategoría abarca inspección y ensayos al recibir los materiales, inspección, pruebas y evaluación de las instalaciones del proveedor, así como una revisión periódica de su sistema de aseguramiento de la calidad.

Materiales y servicios consumidos. Esta subcategoría abarca los costos de los materiales y productos consumidos en una prueba destructiva, o devaluados por pruebas de confiabilidad.

Conservación de la precisión del equipo de pruebas. Esta subcategoría abarca los costos de utilizar un sistema que mantiene calibrados los instrumentos y el equipo de medición.

4.3. COSTOS DE FALLAS INTERNAS

Se incurre en este tipo de fallas cuando los resultados analíticos no son correctos y se descubren estas fallas antes de entregar esos resultados al paciente.

Desperdicios. Pérdida neta de mano de obra, material, costos generales debido a análisis incorrectos que no se pueden volver a realizar dado que no se cuenta con más muestra.

Retrabajo o reelaboración. Costos en los que se incurre al reprocesar las muestras a fin de obtener los resultados correctos.

Análisis de fallas. Se trata del costo de determinar las causas de las fallas en los resultados analíticos.

4.4. COSTOS DE FALLAS EXTERNAS

Se presentan cuando se reportan resultados incompletos al paciente.

Reclamaciones. Incluye todos los costos por investigación y arreglos de quejas justificadas atribuibles a un resultado incorrecto.

Costos por garantía. Comprende los costos debidos a la repetición de análisis.

Costos de responsabilidad legal. Son los costos por indemnización en los que se incurre como resultado de litigios relacionados con la responsabilidad legal por la entrega de resultados incorrectos.

4.5. COSTOS INDIRECTOS

Además de los costos por fallas externas existe un gran número de costos indirectos, debidos al descontento de los pacientes respecto a la calidad de los servicios. Los costos indirectos pueden reflejar la actitud del paciente hacia el laboratorio. Abarca la pérdida de la buena reputación del laboratorio y la pérdida de clientes futuros (Montgomery, 1991; Grant, 1984).

CONCEPTOS ESTADISTICOS ESENCIALES Y LAS TECNICAS DE CONTROL DE CALIDAD UTILIZADOS EN EL LABORATORIO CLINICO

En todo proceso de medida hay variación debida a errores aleatorios, errores sistemáticos o errores burdos.

Los errores aleatorios son causa de imprecisión, variación o varianza en la determinación repetida de un componente realizada en el mismo espécimen o muestra. Se monitorea por desviación estándar, coeficiente de variación, rango, índice de precisión y puntuación del índice de variación.

Los errores sistemáticos son causa de inexactitud, es decir, inhabilidad para medir el valor real o verdadero de un componente en un espécimen o muestra. Se monitorean por desviación del valor verdadero, índice de exactitud e índice de exactitud en porcentaje.

Los errores burdos no deben existir en los procesos de medición que se realizan en el laboratorio clínico. Se evitan siguiendo las normas específicas a cada paso del proceso.

1. CONCEPTOS ESTADISTICOS ESENCIALES

1.1. DISTRIBUCIONES DE FRECUENCIAS

Una forma de organizar una serie de valores para mostrar su modelo de variación, es contar las veces que se repite cada una. El resultado de este recuento se denomina "distribución de frecuencias".

Una distribución agrupada de frecuencias de un conjunto de observaciones consiste en una tabla de valores que muestra la frecuencia con la que se repite cada uno de los valores que toma la variable, en grupos ordenados.

El intervalo, a lo largo de la escala de medición, de cada grupo ordenado se denomina clase.

Frecuencia de una clase es el número de observaciones cuyo valor pertenece a dicha clase.

Frecuencia relativa de una clase es el resultado de dividir su frecuencia por el número total de observaciones.

Existen tres tipos de representación gráfica de distribuciones de frecuencias:

- Histograma de frecuencias, que en algunos aspectos es el mejor. En este gráfico, los datos de las columnas representan los límites superior e inferior de la clase, y sus alturas así como sus áreas son proporcionales a la frecuencia de las clases.
- Diagrama de barras. Emplea barras en los valores centrales de las clases cuyas alturas son proporcionales a sus frecuencias.
- Polígono de frecuencias. Consiste en una serie de segmentos que une los puntos cuyas abscisas son los valores centrales de la clase y cuyas ordenadas son proporcionales a sus frecuencias respectivas (Grant, 1984).

1.2. MEDIDAS DE TENDENCIA CENTRAL

Las medidas de tendencia central que se encuentran con mayor frecuencia son, la mediana, la moda y la media (media aritmética). En el lenguaje común, el término "promedio" se refiere generalmente a la media aritmética. Este término también es común en control de calidad.

Media aritmética. La más común y usualmente la mejor medida de tendencia central es la media aritmética. Se utilizan los siguientes símbolos para representar la media aritmética: la letra μ (Mu) para la media de una población y \bar{X} para la media de una muestra.

μ (μ) es un parámetro (una característica fija que rara vez conocemos) y \bar{X} es una variable; ésta varía de muestra a muestra en una misma población.

La media de una población se define como:

$$\mu = (X_1 + X_2 + X_3 + \dots + X_N) / N$$

donde $X_1, X_2, \text{etc.}$ son los elementos de la población y N es el número de elementos en la población. Así X_N es el elemento N -ésimo de la población.

La media (μ) puede definirse mediante una notación abreviada, denominada notación de sumatoria:

$$\mu = \left\{ \sum_{i=1}^N (X_i) \right\} / N$$

En esta forma abreviada, la letra mayúscula griega Σ (sigma) indica que debemos sumar todos los valores de X_i . Los índices de la sumatoria $i=1 \dots N$ indican que los valores de X_i van desde el valor de X_1 hasta el de X_N .

Puesto que rara vez conocemos el valor de μ , lo estimamos a partir de la media de una muestra, \bar{X} , la cual se define como sigue:

$$\bar{X} = \left\{ \sum_{i=1}^n (X_i) \right\} / n$$

donde la n del denominador representa el número de elementos de la muestra.

Las otras dos medidas de tendencia central mencionadas anteriormente se utilizan relativamente menos en control de calidad.

La moda es el valor que se repite más veces, es decir, el valor correspondiente al punto más alto del histograma de frecuencias de la distribución.

La mediana es el valor central de la muestra cuando las observaciones se han clasificado por orden decreciente de magnitud (Little, 1990; Grant, 1984; Lewis, 1990)

1.3. MEDIDAS DE DISPERSION

Las medidas de dispersión más eficaces en el control de calidad son la amplitud (rango), la desviación tipo (desviación estándar), la varianza y el coeficiente de variación.

Varianza y desviación estándar. La medida de dispersión más común, y la mejor para la mayoría de los propósitos, es la varianza o su raíz cuadrada, la desviación estándar. Los símbolos utilizados para representarlas son: σ^2 para la varianza de una población y s^2 para la mejor estimación de σ^2 que puede ser obtenida a partir de una muestra. Las raíces cuadradas respectivas, σ y s , representan la desviación estándar de la población y su estimador.

La varianza de la población se define como:

$$\sigma^2 = \frac{\sum (X_i - \mu)^2}{N}$$

donde N es el número de elementos en la población. La mejor estimación de σ^2 a partir de una muestra pequeña (donde $n < 60$), se define:

$$s^2 = \frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n}$$

donde n es el número de elementos en la muestra.

Sin embargo, rara vez, si es que ello es posible, se conoce el valor de μ , de modo que el numerador se sustituye por un estimador, \bar{X} . Ahora bien aunque \bar{X} es, en promedio igual a μ ,

varía de muestra a muestra y rara vez es exactamente igual a μ . $\sum (X_i - \bar{X})^2$ es menor que la suma de cuadrados de las desviaciones de cualquier otro valor diferente de \bar{X} . Por tanto, si \bar{X} no es exactamente igual a μ , $\sum (X_i - \bar{X})^2$ es menor que $\sum (X_i - \mu)^2$.

Esto significa que $\sum (X_i - \bar{X})^2 / n$ dará una estimación demasiado pequeña de σ^2 . De ahí resulta que la corrección apropiada puede ser hecha mediante la utilización en el denominador, de $n-1$ en vez de n . Es decir, en promedio:

$$[\sum (X_i - \bar{X})^2 / (n-1)] = [\sum (X_i - \mu)^2 / n] \cong \sigma^2$$

El numerador, $\sum (X_i - \bar{X})^2$ es una suma de cuadrados; es ésta la suma de los cuadrados de las desviaciones de elementos individuales de sus medidas.

Para muestras pequeñas sin decimales, en las que la media suele ser un número entero, s^2 y s pueden calcularse fácilmente a partir de la fórmula de la definición, pero para muestras grandes se cuenta con un método abreviado que resulta de más sencilla aplicación, especialmente si se utiliza una calculadora.

Es posible demostrar que:

$$\sum (X - \bar{X})^2 = \sum X^2 - (\sum X)^2 / n$$

por tanto, una fórmula de trabajo conveniente para s^2 es:

$$s^2 = [\sum X_i^2 - (\sum X_i)^2 / n] / (n-1)$$

El término del extremo derecho en el numerador recibe el nombre de término de corrección o factor de corrección, y se representa como C .

A la expresión del denominador, $(n-1)$, se le llama grados de libertad, (denotados g.l.) sobre los cuales está basada la varianza; en este caso, uno menos que el número de elementos en la muestra.

Coefficiente de variabilidad. Expresa la desviación estándar por unidad experimental, como un porcentaje de la media general del experimento (Little, 1990).

$$CV = (s/\bar{X}) (100)$$

Amplitud o rango. Representa la diferencia entre el valor más grande y el valor más pequeño de un conjunto de observaciones y se representa como sigue:

$$R = X_{\max} - X_{\min}$$

donde X_{\max} es el valor más alto y X_{\min} es el valor más bajo de un conjunto de datos.

1.4. PRECISION, REPRODUCIBILIDAD Y EXACTITUD DE LOS METODOS DE MEDICION

La precisión de un método de medición se refiere a la consistencia del modelo de variación.

La exactitud de un método de medición se refiere a la ausencia de desviaciones, a la concordancia de sus resultados respecto a los valores verdaderos de la característica de calidad medida. En un método exacto, el valor medio obtenido de un conjunto de mediciones diferiría del valor verdadero, pero no más de lo que se esperaría para una variación debida al azar, a la luz de la precisión del método en cuestión. Una dificultad para juzgar la exactitud, es que la única manera de encontrar el valor "verdadero", es empleando otro método de

medición. Presumiblemente, este método debería ser de gran precisión y exento de desviaciones (Grant, 1984).

$$\text{índice de precisión} = \{ \langle [(X_1 - X_2) / X_t * 100] / CV \rangle * 100$$

$$\text{índice de exactitud} = \{ \langle [(X_1 - X_t) / X_t * 100] / CV \rangle * 100$$

donde X_1 , X_2 son valores (resultados) sucesivos y X_t es el valor verdadero conocido.

índice de varianza. Es un cálculo que se obtiene a partir de los datos recopilados de los laboratorios participantes, para una determinación en particular.

Una definición formal del IV (índice de varianza), tal como se utiliza en el control interlaboratorios, sería "la diferencia entre el resultado obtenido por un laboratorio participante y la media calculada, expresada en porcentaje de la media, dividido entre el coeficiente de variación seleccionado para la determinación en cuestión y multiplicando la cifra resultante por 100". Se ignora el signo de la cifra (Vargas, 1989).

$$V = (X - \bar{X}) / \bar{X} * 100$$

$$IV = (V) / (CVS) * 100$$

donde: V es la variación porcentual

IV es el índice de varianza

CVS es el coeficiente de variación seleccionado

Puntuación del índice de varianza (P.I.V.).

$$P.I.V = \{ \langle [(X_{verd.} - X_{obt.}) / X_{verd.}] * 100 \rangle / CVS \} * 100$$

donde: $X_{verd.}$ = valor verdadero

$X_{obt.}$ = valor obtenido

CVS = coeficiente de variación seleccionado

2. TECNICAS DE CONTROL DE CALIDAD UTILIZADAS EN EL LABORATORIO CLINICO

Las técnicas de control de calidad se utilizan para evaluar la variación a la que un resultado observado estaría sujeto y también para determinar su precisión y exactitud. Al hacer tales observaciones, el procedimiento usual es el de analizar el mismo material cada día durante un periodo de tiempo largo y comparar los resultados. A lo largo de dichos periodos, puede haber alteraciones en la exactitud y/o precisión de la técnica (Whitehead, 1987).

Pueden aplicarse múltiples técnicas estadísticas diferentes con el fin de ayudar a decidir si un estudio analítico esta o no bajo control. Una de las dificultades para los analistas consiste en evaluar las ventajas y desventajas relativas de diferentes técnicas de control y, en consecuencia, en la capacidad de seleccionar las técnicas de control (Bernard, 1990).

2.1. VARIANZA BAJO CONDICIONES OPTIMAS (VCO)

Al considerar un método analítico, la primera etapa es la determinación de la varianza bajo condiciones óptimas (VCO). A este nivel, el objetivo es tratar de repetir los análisis en las condiciones operatorias lo más ideales y constantes posibles, de ahí el término "condiciones óptimas".

Es recomendable determinar la VCO realizando aproximadamente 20 análisis en el mismo material.

Todas las medidas preventivas pertinentes necesitan ser aplicadas rígidamente. La siguiente lista de tales medidas no es ni apropiada ni completa para todos los procedimientos de laboratorio, pero debería ser utilizada como guía al efecto.

- Utilizar el mismo aparato para todas las mediciones
- Utilizar reactivos recientes y comprobados

- Practicar los análisis en el menor tiempo posible
- Controlar cuidadosamente la temperatura y el tiempo a fin de evitar la luz excesiva
- Comprobar las lecturas en los instrumentos y cálculos
- Asegurarse de mezclar apropiadamente todos los reactivos
- Utilizar personal con experiencia

2.11 UTILIDAD DE LOS RESULTADOS DE LA VCO

Continuando con la exposición inicial sobre la VCO, después de haber realizado aproximadamente 20 análisis, los cálculos estadísticos adicionales están indicados: la desviación típica de los resultados se calcula y se hace una gráfica con los resultados, en el orden en que se obtuvieron los mismos.

Dicha gráfica podría aportar ya una información valiosa acerca del método analítico en esta fase temprana.

Considerando la distribución de los análisis individuales que conlleva el cálculo de la VCO, se cuenta con un ejemplo útil de la estadística de Gauss.

2.12. DISTRIBUCION NORMAL O DE GAUSS.

Debido a la varianza inherente a los métodos analíticos, si el analista realiza un análisis en el mismo material varias veces y elabora un histograma de frecuencias de los resultados, obtendrá una distribución de los resultados alrededor de un valor medio. Generalmente, la distribución de los resultados será simétrica a ambos lados de la media y la distribución tendrá una forma bien definida con aspecto de campana. Aproximadamente un 66% de todas las observaciones de la variable estarán dentro de ± 2 DS y sólo un 0.25% de los resultados estarán fuera de ± 3 DS. Por lo tanto, cualquier resultado más allá de ± 3 DS será excepcional, que deberá sospecharse acerca de su validez y deberá ser considerado, por lo menos, como una equivocación.

8

VARIANZA EN CONDICIONES OPTIMAS (VCO)

1. Grafique los resultados siguientes obtenidos en condiciones óptimas con un suero control.

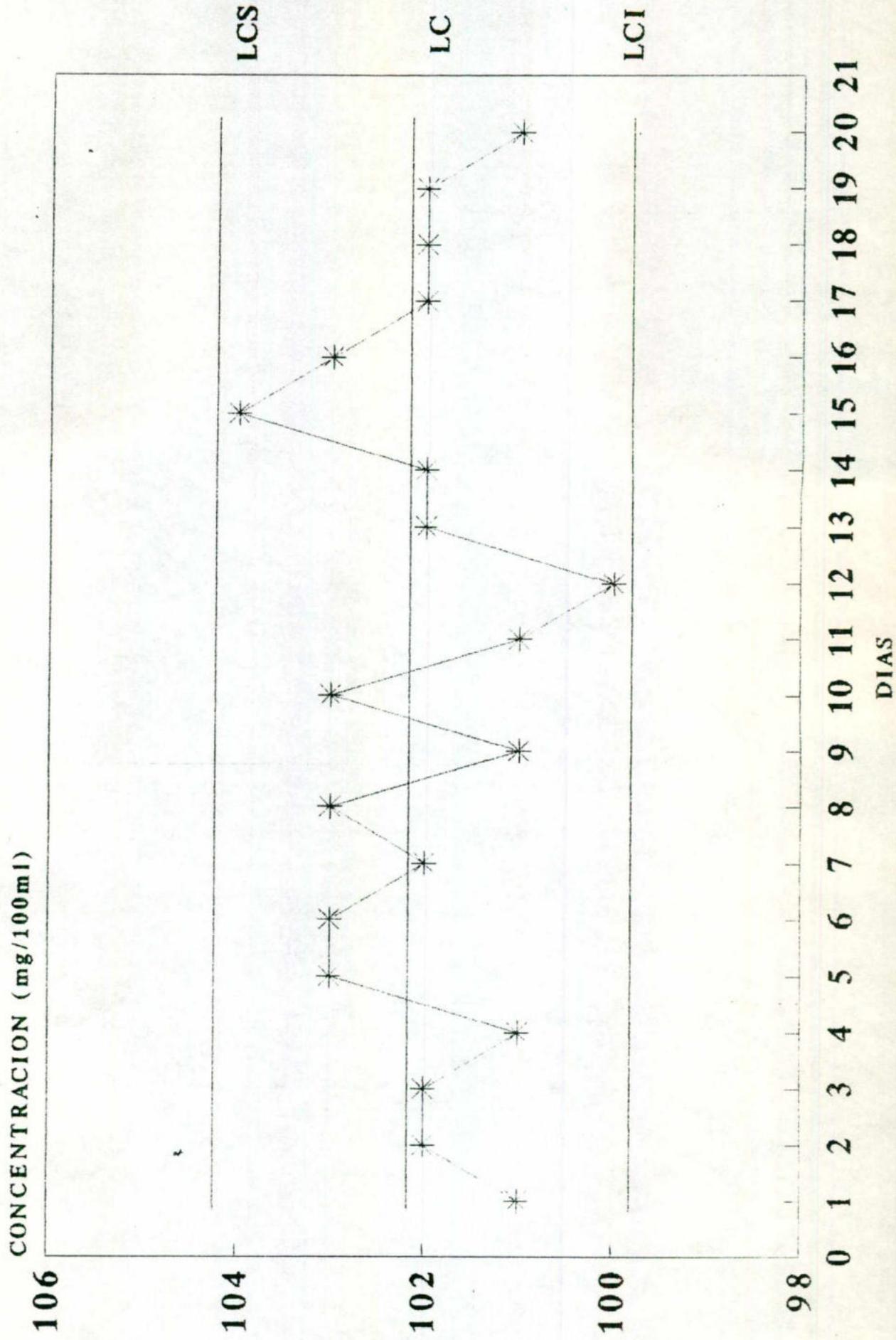
Observación	Resultado.
1	101
2	102
3	102
4	101
5	103
6	103
7	102
8	103
9	101
10	103
11	101
12	100
13	102
14	102
15	104
16	103
17	102
18	102
19	102
20	101

Calcule la media, y la desviación estándar.

$$\bar{x} = 102 \quad DS = 0.97 \quad CV = 0.95\%$$

EJEMPLO DE UNA CARTA DE VCÓ

Det. de glucosa en un suero control



Se observa un comportamiento normal dado que los puntos se distribuyen de manera homogénea hacia ambos lados de la línea central y no se observan series consecutivas de puntos hacia un solo lado de la línea central, además, ningún punto cae fuera de los límites establecidos (Grant, 1984).

2.2. VARIANZA EN CONDICIONES DE RUTINA. (VCR).

2.2.1. VARIANZA BAJO CONDICIONES DE RUTINA (VALORES CONOCIDOS).

Las variaciones en los resultados de un método deben evaluarse bajo las condiciones rutinarias en el uso de dicha técnica. Al concepto estadístico empleado para evaluar estas variaciones se le denomina "varianza en condiciones de rutina" (VCR). En esta etapa, la VCR se determina utilizando el material que se empleó previamente para evaluar la VCO. El valor esperado es conocido por el técnico y, por tanto, será la varianza bajo condiciones de rutina para valores conocidos (VCRC).

Deben emplearse miembros del personal que vayan a realizar la prueba rutinariamente. Necesitan familiarizarse con la técnica antes de evaluar la VCR.

El método analítico ha de comunicarse por escrito en la forma en que se haya establecido para su uso rutinario.

Los análisis deben realizarse durante un periodo de tiempo que, obviamente, variará de acuerdo a los diferentes métodos.

Deben obtenerse aproximadamente 20 valores. El material de control ha de colocarse en serie, pero no en posiciones pre-establecidas, tales como próximas a los patrones.

Grafica de resultados. Se calcula la media y la desviación típica de los resultados, colocándose a continuación en la gráfica de VCO, pero con líneas de la desviación típica modificadas en relación a la DS de la VCRC. En las abcisas se aconseja situar las fechas y días.

Los valores medios de la VCO y la VCRC deberían ser los mismos; si son diferentes, la exactitud del método se ha alterado.

La gráfica debiera estudiarse para apreciar si ha ocurrido alguna diferencia en los resultados.

Grafique las cartas de control con los resultados siguientes de VCR (valores conocidos) discuta los resultados.

VCR (valores conocidos)

Observación	I Resultado	II Resultado	III Resultado
1	103	100	102
2	103	102	101
3	102	98	100
4	105	101	102
5	103	106	103
6	102	105	105
7	104	102	103
8	100	102	101
9	103	101	104
10	99	101	103
11	101	98	104
12	102	102	104
13	105	104	103
14	104	106	105
15	102	102	105
16	101	98	104
17	101	99	105
18	101	104	104
19	104	102	105
20	100	98	104

Calcule la media y desviación estándar en cada caso.

I $\bar{x} = 102.20$ DS = 1.68

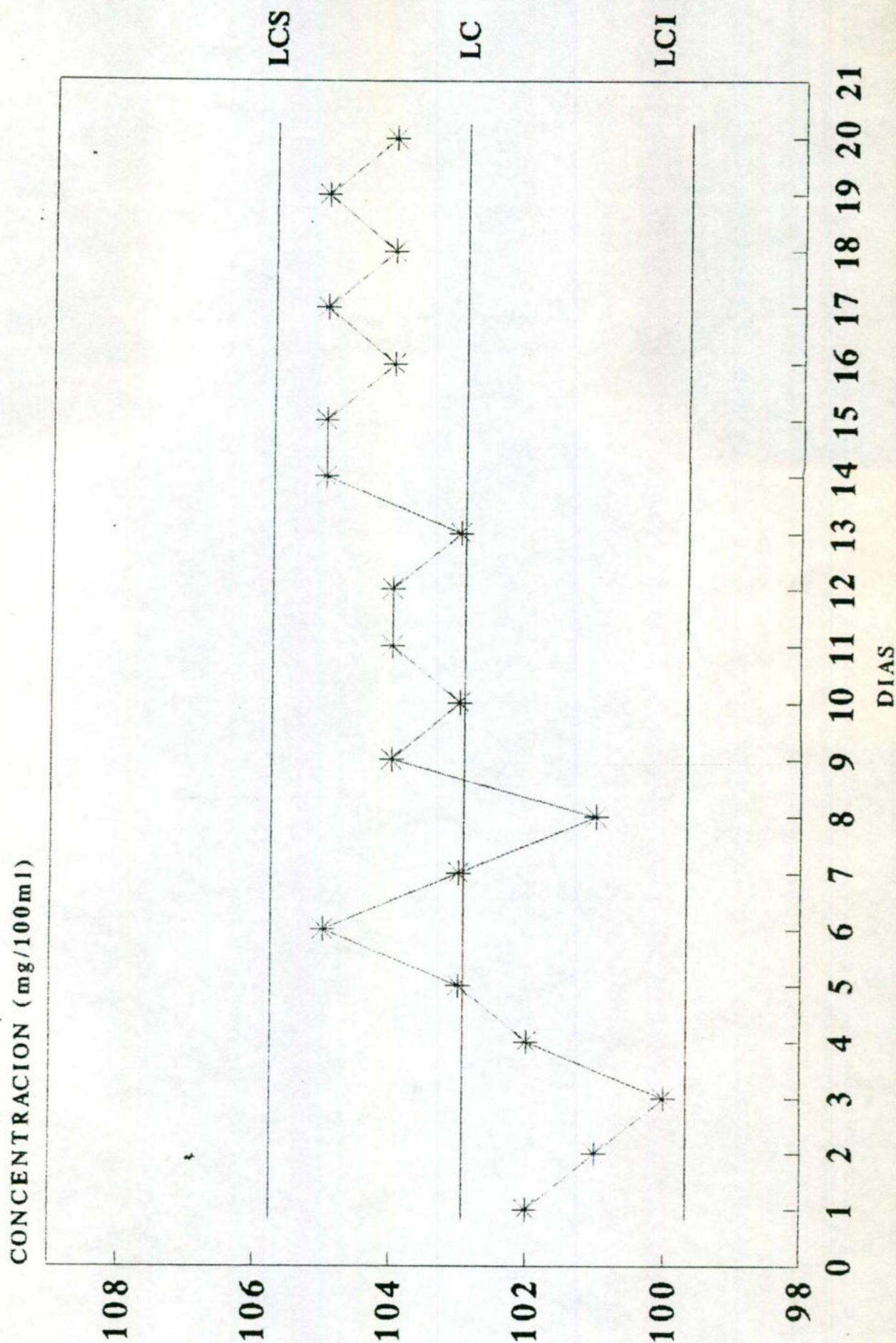
II $\bar{x} = 101.5$ DS = 2.56

III $\bar{x} = 103.10$ DS = 1.53

En esta gráfica, aunque no se observan puntos fuera de los límites ni series de puntos hacia un solo lado de la línea central, la forma de la gráfica nos indica una posible ciclización. La ciclización puede deberse, en general, a cambios cíclicos en las condiciones de reacción, a rotación de analistas o cambios en los reactivos utilizados.

(Grant, 1984).

CARTA No.3 VCR (VALORES CONOCIDOS)
Det. de glucosa en un suero control

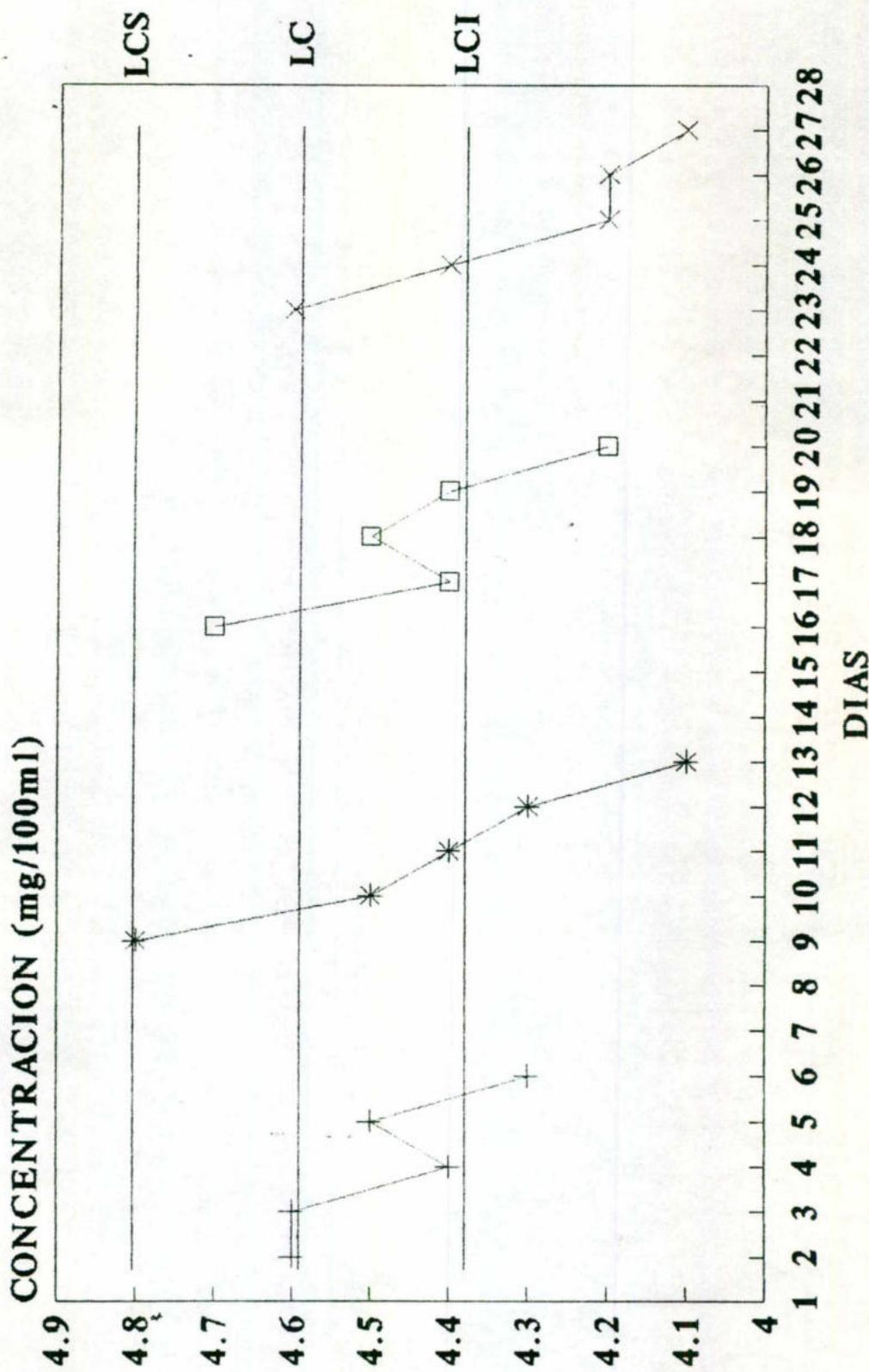


En esta carta se observa una tendencia ascendente o un cambio gradual de nivel. Lo cual puede deberse a un mayor cuidado o habilidad por parte del analista o introducción gradual de nuevos reactivos (Grant, 1984).

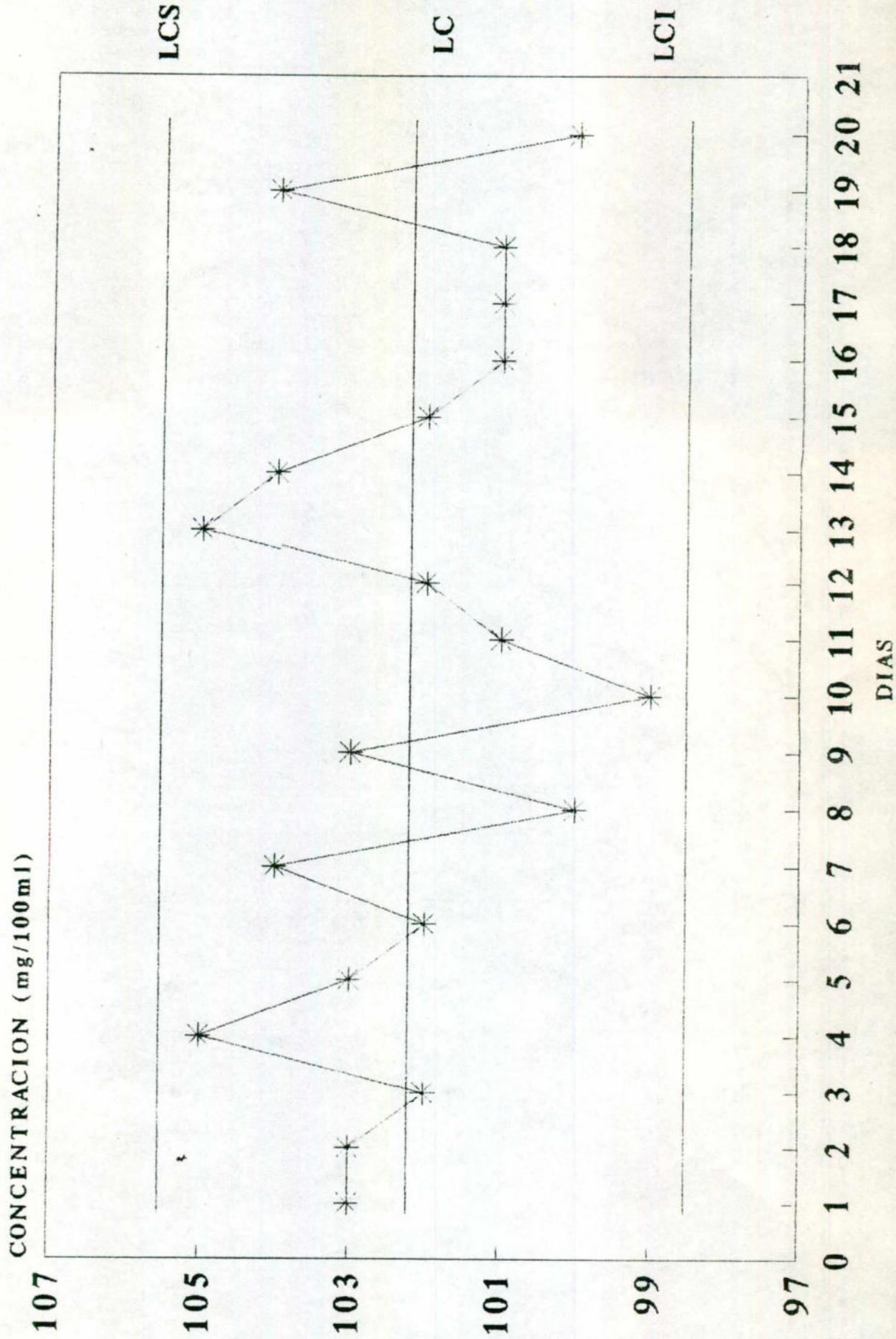
Los resultados siguientes corresponden a la valoración de bilirrubina utilizando un suero control. Cada lunes se reconstituyó un frasco, y se está trabajando sobre la varianza en condiciones de rutina (VCR) con valores conocidos. Grafique los resultados en forma seriada, considerando que la media de la VCO fue 4.6 mg/100 ml, y la DS = ± 0.1 mg/100 ml.

FECHA	DIA	BILIRRUBINA mg/100 ml
2	L	4.6
3	M	4.6
4	M	4.4
5	J	4.5
6	V	4.3
9	L	4.8
10	M	4.5
11	M	4.4
12	J	4.3
13	V	4.1
16	L	4.7
17	M	4.4
18	M	4.5
19	J	4.4
20	V	4.2
23	L	4.6
24	M	4.4
25	M	4.2
26	J	4.2
27	V	4.1

**CARTA No. 4 VCR (VALORES CONOCIDOS)
DET. DE BILIRRUBINA EN UN SUERO CONTROL**



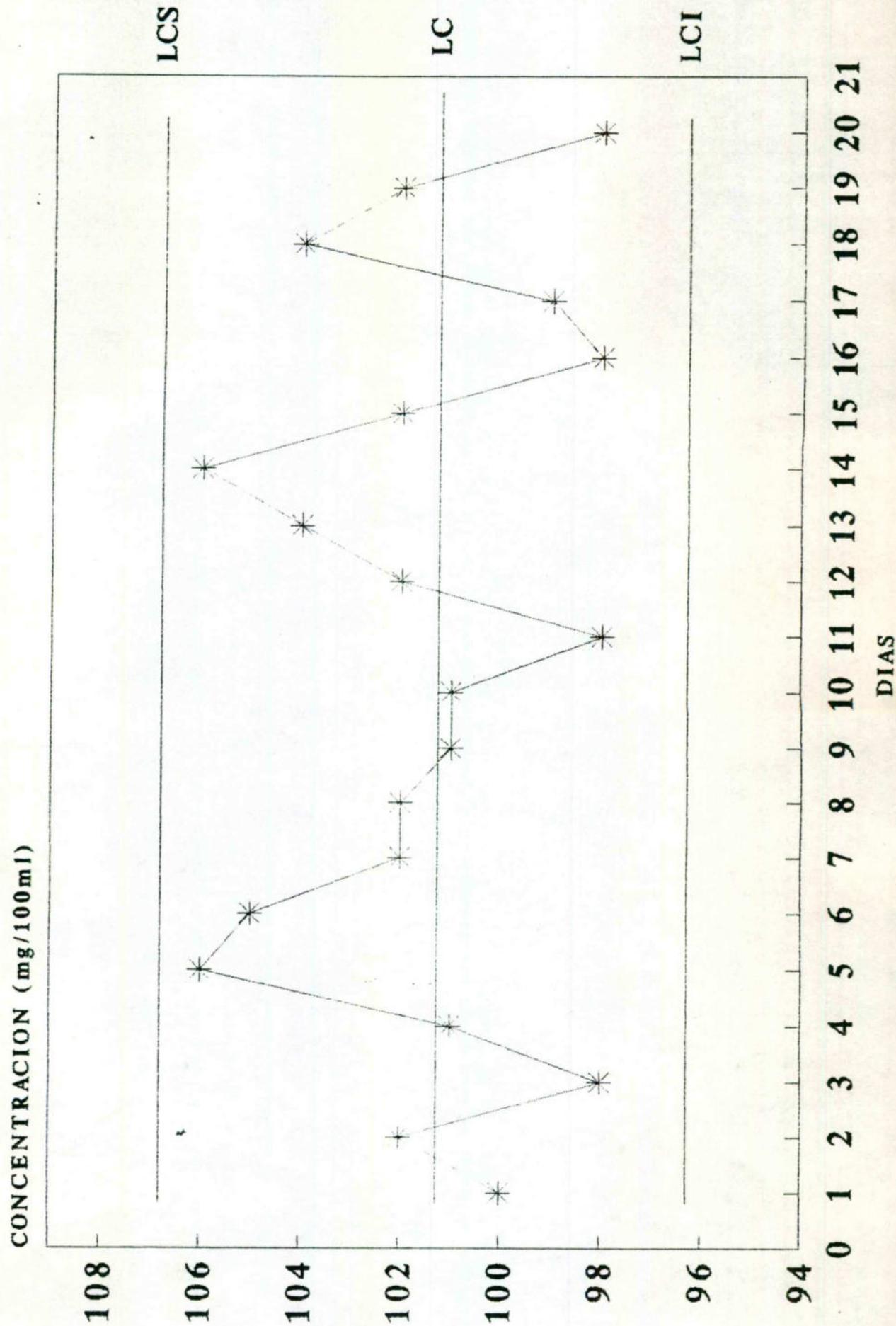
CARTA No.1 VCR (VALORES CONOCIDOS)
Det. de glucosa en un suero control



Se observa un comportamiento normal dado que los puntos se distribuyen de manera homogénea hacia ambos lados de la línea central y no se observan series consecutivas de puntos hacia un solo lado de la línea central, además ningún punto cae fuera de los límites establecidos (Grant, 1984).

CARTA No.2 VCR (VALORES CONOCIDÓS)

Det. de glucosa en un suero control



En esta gráfica se observa una tendencia descendente para las cuatro series de puntos, la cual se explica de la siguiente manera:

Al destapar el estándar, éste se pone en contacto con la luz con lo cual se empieza a degradar gradualmente la bilirrubina, de manera que esto se ve reflejado en la cantidad de bilirrubina detectada (Grant, 1984)

2.2.2. VARIANZA BAJO CONDICIONES DE RUTINA (VALORES DESCONOCIDOS).

El control de calidad de los resultados de un método analítico involucra dos puntos importantes, el uso del material de control a más de una concentración y el asegurarse de que los valores son desconocidos para el técnico. Por estas razones, a estos métodos se les conoce como varianza bajo condiciones de rutina en valores desconocidos (VCRD). El material de control no debe recibir tratamiento especial por parte del personal de laboratorio, pero esto podría suceder; por lo cual, en etapas posteriores se utilizaran otros métodos de control de calidad.

El material debe intercalarse en forma aleatoria en las series analíticas.

Elección del material de control. Existe una amplia variedad de preparaciones de control comerciales disponibles. La mayoría se presentan en forma liofilizada, requiriendo su reconstitución antes de su análisis y unas pocas se hallan disponibles en forma líquida. Es importante considerar la posibilidad de varianza entre los distintos niveles del material liofilizado.

La evidencia reciente indica que hoy en día la mayor parte de los fabricantes son capaces de medir y liofilizar el material con una precisión superior a un $CV \pm 1\%$.

Valor asignado. El término de "valor asignado" se utiliza para describir la concentración de una sustancia en particular, en un material de control, cuando aún no se ha demostrado que dicho valor es el correcto.

Registro de resultados de diferentes materiales de control en la misma gráfica. En estas técnicas se utilizan diferentes materiales de control. Si se prepara una gráfica de control

para cada material por separado, el número de gráficas sería considerable, aparte de dificultar la información combinada entre las distintas gráficas de control.

Un modo de reducir el número de gráficas es incorporar, en una misma gráfica, los resultados de los diferentes materiales utilizados. Este paso no se realiza representando en la gráfica el valor observado, sino más bien utilizando el valor que expresa la desviación porcentual del valor idealmente correcto.

Esta sería la variación porcentual (V):

$$V = [(V_o - V_c) / V_c] * 100$$

donde: V_o = valor observado

V_c = valor correcto o asignado

Se utilizan tres sueros control para controlar una determinación de suero hipotético. Se conocen los valores correctos de los tres sueros. Cada día se analiza uno de los tres sueros y el valor V se calcula y se representa en la gráfica. Se utiliza un símbolo diferente para cada uno de los tres sueros. Deben buscarse las desviaciones y las distribuciones típicas.

DETERMINACION DE LA VARIANZA EN CONDICIONES DE RUTINA (VCR)
(VALORES DESCONOCIDOS).

Grafique las cartas de control para las tres sustancias siguientes, para el cálculo de varianza en condiciones de rutina (valores desconocidos), y discuta sobre ellas.

Los valores de referencia para los cuatro sueros control usados se indican en las tablas siguientes, y se indican los límites permisibles en cada caso.

CARTA 1

DIA	SUERO	RESULTADO	INDICE DE VARIANZA
1	A	50	0
2	B	203	0
3	C	70	-11.4
4	D	239	2.13
5	A	52	4
6	B	200	-1.477
7	C	72	-8.86
8	D	232	-0.854
9	A	48	-4.0
10	B	203	0
11	C	68	-13.92
12	D	234	0
13	A	52	-4
14	B	202	-0.492
15	C	71	-10.13
16	D	240	-2.56
17	A	48	-4.0
18	B	203	0
19	C	66	-16.45
20	D	239	2.13

Límites permisibles: $\pm 8.0\%$ de error

VALORES DE REFERENCIA.

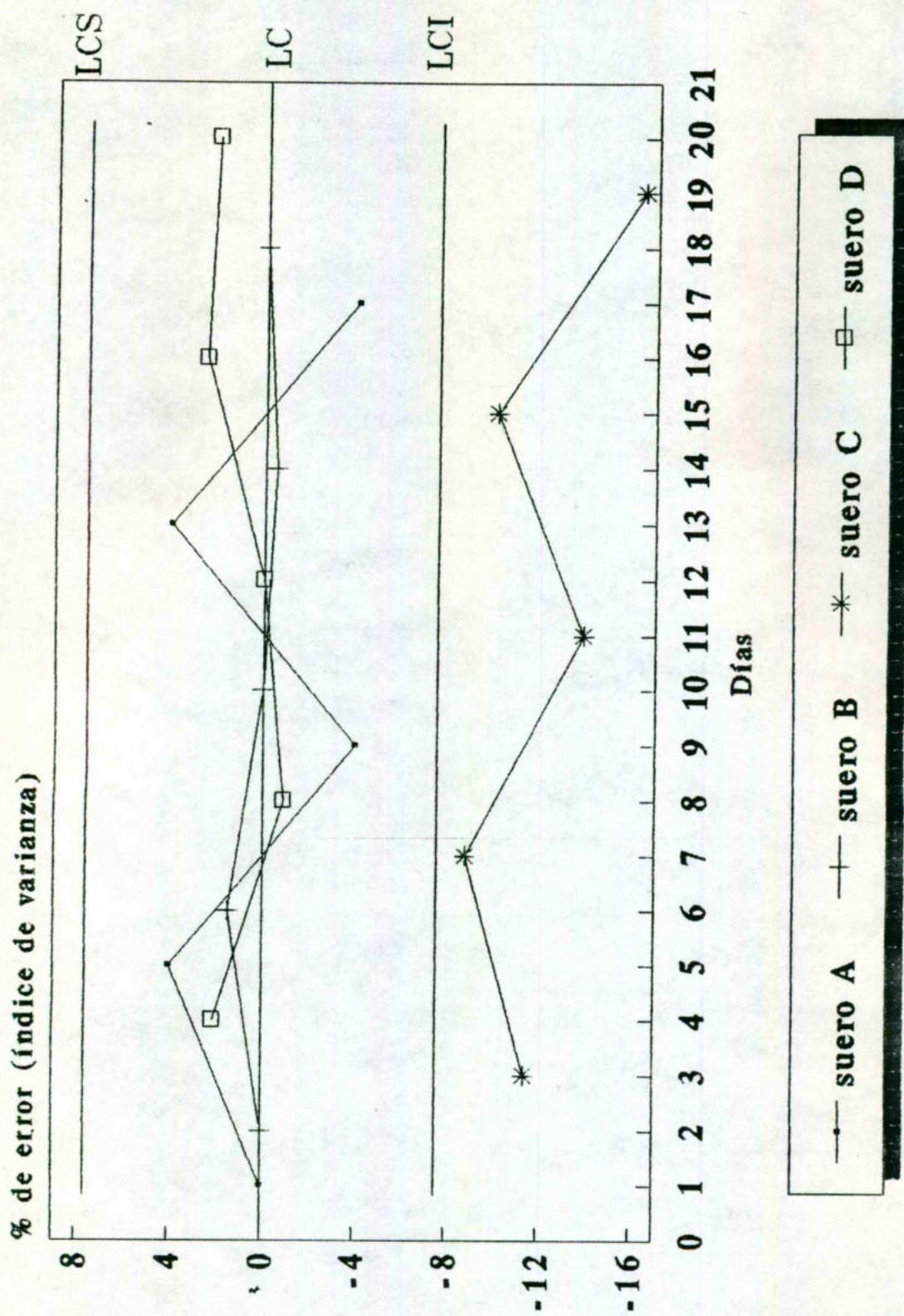
Suero A = 50

Suero B = 203

Suero C = 79

Suero D = 234

CARTA No. 1 VCR (valores desconocidos)



Este es un ejemplo de cómo se pueden graficar varias series de datos en una misma gráfica. En esta gráfica se observa que los valores del suero C se encuentran fuera de los límites establecidos.

Aparte de esto se observa, para el suero A, una ciclización de los puntos lo cual ya se ha explicado anteriormente. Del suero C se puede decir que los datos obtenidos corresponden a una distribución distinta a los datos de los demás sueros, es decir, la concentración del suero C es distinta (Grant, 1984).

CARTA 2

ÐIA	SUERO	RESULTADO	INDICE DE VARIANZA
1	A	7.0	0
2	D	4.6	2.22
3	C	8.1	-1.22
4	A	6.9	-1.43
5	B	5.6	0
6	B	5.6	0
7	C	8.3	1.22
8	D	4.5	0
9	C	8.1	-1.22
10	A	7.2	2.83
11	B	5.6	0
12	D	4.4	-2.22
13	A	7.1	1.43
14	B	5.5	-1.78
15	C	8.2	0
16	D	4.5	0
17	B	5.7	1.78
18	C	8.0	-2.44
19	A	7.0	0
20	D	4.6	2.22

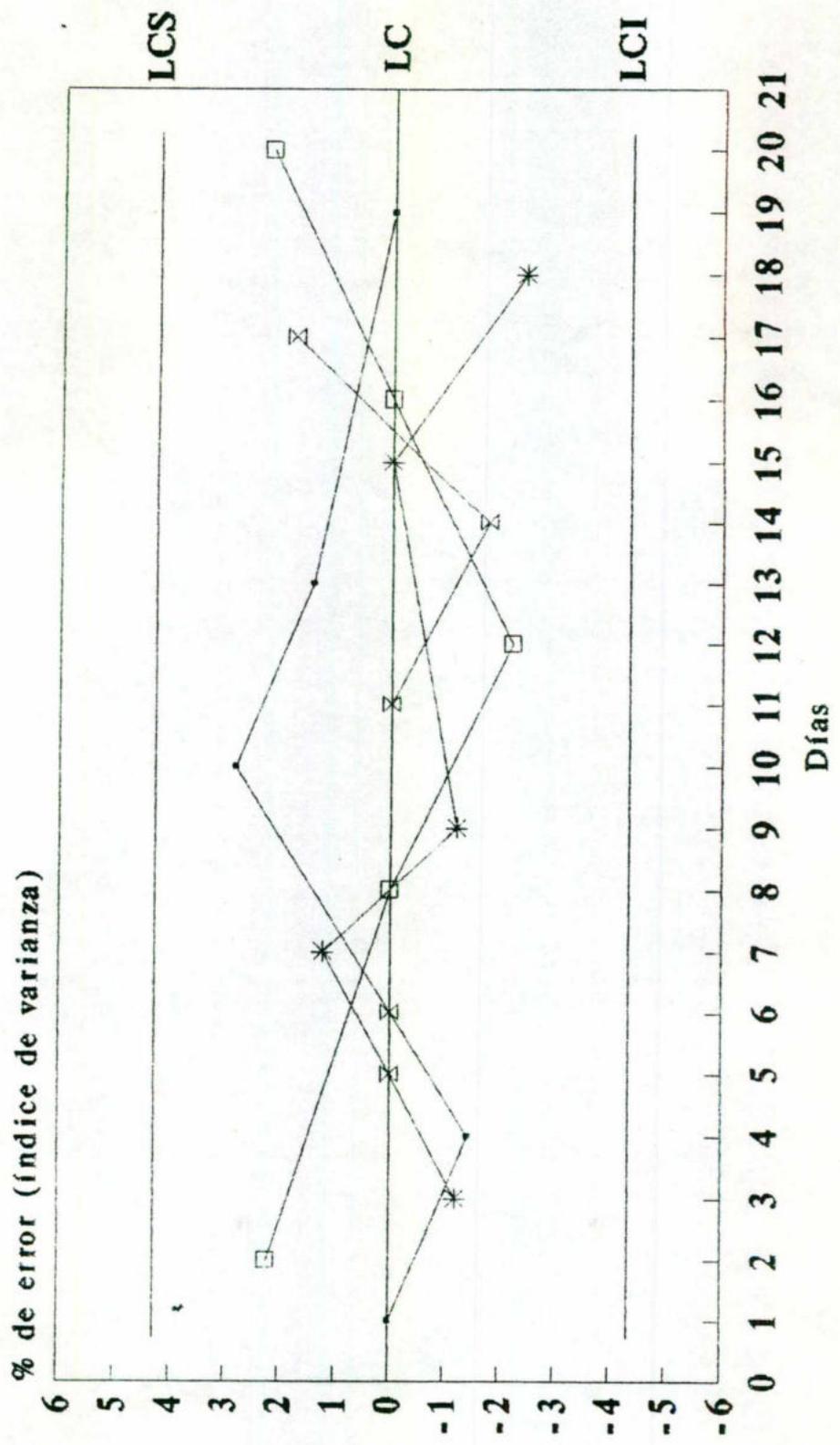
LIMITES PERMISIBLES. $\bar{x} \pm 4.0\%$ de error

VALORES DE REFERENCIA

Suero A = 7.0 Suero B = 5.6

Suero C = 8.2 Suero D = 4.5

CARTA No.2 VCR (valores desconocidos)



---●--- suero A ---×--- suero B ---*--- suero C ---□--- suero D

En esta ocasión se grafican varias series de datos en una sola carta. Aunque se observa que ninguno de los puntos cae fuera de los límites. Se observa para el suero D una tendencia descendente hasta la tercera determinación. A partir de estos valores se observa una tendencia ascendente, sin embargo, son pocos datos para decidir si en realidad existe inestabilidad de los mismos, las demás series de datos aparentemente se encuentran bajo control (Grant, 1984).

CARTA 3

DIA	SUERO	RESULTADO	INDICE DE VARIANZA
1	A	9.4	-2.08
2	B	13.2	1.54
3	C	7.8	-2.56
4	D	10.8	54.3
5	B	13.2	1.54
6	A	9.5	-1.04
7	C	7.9	-1.25
8	D	10.9	55.71
9	C	8.0	0
10	A	9.6	0
11	D	10.7	52.86
12	B	13.4	3.07
13	A	9.7	1.04
14	B	13.5	3.85
15	C	8.2	2.5
16	D	11.0	57.14
17	A	10.0	4.17
18	B	13.3	2.31
19	C	8.1	1.25
20	D	11.1	58.57

LIMITES PERMISIBLES. $\bar{x} \pm 3.5\%$ de error

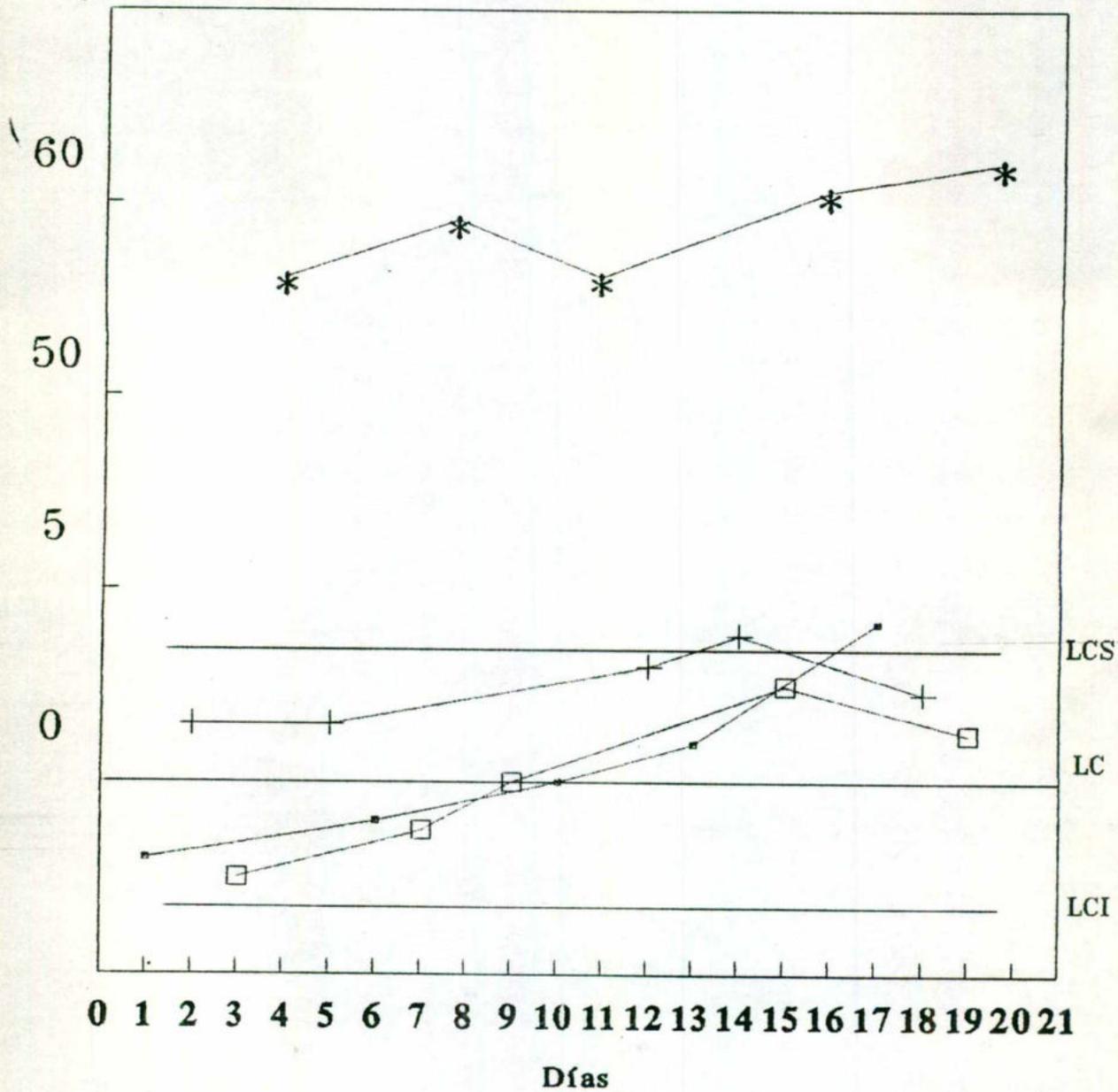
VALORES DE REFERENCIA

Suero A = 9.6 Suero B = 13.0

Suero C = 8.0 Suero D = 7.0

CARTA No. 3 VCR (valores desconocidos)

% de error (índice de varianza)



—●— suero A —+— suero B —□— suero C
 —*— suero D

Las series A, B, y C presentan una tendencia ascendente. Observándose, además, que las series A y B presentan un punto por encima del límite de control superior. La serie D se encuentra completamente fuera de los límites de control (por encima del límite de control superior), por lo tanto, se puede decir que los datos de la serie D pertenecen a una distribución distinta o que la concentración del suero D es mayor a la de los demás sueros (Grant, 1984).

2.2.3. RELACION ENTRE VCO Y VCR.

La varianza bajo condiciones de rutina casi siempre será mayor que la encontrada bajo condiciones óptimas. Una VCR superior se debe, frecuentemente, a la dificultad para mantener las condiciones analíticas estables durante un periodo de tiempo. Para muchas determinaciones en química clínica, la relación entre la VCR y la VCO es generalmente de orden de dos. Una relación elevada es indicativa de que un método analítico será difícil de controlar (Whitehead, 1987).

2.3. SUMAS ACUMULADAS (CUSUM)

Los errores sistemáticos pueden observarse de forma cualitativa notificando el hecho de que los puntos control se dispersan de forma aleatoria alrededor de la media esperada. El recuento de la cifra de observaciones consecutivas que caen de un lado de la media (o de un lado de algún otro límite) aporta otro método de evaluación de los errores sistemáticos. Un método más exacto y cuantitativo consiste en calcular las diferencias reales entre los valores individuales y el valor medio esperado con posterior suma de aquellas diferencias, con el fin de determinar el efecto acumulativo para todas las observaciones de control obtenidas.

Las técnicas que llevan a cabo este proceso se conocen como técnicas de "sumas acumulativas". Fueron introducidas al principio de la década de los 60 por Butart (1964) y han encontrado una amplia aplicación en laboratorios industriales.

Su empleo en laboratorios clínicos ha sido limitado en parte por la necesidad de realizar cálculos especiales antes de ser inspeccionados y en parte por la dificultad en la interpretación del estado de control.

Los valores de suma acumulativa pueden representarse con respecto al tiempo, tal como hemos hecho con otras gráficas de control. Sin embargo, existe una diferencia importante en su

gráfica de control, por cuanto el estado de control se basa generalmente en el ángulo a la pendiente de la línea. Cuando los datos de control se dispersan de forma aleatoria alrededor de su valor medio esperado, el valor de la suma acumulativa oscilará por debajo y por encima de cero, dando una línea horizontal en la gráfica de suma acumulativa. Cuando existe un error sistemático, los valores aumentarán de forma estable. La pendiente de la línea dependerá de la magnitud del error sistemático que se esté produciendo (a mayor error, más agudo será el ángulo de la línea de la suma acumulativa).

Para un determinado nivel, el error será demasiado grande para ser aceptable, y se considerará que el método se halla fuera de control. Así pues, la pendiente constituye el criterio a partir del cual se determina el estado de control.

Con el empleo de las técnicas de suma acumulativa (CUSUM) en el laboratorio clínico, la pendiente de la curva generalmente se evalúa mediante inspección visual. En consecuencia, el criterio resulta cualitativo y difícil de utilizar sobre una base uniforme cuando participan muchos analistas en la evaluación del estado de control. Esta dificultad ha limitado la aplicación del control mediante gráfica de control de suma acumulativa en laboratorios clínicos (Bernard, 1990).

2.3.1. CONSTRUCCION DE GRAFICAS CUSUM.

El cambio en la pendiente es la característica importante de las gráficas de CUSUM. La pendiente real depende del valor seleccionado; a veces, el valor correcto o el valor verdadero puede ser conocido, utilizándose como valor seleccionado. Sin embargo, en muchas ocasiones, se tendrá que utilizar un valor seleccionado arbitrariamente.

Se requiere sumo cuidado en escoger el valor seleccionado. Idealmente, debería ser un valor alrededor del cual los resultados tenderían a caer. Si el valor elegido es muy bajo, la gráfica subirá continuamente y sobrepasará fácilmente el

borde superior del papel de la gráfica. Cuando más próximo se halle el valor a la media general, más fácil será detectar los cambios en la pendiente.

Además de la importancia del valor elegido, las escalas empleadas para representar las gráficas de CUSUM son importantes. Woodward y Goldsith señalan que, si se considera como unidad, la distancia horizontal entre dos puntos trazados, resulta recomendable que la misma distancia en la escala vertical, sea aproximadamente el doble de la desviación típica de la variación a corto plazo de las series. Particularmente en las gráficas de CUSUM de varianza alta, no es fácil establecer tal desviación típica, pero es importante darse cuenta que las escalas elegidas para una gráfica cusum son importantes. La experiencia y experimentación con un método analítico en particular son necesarias (Whitehead, 1987).

La parte más crítica del método de CUSUM es que se tiene que hacer una preparación en cuanto a la sensibilidad para detectar las variaciones restándole importancia a la media, en algunas aplicaciones, se sugiere un control interno no diferenciado como uno de los juicios para aplicación del método, esto es eliminando regiones fuera de la normalidad para que pueda quedar definido. Las recomendaciones para el control de zonas fuera de la normalidad se basan en la facultad de hacer ligeros ajustes sobre los procesos y no sobre el producto, con esto no estaríamos siguiendo las especificaciones límites como comúnmente es aceptado en las gráficas de control, lo cual nos permite un amplio rango sobre el proceso.

La técnica CUSUM se utilizará para muestrear datos en proceso, estos se detectan rápidamente. Nos conciernen, principalmente, junto con el promedio de una corrida de trabajo, el número de muestras antes que aparezcan una señal fuera de control.

Otros procesos de CUSUM utilizados para establecer un control estrecho en la media de un proceso conocido como CUSUM paramétrico puede tener aplicaciones pero lo importante es

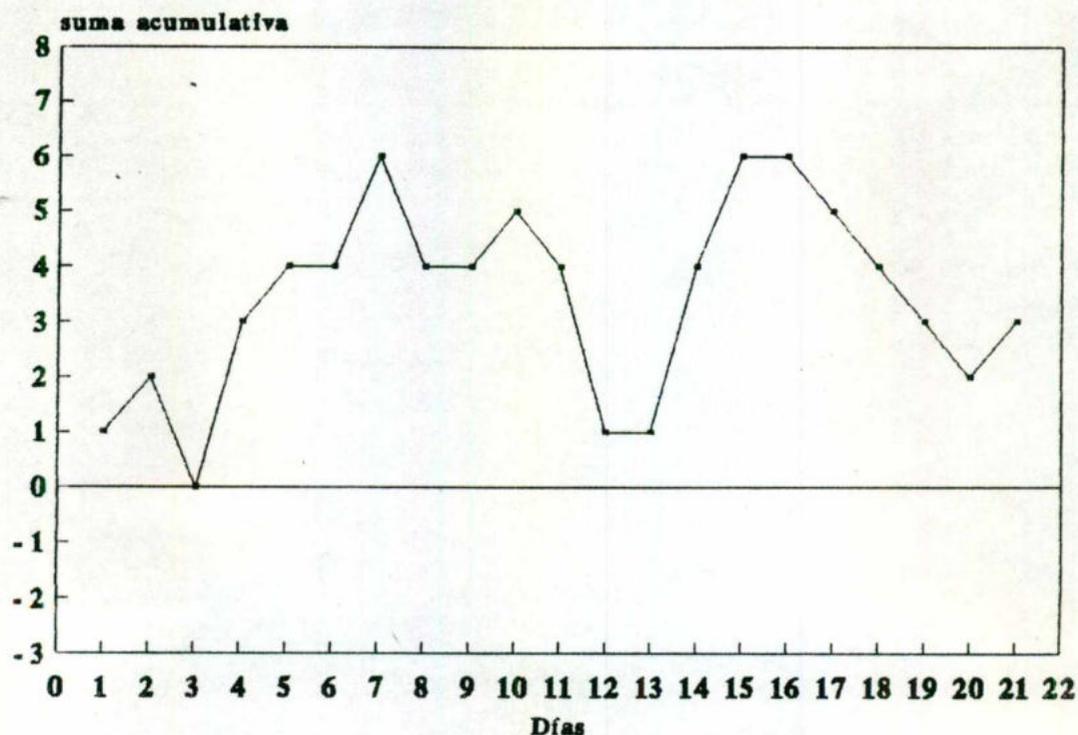
llevar un control de la variabilidad. Las gráficas de CUSUM tienen mucho reconocimiento a la fecha ya que son un instrumento en el control de calidad, el CUSUM paramétrico se utiliza como herramienta básica de la estadística descriptiva, para describir datos que no son necesariamente parejos, formados en serie. Una aplicación reciente a esta es el CUSUM del recurso residual para poder detectar cambios en el régimen de regresión. Lo importante del contexto del control de calidad y el análisis de regresiones es notar la señal fuera de control (Hawkins, 1981).

Comparación de una carta de control convencional y una carta de sumas acumulativas. Determinación de glucosa en un suero control procesado diariamente.

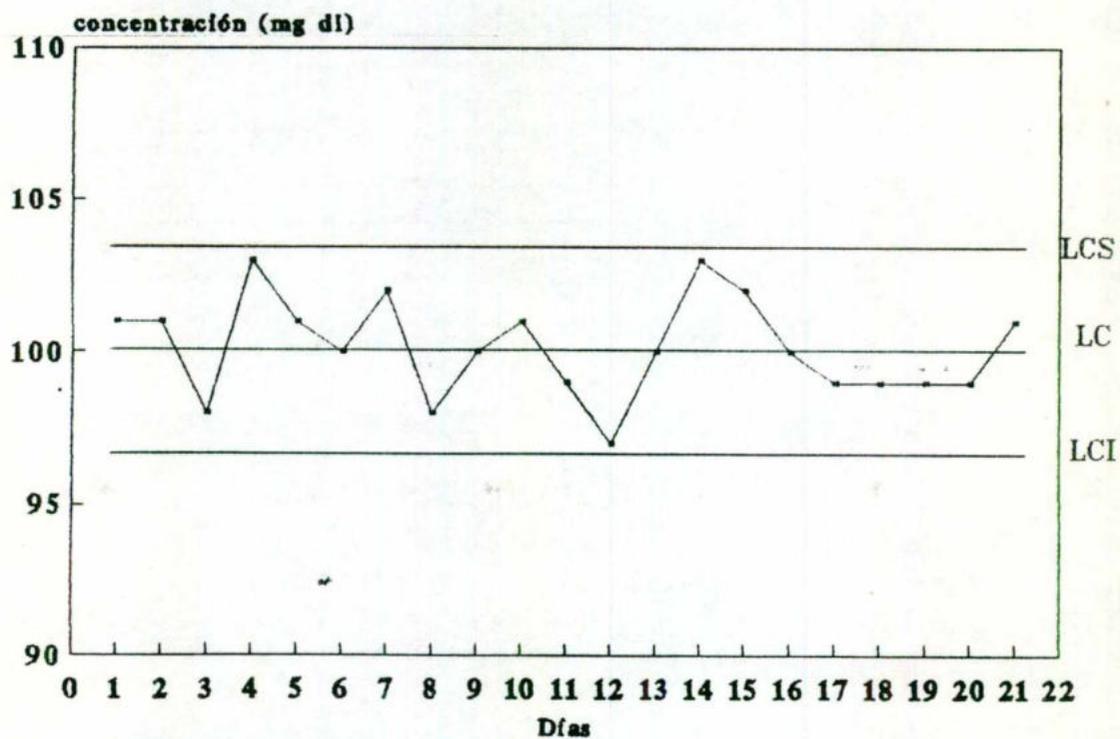
Datos:

Día	Resultado	Diferencia	Suma acumulativa
1	101	+1	1
2	101	+1	2
3	98	-2	0
4	103	+3	3
5	101	+1	4
6	100	0	4
7	102	+2	6
8	98	-2	4
9	100	0	4
10	101	+1	5
11	99	-1	4
12	97	-3	1
13	100	0	1
14	103	+3	4
15	102	+2	6
16	100	0	6
17	99	-1	5
18	99	-1	4
19	99	-1	3
20	99	-1	2
21	101	+1	3

CARTA No. 1 DE SUMA ACUMULATIVA (CUSUM)
Det. de glucosa en un suero control



CARTA DE CONTROL CONVENCIONAL PARA LOS VALORES DE LA CARTA CUSUM ANTERIOR



valor asignado para glucosa=100 mg/dl

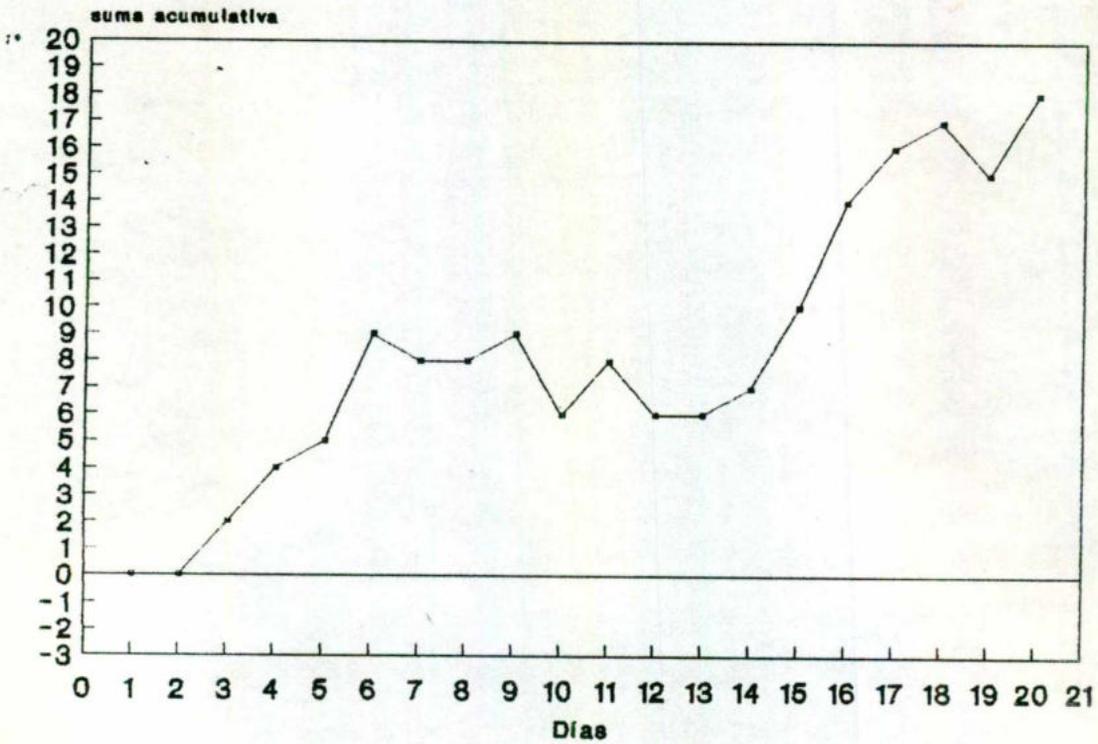
Las gráficas de sumas acumulativas nos sirven para detectar cambios en la calidad, cambios en algún proceso los cuales no son detectables mediante las cartas de control convencional. Aquí se muestra un claro ejemplo de lo anterior ya que si se observa la carta de control convencional se puede concluir que los datos se encuentran bajo control, sin embargo, observando la carta de suma acumulativa se observa que casi todos los puntos caen del lado superior de la línea central o cero lo cual indica que el proceso no está controlado (Grant, 1984).

Comparación de una carta de control convencional y una carta de sumas acumulativas.

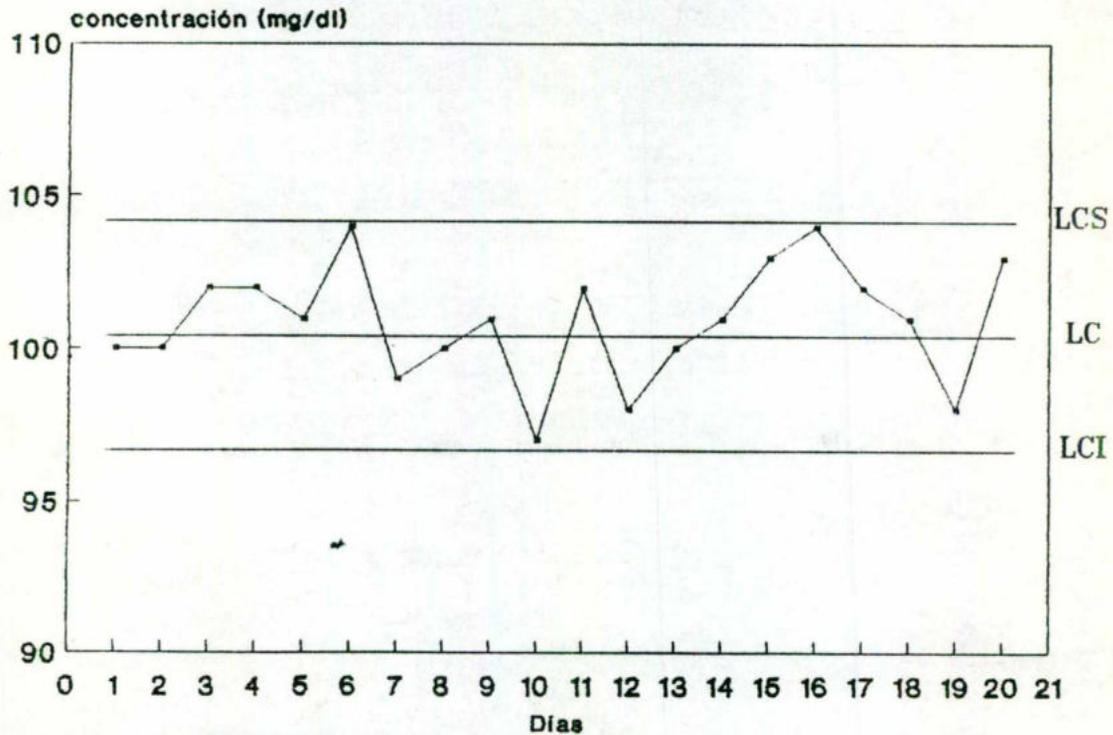
" Determinación de glucosa en un suero control procesado diariamente.

DÍA	RESULTADOS	DIFERENCIA	CUSUM
1	100	0	0
2	100	0	0
3	102	2	2
4	102	2	4
5	101	1	5
6	104	4	9
7	99	- 1	8
8	100	0	8
9	101	1	9
10	97	- 3	6
11	102	2	8
12	98	- 2	6
13	100	0	6
14	101	1	7
15	103	3	10
16	104	4	14
17	102	2	16
18	101	1	17
19	98	- 2	15
20	103	3	18

CARTA No. 2 DE SUMA ACUMULATIVA (CUSUM)
Det. de glucosa en un suero control



CARTA DE CONTROL CONVENCIONAL PARA LOS VALORES DE LA CARTA CUSUM ANTERIOR



valor asignado para glucosa=100mg/dl

En esta comparación se observa claramente como utilizando solo la carta de control convencional podemos concluir, erróneamente, que el proceso se encuentra bajo control. Sin embargo, si observamos la carta de suma acumulativa se nota claramente como a partir del punto número 3 el proceso cae fuera de control (Grant, 1984)

EJERCICIO No. 1

CALIBRACION DE ESPECTROFOTOMETROS EN BASE A LOS PICOS DE MAXIMA ABSORBANCIA Y LOS PUNTOS ISOBESTICOS DE UNA SOLUCION COLORIDA A TRES VALORES DISTINTOS DE pH

OBJETIVO:

El objetivo de esta práctica es calibrar y comparar distintos espectrofotómetros utilizando una solución de rojo de cresol a tres distintos valores de pH, determinando las longitudes de onda de máxima absorbancia y los puntos isobéuticos.

FUNDAMENTO DE LA PRACTICA:

El principio de esta práctica es el hecho de que a valores distintos de pH, las longitudes de onda de máxima absorbancia de la solución de rojo de cresol tiene valores característicos. Por otra parte, los puntos isobéuticos también nos sirven para determinar si un espectrofotómetro está calibrado, ya que son característicos para cada compuesto. Un punto isobéutico corresponde a un valor característico de longitud de onda, al cual dos soluciones equimolares de un mismo compuesto a distintos valores de pH tienen la misma absorbancia.

A través de esta práctica tan sencilla se puede saber como trabaja un espectrofotómetro en comparación con otros, ubicados tanto en el mismo laboratorio como en distintos.

El rojo de cresol (cresol sulfonftaleína) es un indicador sensitivo al pH, que tiene dos virajes de color: uno a un pH de 0-1.0 (rojo a amarillo) y otro a un pH de 7.0-8.8 (amarillo a púrpura). Esto significa que su espectro en la región visible es diferente en solución ácida o alcalina y en el intervalo de pH de 1.0 a 7.0. Esto forma la base de un interesante ejercicio de comparación de espectros bajo dichas condiciones diferentes (Ayres, 1987; Barlandas, 1992).

PROCEDIMIENTO:

Prepare una solución madre al 1 % (p/v) de rojo de cresol, disolviendo 250 mg de rojo de cresol en aproximadamente 10 ml de alcohol y lleve al aforo de 25 ml con agua destilada.

Prepare tres soluciones de 0.0005% de rojo de cresol en ácido, alcali y en buffer pH=4 como sigue:

Añada 100 μ l de la solución madre de rojo de cresol a:

- 1) 100 ml de ácido sulfúrico (500 mmol/L)
- 2) 100 ml de hidróxido de sodio (500 mmol/L)
- 3) 100 ml de solución buffer pH = 4.

Mida la absorbancia de cada solución contra un blanco de agua en un espectrofotómetro utilizando el filtro correspondiente.

Gráfique la absorbancia contra la longitud de onda del filtro para cada solución.

Repita las mediciones utilizando un espectrofotómetro con graficador desde 380 hasta 700 nm o un espectrofotómetro manual midiendo a intervalos de 10 a 20 minutos de 350 a 700 nm.

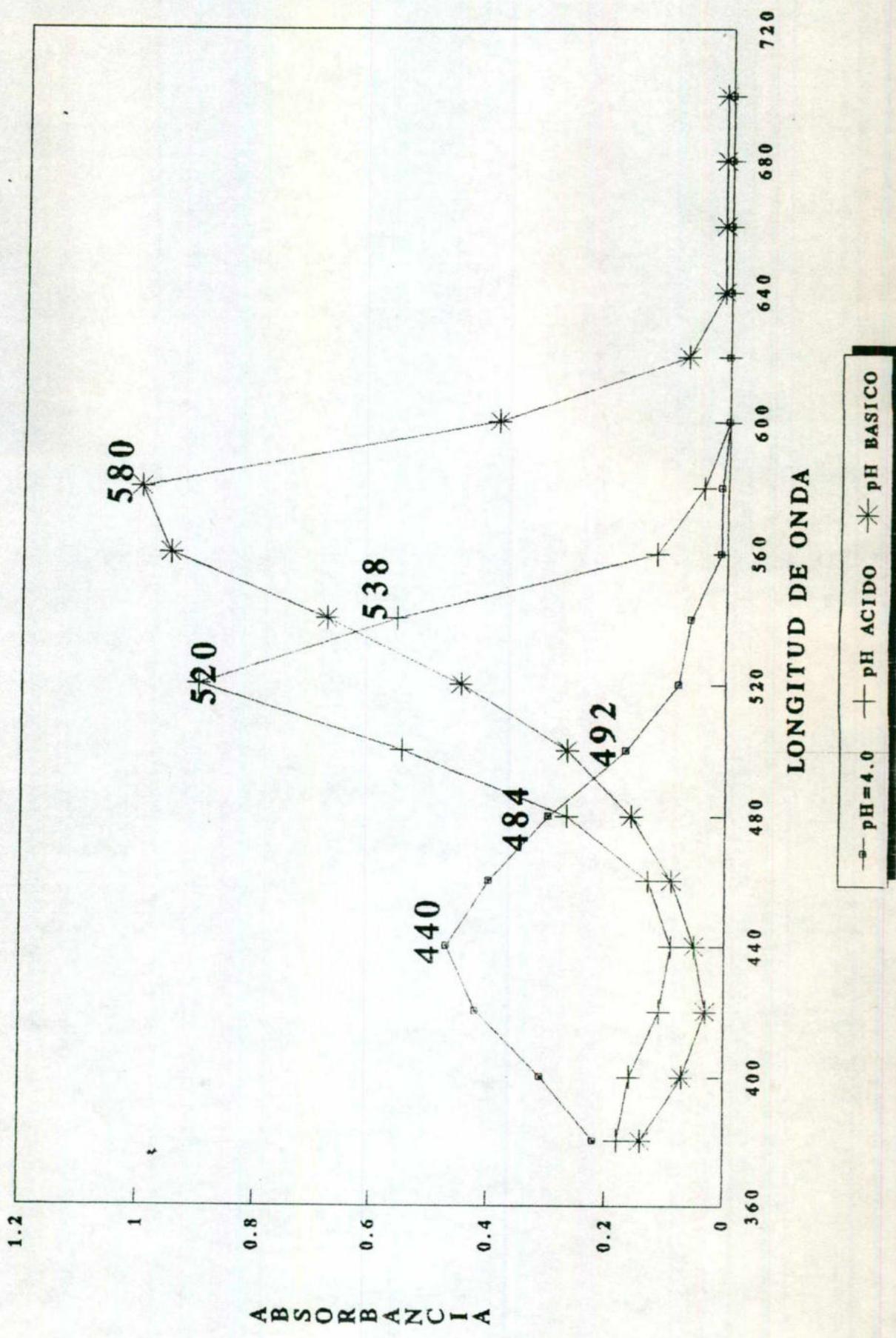
RESULTADOS:

..

Datos obtenidos con el Coleman 2

Longitud de onda	pH=4	pH ácido	pH básico
380	0.22	0.18	0.14
400	0.31	0.16	0.07
420	0.42	0.11	0.03
440	0.47	0.09	0.05
460	0.40	0.13	0.09
480	0.30	0.27	0.16
500	0.17	0.55	0.27
520	0.08	0.90	0.45
540	0.06	0.56	0.68
560	0.01	0.12	0.95
580	0.01	0.04	1.00
600	0.00	0.00	0.39
620	0.00	0.00	0.07
640	0.00	0.00	0.01
660	0.00	0.00	0.01
680	0.00	0.00	0.01
700	0.00	0.00	0.01

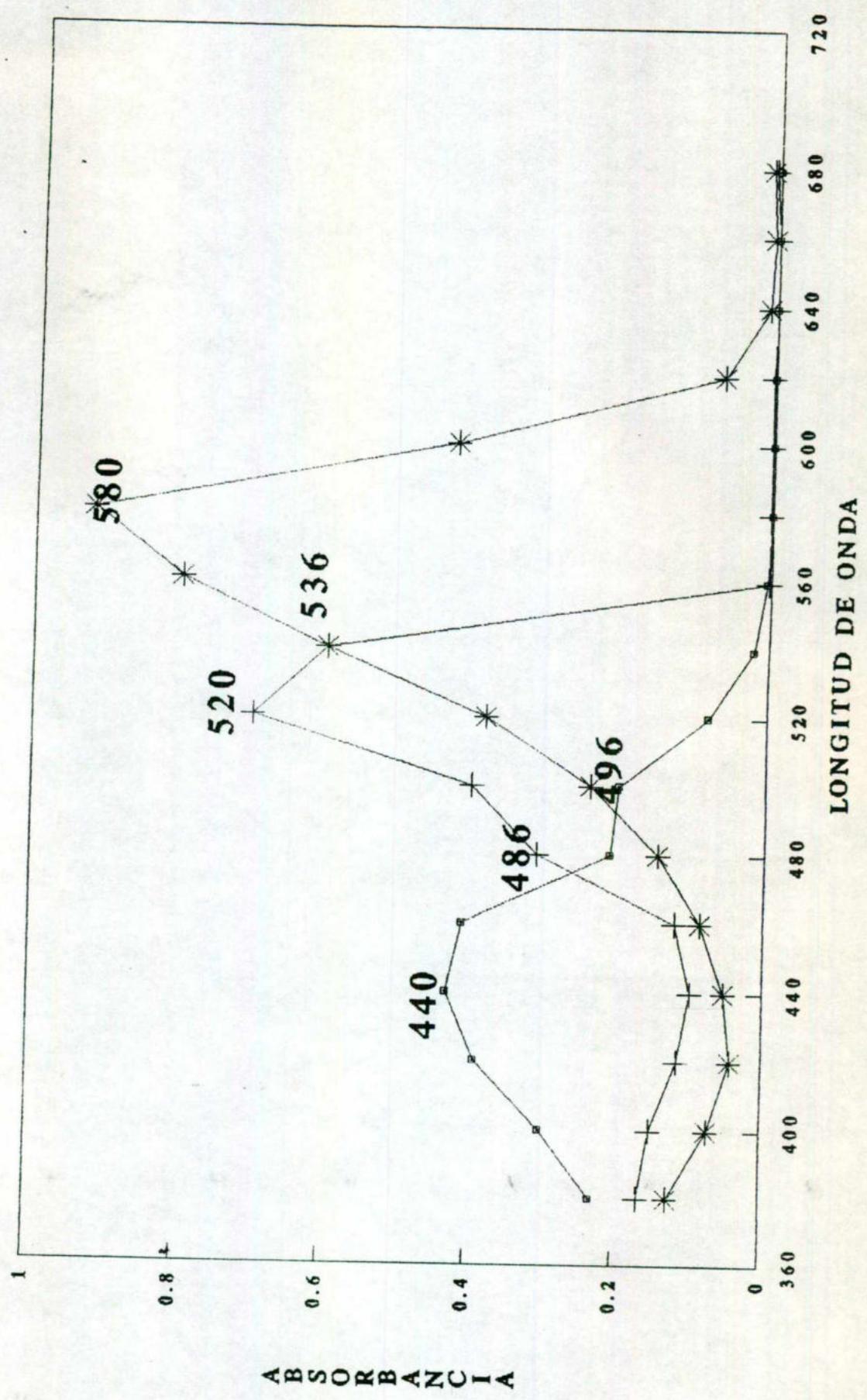
PICOS DE MAXIMA ABSORBANCIA Y PUNTOS ISOBESTICOS OBTENIDOS CON EL COLEMAN 2



Datos obtenidos con el Coleman 3

Longitud de onda	pH=4	pH ácido	pH básico
380	0.230	0.165	0.125
400	0.300	0.150	0.072
420	0.390	0.115	0.042
440	0.430	0.098	0.052
460	0.410	0.120	0.085
480	0.210	0.310	0.145
500	0.200	0.400	0.238
520	0.080	0.700	0.382
540	0.020	0.600	0.600
560	0.005	0.002	0.800
580	0.000	0.002	0.920
600	0.000	0.002	0.428
620	0.000	0.002	0.068
640	0.000	0.000	0.010
660	0.000	0.000	0.005
680	0.000	0.005	0.008

PICOS DE MAXIMA ABSORBANCIA Y PUNTOS ISOBESTICOS OBTENIDOS CON EL COLEMAN 3:

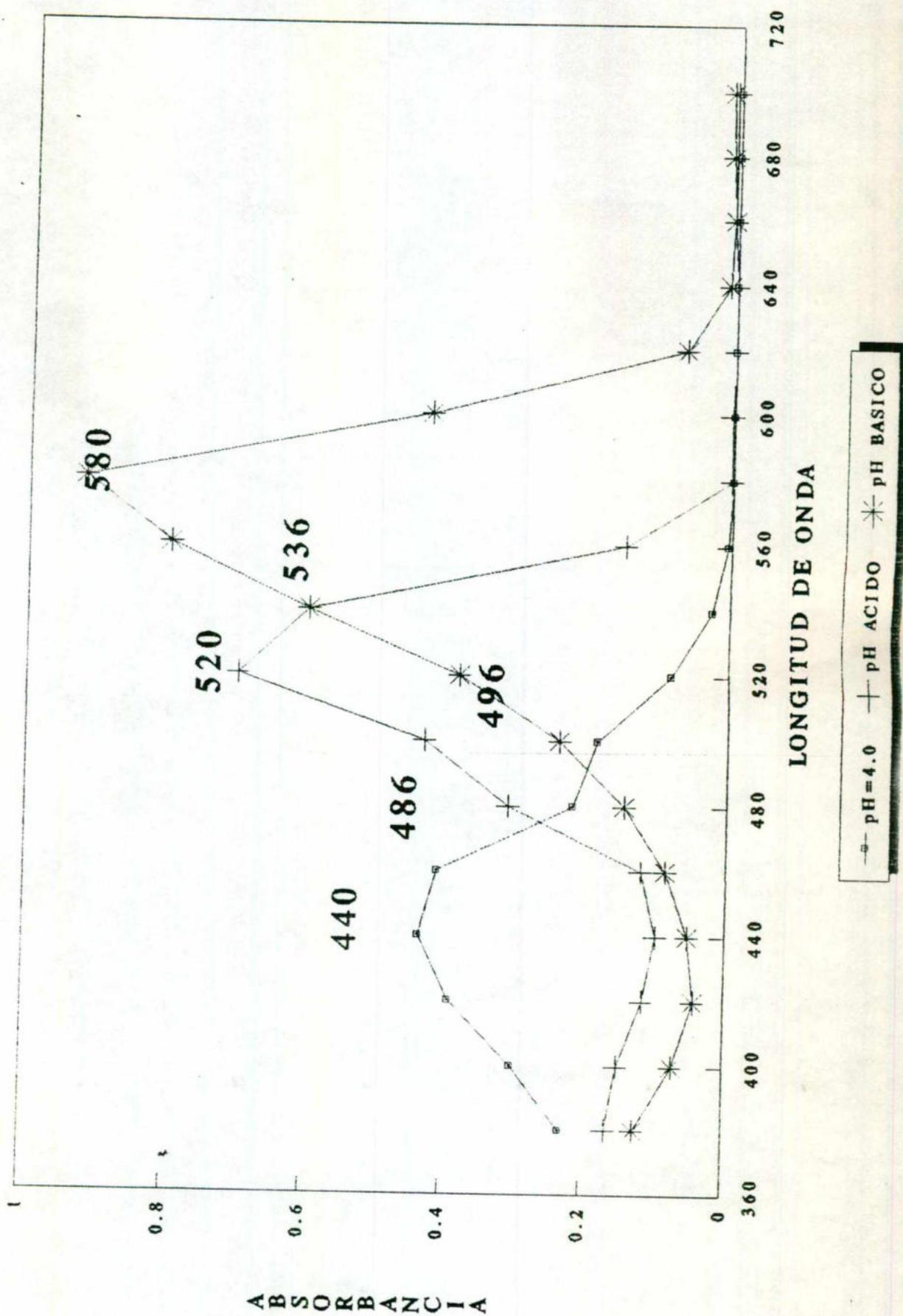


—□— PH=4.0 —+— PH ACIDO —*— PH BASICO

Datos obtenidos con el Coleman 4

Longitud de onda	pH=4	pH ácido	pH básico
380	0.230	0.165	0.125
400	0.300	0.150	0.072
420	0.390	0.115	0.042
440	0.435	0.098	0.052
460	0.410	0.120	0.085
480	0.218	0.310	0.145
500	0.185	0.430	0.238
520	0.082	0.700	0.382
540	0.025	0.600	0.600
560	0.005	0.150	0.800
580	0.000	0.002	0.920
600	0.000	0.002	0.428
620	0.000	0.000	0.068
640	0.000	0.000	0.010
660	0.000	0.005	0.005
680	0.000	0.005	0.008
700	0.000	0.005	0.010

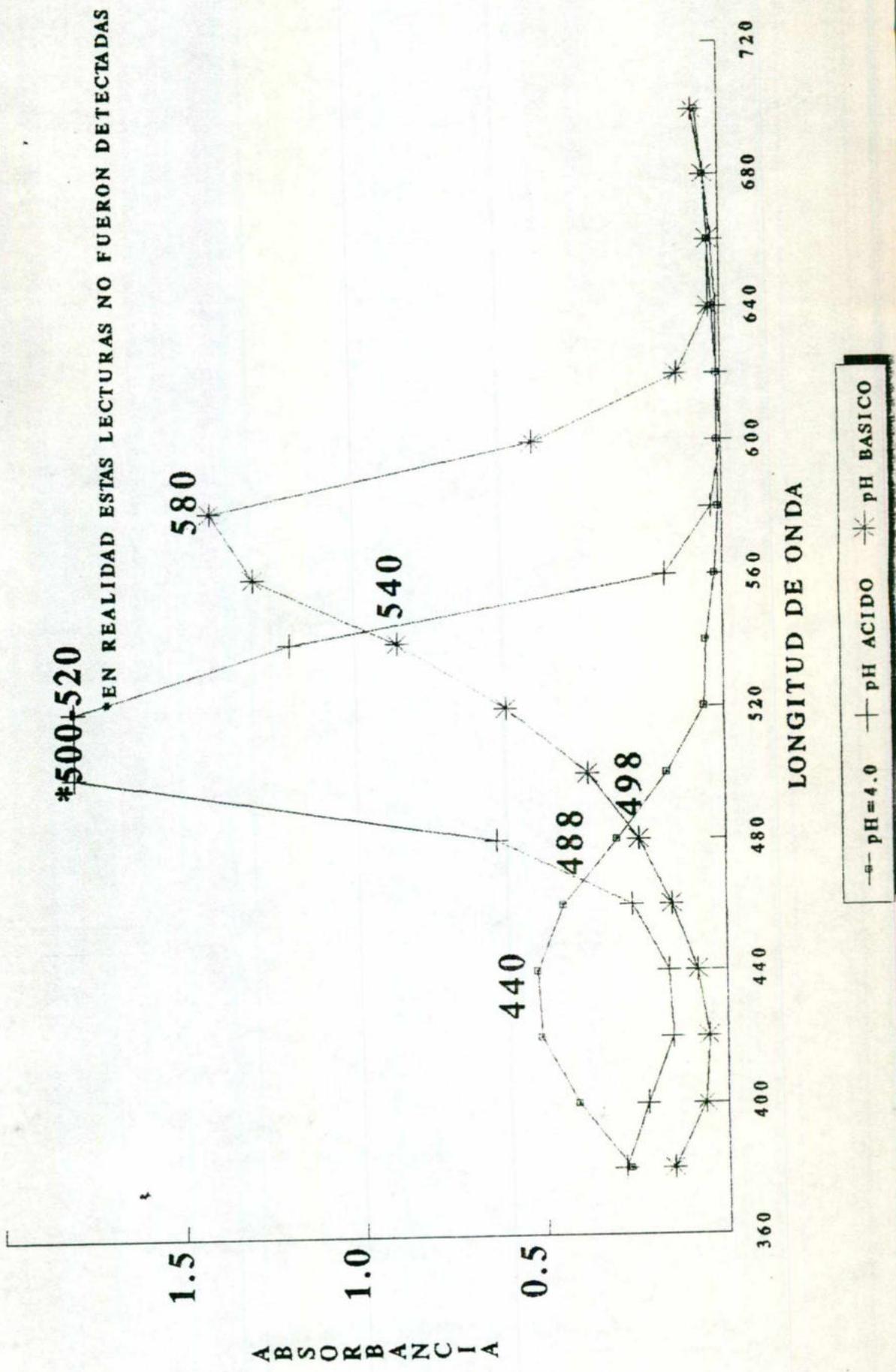
PICOS DE MAXIMA ABSORBANCIA Y PUNTOS ISOBESTICOS OBTENIDOS CON EL COLEMAN 4



Datos obtenidos con el Spectronic 20

Longitud de onda	pH=4	pH ácido	pH básico
380	0.270	0.280	0.150
400	0.410	0.220	0.060
420	0.510	0.150	0.050
440	0.520	0.160	0.080
460	0.450	0.260	0.150
480	0.300	0.630	0.240
500	0.160	α	0.380
520	0.054	α	0.600
540	0.046	1.200	0.900
560	0.020	0.160	1.300
580	0.010	0.030	1.400
600	0.010	0.000	0.520
620	0.010	0.010	0.120
640	0.020	0.010	0.030
660	0.030	0.020	0.030
680	0.040	0.040	0.040
700	0.060	0.070	0.070

PICOS DE MAXIMA ABSORBANCIA Y PUNTOS ISOBESTICOS OBTENIDOS CON EL SPECTRONIC



RESULTADOS:

COMPARACION DE LAS LONGITUDES DE ONDA DE MAXIMA ABSORBANCIA Y DE LOS PUNTOS ISOBESTICOS OBTENIDOS CON LOS CUATRO ESPECTROFOTOMETROS.

LONGITUDES DE ONDA (nm) DE MAXIMA ABSORBANCIA

	Col.2	Col.3	Col.4	Spectr.20	Val.teóricos
pH=4	440	440	440	440	438
pH ácido	520	520	520	520*	520
pH básico	580	580	580	580	580

* Se observa inestabilidad en las lecturas. En realidad se presenta la máxima absorbancia entre 500 y 520 nm.

PUNTOS ISOBESTICOS (nm)

	Col.2	Col.3	Col.4	Spectr. 20
pH=4 : pH ácido	484	486	488	466
pH ácido : pH básico	538	536	540	540
pH=4 : pH básico	492	496	498	484

CONCLUSIONES:

Observando los valores de longitud de onda de máxima absorbancia obtenidos para los cuatro espectrofotómetros se puede concluir que, a excepción del Spectronic 20, el cual mostró inestabilidad en sus lecturas, los otros espectrofotómetros trabajaron bien; se obtuvieron valores de longitud de onda de máxima absorbancia muy cercanos a los valores teóricos.

En cuanto a los puntos isobéuticos, se observa que los valores obtenidos para los espectrofotómetros Coleman 2, Coleman 3 y Coleman 4 son bastante parecidos y se puede decir que son prácticamente iguales. No sucede lo mismo con el Spectronic 20, cuyos resultados son diferentes de los obtenidos con los otros tres espectrofotómetros, principalmente con los puntos isobéuticos de los pares (pH=4:pH ácido) y (pH=4:pH básico).

De todo lo anterior se puede concluir que los espectrofotómetros Coleman 2, Coleman 3 y Coleman 4 estaban calibrados y las lecturas que nos proporcionaron son confiables; no así el Spectronic 20, que mostró inestabilidad tanto en las longitudes de onda de máxima absorbancia como en los puntos isobéuticos.

Esta es una forma simple y rápida de saber si los espectrofotómetros están trabajando bien cuando no se cuenta con métodos de calibración más sofisticados.

EJERCICIO No.2

DETERMINACION DEL COEFICIENTE DE VARIACION INDIVIDUAL Y DE GRUPO MEDIANTE UN EJERCICIO DE PIPETEO.

OBJETIVO:

El objetivo de esta práctica es utilizar el coeficiente de variación como una herramienta para evaluar la calidad de las determinaciones en el laboratorio clínico. En esta práctica se calculará el coeficiente de variación de los resultados de 10 mediciones de absorbancia, de diluciones 1/50, de una solución al 10% de dicromato de potasio. Se realizará dos veces este experimento para observar si hay algún cambio en la calidad de trabajo.

FUNDAMENTO:

Espectro del dicromato de potasio. Como una extensión de la ley de Beer, se deriva la constante denominada coeficiente de extinción molar, el cual se define como la absorbancia de una solución 1M de una determinada substancia a través de una celdilla de 1 cm de diámetro. Generalmente se define la longitud de onda de máxima absorbancia y la longitud de onda de mínima absorbancia. El coeficiente de extinción molar es característico de cada compuesto, por lo que su medición puede emplearse para verificar la exactitud del espectrofotómetro. Para realizar esta prueba, la solución debe prepararse exactamente a partir de una muestra pura del compuesto. Dicho compuesto debe estar en una solución estable, es decir, que no haya cambio espectral con el tiempo. Tal es el caso del dicromato de potasio en solución ácida.

Mediciones. En el laboratorio se utilizan fundamentalmente cuatro tipos de instrumentos para medir volúmenes. Estos son: pipetas, buretas, probetas y matraz volumétrico. Las siguientes observaciones se aplican a toda la cristalería volumétrica.

RESULTADOS:

PRIMERA REPETICION

Analista	CV	Volumen (ml)
1	1.200	5.0
2	1.583	5.0
3	0.500	10.0
4	5.490	5.0
5	6.000	10.0
6	2.460	10.0
7	4.500	5.0
8	2.390	10.0
9	5.500	5.0
10	5.300	5.0
11	0.600	10.0
12	2.400	10.0
13	4.200	5.0
14	1.100	10.0
15	2.226	10.0
16	1.812	5.0
17	5.400	10.0
18	5.800	5.0
19	0.000	10.0
20	5.400	5.0
21	1.930	12.5

Coefficiente de variación promedio = 3.13

SEGUNDA REPETICION

Analista	CV
1	0.750
2	6.607
3	0.750
4	3.490
5	2.400
6	2.480
7	3.260
8	4.470
9	2.000
10	2.100
11	0.830
12	1.600
13	1.500
14	1.700
15	2.200
16	5.050
17	3.100
18	0.000
19	0.000
20	1.400
21	2.480

Coefficiente de variación promedio = 2.31

Se trabajó con un volumen de 10 ml.

Se realizó el análisis de varianza y la prueba de comparación múltiple de Tuckey con una confianza de 95% para comparar los coeficientes de variación promedio, encontrándose que no existe diferencia estadística entre estos dos valores.

CONCLUSIONES:

De los resultados obtenidos en este ejercicio se puede concluir que no hubo una mejora real en la calidad de trabajo, aun cuando se observa una disminución en el coeficiente de variación, esta diferencia no fue estadísticamente significativa. Sin embargo, en la segunda repetición se observa que el coeficiente de variación es menor que 3, el cual es el máximo valor de coeficiente de variación permitido para las determinaciones espectrofotométricas.

EJERCICIO No.3

"OPTIMIZACION DE UN METODO ANALITICO. DETERMINACION DE UREA.

OBJETIVO.

El objetivo de esta práctica es observar los cambios en la calidad de una determinación (determinación de urea) al implementar controles como son: mezclado, utilización de pipetas semiautomáticas, utilización de curvas de calibración.

FUNDAMENTO DE LA PRACTICA.

La determinación de urea se realizó por una reacción en dos pasos la cual comienza con el clivaje de la urea para producir amoniaco. En este paso se utiliza la reacción de ureasa la cual es una enzima que actúa específicamente con la urea para producir amoniaco y bicarbonato. Enseguida se hace reaccionar el amoniaco con fenol e hipoclorito de sodio en medio alcalino, obteniéndose el indofenol el cual da una coloración azul (reacción de Berthelot). Se puede utilizar nitroprusianato de sodio como catalizador se lee a 620 nm (Sonnenwirth,1986).

METODOLOGIA

Material:

Pipetas de 0.2 mL.

Pipetas de 2.0 mL.

Pipetas de 10 mL.

Cronómetro.

Tubos de ensayo.

Baño maria.

Gradilla.

Espectrofotómetro.

Parafilm.

Reactivos:

Suspensión de ureasa

Solución patrón de urea.

Reactivo de fenol

Solución de hipoclorito.

Técnica:

Determinar la concentración de urea de los sueros A y B.

- 1.- Preparar una solución estándar de trabajo, diluyendo 0.1 ml de suero patrón de urea (equivalente a 1 mg/ml de urea a 4.9 ml de agua destilada).
- 2.- Diluir los sueros A y B en agua destilada.
- 3.- Procedimiento.

	Blanco	Estándar	Problema
Agua destilada	0.2 ml		
Estándar de trabajo		0.2 ml	
Suero diluido			0.2 ml
Ureasa	2.0 ml	2.0 ml	2.0 ml

- 4.- Incubar a 37° C durante 15 minutos.
- 5.- Adicionar 2.0 ml del reactivo de fenol a cada tubo.
- 6.- Adicionar 2.0 ml de hipoclorito a cada tubo.
- 7.- Incubar a 37° C durante 15 minutos.
- 8.- Adicionar 6 ml de agua destilada a cada tubo.

Leer los problemas y el estándar contra el blanco a 620 nm.

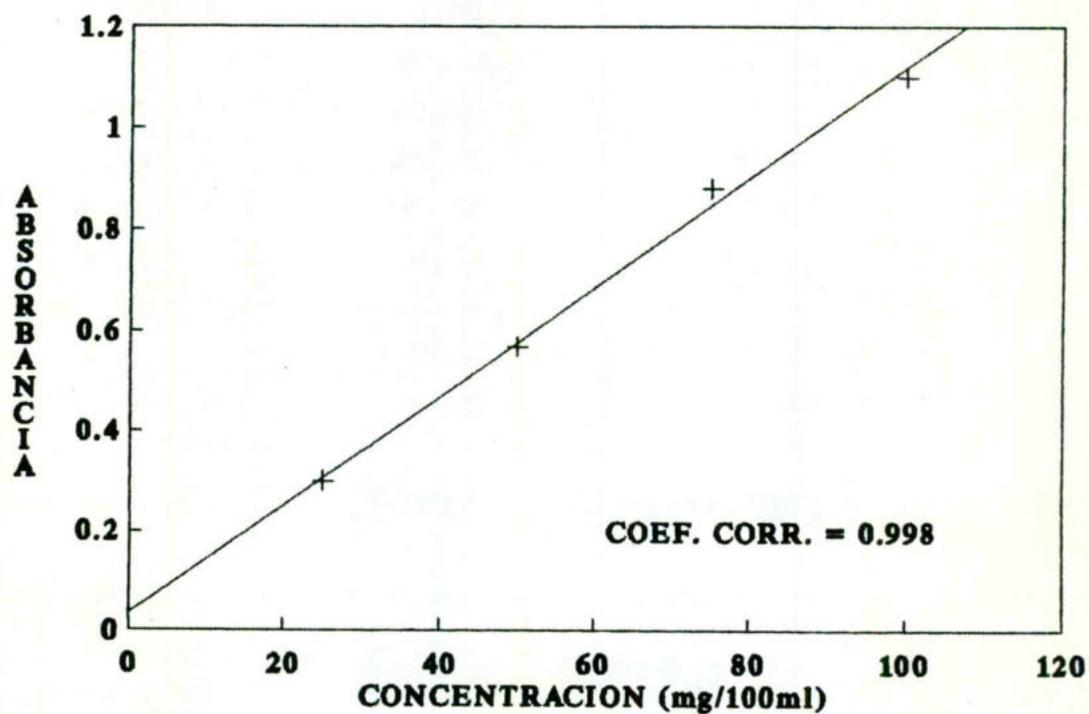
La técnica anterior se repitió cuatro veces pero con las siguientes variantes:

- Primera repetición: Se llevo a cabo sin tener un control exacto de temperatura, tiempo y mezclado.
- Segunda repetición: En esta repetición se tubo un mayor control tanto de temperatura como tiempo, reacción y mezclado.
- Tercera repetición: Se realizó idénticamente a la segunda repetición excepto que se utilizaron pipetas semiautomáticas en lugar de pipetas serológicas.
- Cuarta repetición: Se realizó también igual a la segunda determinación con excepción de que los cálculos no se realizaron con la lectura del estándar sino mediante una curva de calibración.

CURVA DE CALIBRACION PARA LA DETERMINACION DE UREA

CONCENTRACION (mg/100ml)	ABSORBANCIA
25	0.30
50	0.57
75	0.88
100	1.10

CURVA DE CALIBRACION PARA LA DETERMINACION DE UREA



RESULTADOS

Suero A

Práctica 1	Práctica 2	Práctica 3	Práctica 4
16.6	26.20	27.30	30.6
17.56	40.00	21.93	42.0
19.56	33.57	21.37	40.0
22.5	24.16	41.00	26.0
22.5	37.39	29.4	28.12
23.17	20.67	24.3	39.5
25.0	24.3	21.0	40.0
26.05	23.68	24.86	26.0
26.11	25.0	30.0	35.2
26.28	32.7	19.6	40.0
27.5	21.6	25.1	40.0
28.8	28.0	31.25	25.0
30.0	17.5	39.2	37.0
31.2	22.16	24.72	32.5
35.71	30.5	24.84	35.0
36.52	24.86	24.24	37.2
37.14	28.1	22.28	36.6
37.5	38.75	45.8	35.0
43.33	30.5	30.0	37.0
48.23	26.0	23.6	34.0
	21.66	27.8	35.0
$\bar{x} = 28.834$	$\bar{x} = 27.49$	$\bar{x} = 27.6$	$\bar{x} = 34.8438$
DS = 8.3018	DS = 6.1658	DS = 6.9	DS = 5.0996
CV = 28.79	CV = 22.42	CV = 24.95	CV = 14.636

Suero B

Práctica 1	Práctica 2	Práctica 3	Práctica 4
46.86	137.93	120.0	150.0
63.18	80.00	129.03	140.0
68.20	128.57	117.24	154.0
75.0	140.66	168.42	144.0
75.0	173.91	112.5	170.0
80.0	106.67	97.3	158.0
83.3	97.3	85.0	168.0
85.71	85.26	102.7	172.0
87.12	106.28	133.3	147.2
100.0	186.7	115.4	238.0
103.4	120.0	120.3	222.0
105.7	125.7	175.0	130.0
107.14	187.5	102.8	140.0
107.14	129.78	122.22	150.0
107.64	203.3	118.79	168.0
111.47	148.84	121.21	186.0
130.43	100.00	102.8	182.0
155.33	177.5	143.52	108.0
250.0	135.7	134.3	160.0
375.0	99.8	105.6	140.0
	122.2	121.4	160.0
$\bar{x} = 114.829$	$\bar{x} = 133.029$	$\bar{x} = 121.37$	$\bar{x} = 161.295$
DS = 72.5797	DS = 35.44	DS = 21.54	DS = 29.059
CV = 63.2	CV = 26.64	CV = 17.75	CV = 18.01

muy quillosos o turbios dan una mezcla final opalescente y causan difracción de la luz; este es un problema menor que se puede corregir con facilidad.

La presencia de dimetil-sulfóxido elimina también el efecto de las proteínas, fenómeno responsable de un cambio en la pendiente (efecto de matriz) cuando los estándares se preparan en presencia de proteína, comparándola con la pendiente de una curva basada en estándares acuosos. Parece también que el dimetil-sulfóxido inhibe la ionización de la cresolftaleína complexona, disminuyendo la absorbancia del blanco (Zavala, 1984).

COMO SELECCIONAR UN METODO (CALCIO):

Para poder seleccionar el mejor de dos métodos se deben determinar los pasos críticos de cada método y para ello se deben conocer los fundamentos de cada uno.

COMENTARIOS ACERCA DE LOS DOS METODOS:

Precipitación con ácido cloránico: Algunas muestras producen solución turbia en el paso final del procedimiento (después de la adición de EDTA). En algunos casos esto se debe a un lavado deficiente del precipitado; en otros casos, podría ser útil la extracción de la solución final con éter.

Reacción con cresolftaleína-complexona: Debido a que se observa hipocalcemia en recién nacidos, este método puede elegirse ya que requiere un volumen pequeño de muestra (20 μ L de suero o plasma), no hace falta desproteinización y se completa en 5 minutos. Es un método muy sensible por lo que es indispensable utilizar recipientes de plástico para realizar la prueba, tanto el polietileno como el poliestireno parecen ser satisfactorios. La hemólisis, ictericia o lipemia moderada parece no interferir en la prueba. Sin embargo, las muestras muy lipémicas pueden constituir un problema.

PASOS CRITICOS PARA LA DETERMINACION DE CALCIO:

Precipitación con ácido cloránico

- Precipitación.
- Separación.
- Lavado.

Reacción con cresolftaleína-complexona

- Interferencia del magnesio
- pH de la mezcla final de reacción

CRITERIOS DE SELECCION PARA METODOS ANALITICOS UTILIZADOS EN LA DETERMINACION DE CALCIO:

Características de aplicación

- Rapidez
- Sencillez
- Bajo costo
- Robusto. Directo, pocos pasos, requiere de habilidad técnica normal
- Aplicable, manual, instrumental, mecanizado automático
- Disponibilidad de instrumentos, de reactivos, de material
- Adecuado. Para rutina, para desarrollo analítico, para referencia
- Seguridad

Características tecnológicas

- Precisión
- Exactitud
- Especificidad
- Sensibilidad
- Reproducibilidad

Reacción con cresolftaleína-complexona.

Suero A

Equipo 1	Equipo 2	Equipo 3	Equipo 4	Equipo 5
8.78	11.8	10.71	11.8	10.1
10.16	10.26	6.9	10.3	11.5
10.0	8.5	9.8	14.0	10.15
11.7	11.0	6.0	10.14	10.2
13.07				

Suero B

Equipo 1	Equipo 2	Equipo 3	Equipo 4	Equipo 5
10.22	11.5	11.5	12.5	10.52
10.79	10.4	10.5	10.19	11.40
12.0	10.2	10.0	12.8	10.45
12.4	10.27	11.1	11.6	10.75
12.15				

$\bar{x}_A = 10.32$

D.S. = 1.816

C.V. = 17.58

$\bar{x}_B = 11.10$

D.S. = 0.873

C.V. = 7.86

CORRECCION = 0.2%

Valores reales de los sueros:

Suero A = 10.8

Suero B = 10.21

CONCLUSIONES:

Según la información señalada anteriormente, el método de la cresolftaleína-complexona es más robusto ya que requiere de menos manejo que el método del ácido cloranílico. Esta práctica consistió precisamente en demostrar lo anterior, lo cual se puede lograr analizando los valores de la media, desviación estándar y coeficiente de variación de los resultados obtenidos mediante los dos métodos para los dos sueros. En este caso nos apoyamos también en la prueba de análisis de varianza y la prueba de rango múltiple de Tukey, aunque estas técnicas no se discuten en la parte teórica de la tesina.

Observando los valores de coeficiente de variación y desviación estándar de los resultados obtenidos para el suero A mediante ambos métodos se detectan una ligera disminución en la dispersión de los datos. Sin embargo, realizando la prueba de análisis de varianza la prueba de rango múltiple de Tukey, se observa que los promedios de los resultados de los métodos son distintos. Para el suero B es más notoria la disminución en la dispersión de los resultados, esto es, los valores de la desviación estándar y el coeficiente de variación son menores para el método de la cresolftaleína-complexona. Estos resultados nos indican que el método de la cresolftaleína-complexona es el más adecuado.

ANEXO 1

TERMINOLOGIA UTILIZADA EN CONTROL DE CALIDAD

Acarreo. Influencia de una muestra sobre la subsecuente.

Alicuota. Porción medida de un todo que conserve la composición; es aplicable a soluciones, muestras, mezclas, etc.

Analito. Componente que va a ser medido.

Calibración. Procedimiento por el cual se relacionan las lecturas con la cantidad requerida para ser medida.

Comparabilidad. Correlación de los resultados de una medición mediante un procedimiento analítico con los resultados seleccionados como valores de referencia.

Corrida. Realización de ensayos consecutivos de un solo analito sin interrupción.

Detectabilidad. Habilidad de un método para detectar las concentraciones mínimas de un analito. Frecuentemente se le considera como sensibilidad aunque ésta última tiene una definición diferente.

Especificidad. Habilidad de un método para determinar un analito exclusivamente.

Especimen. Material disponible para realizar un análisis.

Estándar, patrón o calibrador. Solución o material con el que la muestra es comparada para determinar la concentración del analito (utilizado para calibrar, graduar o ajustar una medición).

Estándares biológicos internacionales. Son estándares de referencia, los cuales no pueden ser determinados por métodos físicos o químicos definidos exactamente; no se recomienda utilizarlos en los procedimientos que se están trabajando en los laboratorios. Sirven como los medios por los cuales los materiales de referencia y los calibradores nacionales y comerciales se pueden controlar.

Error. Diferencia entre un resultado y su valor verdadero. La desviación positiva o negativa puede expresarse en las unidades de medición o en términos porcentuales. Si no se conoce el valor verdadero se puede comparar con un valor asignado.

Exactitud. Acuerdo que existe entre la media de una determinación y su valor verdadero. Es una medida de concordancia entre la estimación de un valor y el valor verdadero; no tiene valor numérico; es medida como la cantidad (o grado) de inexactitud.

Imprecisión. Desviación tipo o coeficiente de variación de los resultados de una serie de determinaciones sobre una muestra replicada.

Inexactitud. Diferencia numérica entre la media de medidas replicadas y su valor verdadero. Esta diferencia positiva o negativa puede expresarse en unidades en las que las cantidades son medidas o como un porcentaje del valor verdadero.

Interferencia. Efecto de un componente en la exactitud de la medición de otro componente.

Lectura. Valor indicado en la escala de un instrumento.

Material de patrón primario. Substancia de composición y pureza química conocida que se utiliza para preparar patrones primarios.

Límite de detección. Punto en el que un método deja de ser confiable por factores de índole analítico.

Material de control. Material utilizado con propósitos de control.

Material de referencia. Material o sustancia del cual una o más propiedades se han establecido suficientemente bien para ser utilizadas para la calibración de un aparato, la evaluación de un método de medición o para la asignación de valores a otros materiales.

Material de referencia certificado. Material de referencia con uno o más de los valores asignados por medio de un estudio colaborativo en varios centros designados de acuerdo con un protocolo específico, controlado por un organismo de certificación.

Método analítico. Serie de instrucciones escritas por el analista, que describen un procedimiento, los materiales y el equipo necesario para obtener el resultado.

Método definivo. Método que después de una exhaustiva validación ha demostrado no tener fuentes de inexactitud o ambigüedad.

Método de referencia internacional. Ha sido establecido por una autoridad internacional definida.

Métodos seleccionados. Procedimiento cuya confiabilidad ha sido convalidada mediante un estudio colaborativo y el cual es recomendado por una autoridad definida para el uso rutinario en análisis de laboratorio.

Fueron seleccionadas para su uso clínico ocho propiedades de medición de la materia, con la abreviatura autorizada que se encuentra entre paréntesis

<u>propiedad</u>	<u>denominación</u>
longitud	metro (m)
masa	kilogramo (kg)
cantidad de sustancia	mol (mol)
temperatura termodinámica.....	grado kelvin (K)
corriente eléctrica	Amperio (A)
intensidad luminosa	candela (Cd)
actividad catalítica	katal (kat)
tiempo	segundo (s)

Derivadas de estas propiedades se encuentran las siguientes medidas:

concentración de masa	kilogramo/litro (kg/l)
fracción de masa	kilogramo/kilogramo (kg/kg)
fracción de volumen	litro/litro (l/l)
volumen	metro cúbico (m ³)
concentración de sustancia	mol/litro (mol/l)
molalidad	mol/kilogramo (mol/kg)
fracción molar	mol/mol (mol/mol)
presión	pascal=Newton/m ² (Pa)
energía	Joule (J)
fuerza	Newton (N)
potencia	Watt (W)

Múltiplos y submúltiplos

<u>potencia</u>	<u>prefijo</u>	<u>símbolo</u>
10^{-18}	atto	(a)
10^{-15}	femto	(f)
10^{-12}	pico	(p)
10^{-9}	nano	(n)
10^{-6}	micro	(μ)
10^{-3}	mili	(m)
10^{-2}	centi	(c)
10^{-1}	deci	(d)
10	deca	(da)
10^2	hecto	(h)
10^3	kilo	(k)
10^6	mega	(M)
10^9	giga	(G)
10^{12}	tera	(T)
10^{15}	petra	(P)
10^{18}	exa	(E)

Analitos medidos comúnmente en química clínica

<u>analito</u>	<u>unidades utilizadas</u>	<u>unidades SI</u>
sodio.....	mEq/l	mmol/l
potasio.....	mEq/l	mmol/l
cloro.....	mEq/l	mmol/l
bicarbonato.....	mEq/l	mmol/l
calcio.....	mEq/l	mmol/l
fosfato.....	mEq/l y mg/dl.....	mmol/l
colesterol.....	mg/dl	mmol/l
triacilglicéridos.....	mg/dl	mmol/l
creatinina.....	mg/dl	mmol/l
bilirrubina.....	mg/dl	μmol/l
proteínas.....	g/dl	g/l
enzimas.....	varias	UI/l y kat/l
P(O ₂) y P(CO ₂).....	mm de Hg	kPa

Ventajas de utilizar unidades SI:

- Mide el número de moléculas
- No es ambiguo
- Da uniformidad entre laboratorios

ANEXO 3

SEGURIDAD E HIGIENE

A pesar de que varios grupos de profesiones han promovido la difusión de las medidas de seguridad en el laboratorio, la conciencia de tales problemas es aun reciente en los químicos clínicos y en los químicos industriales. Hasta ahora se reconoce que todos los que trabajan en un laboratorio pueden correr riesgos por olvidos, omisiones y presiones. Tales peligros se presentan tanto en pequeños laboratorios clínicos como en el de investigación más avanzado.

1. METAS Y PERSPECTIVAS DE SEGURIDAD EN EL LABORATORIO

Objetivos prácticos. La meta de cualquier programa de seguridad es la eliminación de accidentes y enfermedades que resultan de laborar bajo condiciones de trabajo inseguras.

Los objetivos prácticos de un programa de seguridad son:

- Elaborar y revisar periódicamente un documento que contenga las medidas a tomar en cada una de las áreas de peligro.
- Establecer, mediante dicho documento, un plan de inspección que sea práctico y comprensible, incluyendo una lista de los puntos a revisar. Estas inspecciones deberán ponerse de manifiesto en condiciones riesgosas en los laboratorios y, en caso de ser detectadas, informar al personal afectado de las bases en que se fundamenta tal peligro.
- Realizar periódicamente sesiones de seguridad con el personal. El instructor debe saber qué organismo y qué

Medidas para lograr seguridad. Es importante enseñar al personal a utilizar dicho equipo. Se deben utilizar anteojeras y carreta cuando se trabaja con sistemas de vacío o con líquidos corrosivos. También se deben usar anteojeras y barrenas de protección al usar sistemas de alta presión o en los que se pueden generar rápidamente grandes volúmenes de gases o vapores, aparatos de destilación, adición de agua a ácido sulfúrico concentrado. Asimismo, se debe preparar y colocar en sitios viables un reglamento de seguridad para los visitantes.

Eliminación de desechos. Los desechos de un laboratorio son peligrosos a la salud personal. Debe evitarse la contaminación del ambiente del laboratorio y de la salud pública aunque sea pequeña. Los desechos biológicos peligrosos, agujas, jeringas, receptáculos de obtención y procesamiento de muestras, deben aislarse y esterilizarse, debiendo haber instrucciones escritas del manejo de este material. Para material radioactivo se requieren procedimientos de vigilancia y eliminación especiales. Muchas sustancias tóxicas pueden ser transformadas a formas no tóxicas biodegradables previas a su eliminación.

Centrífugas. Las centrífugas, casi a cualquier velocidad pueden ser una fuente de diseminación tanto de aerosoles tóxicos como de objetos rotos durante la centrifugación. Por ello hay que tener cuidado de balancear adecuadamente el rotor, especialmente en ultracentrífugas de alta velocidad. Las velocidades máximas de los rotores deben irse bajando a intervalos regulares sobre todo si se trata de una ultracentrífuga.

Levantamiento de objetos pesados. Los objetos pesados que necesitan ser levantados periódicamente por el personal deben estar localizados de tal manera que sea fácil manejarlos mediante un sistema adecuado de levantamiento mecánico (Castillo de Sánchez, 1984).

3. PELIGRO EN EL USO DE SUBSTANCIAS TOXICAS.

" Conocimiento de las propiedades de los reactivos. Es cada día mayor el uso de sustancias peligrosas en el laboratorio clínico. Los peligros pueden ser diversos; inflamabilidad, explosividad, reactividad violenta con el agua, o por poseer propiedades tóxicas, carcinogénicas o teratogénicas, deben conocerse las propiedades químicas de todos los reactivos en uso para tomar medidas adecuadas a sus propiedades.

La información de sus posibles peligros debe estar en la etiqueta de reactivo. Hasta ahora el etiquetado de peligro ha estado en manos de los fabricantes, pero cada laboratorio debe complementar la información pertinente que llegará a faltar. También se debe tener buen cuidado de que nunca haya frascos de reactivos desconocidos por falta de etiqueta.

Planeación del uso de reactivos. El almacenamiento de reactivos debe basarse en el conocimiento de las propiedades intrínsecas del reactivo y en su potencial de reaccionar con otros reactivos del almacén. No almacene sobre la base de orden alfabético. Almacene sustancias oxidantes por un lado, y oxidables por el otro. Almacene ácido perclórico en frascos con llave de goteo y de material inorgánico. almacene ácidos y bases en frascos recubiertos interiormente con cloruro de polivinilo.

Almacene sustancias explosivas en espacios protegidos adecuadamente, y lléveles un sistema de control de peróxidos o evite su almacenamiento por tiempos prolongados.

Almacene sustancias volátiles en espacios bien ventilados.

Almacene sustancias corrosivas, sobre todo ácidos y bases volátiles, en espacios ventilados y resistentes a la corrosión.

Vapores tóxicos. Todo trabajo con solventes y reactivos emisores de vapores deben realizarse con ventilación adecuada particularmente en tareas prolongadas. Una buena ventilación debe ser parte del diseño de un laboratorio.

Almacenamiento y eliminación de desechos químicos:

- Desechos insolubles. No deben echarse en el sistema de drenaje, aun cuando el volumen sea pequeño.
- Solventes orgánicos. Los desechos de solventes halogenados deben colocarse en un bote de desechos, y los no halogenados en otro. Estos botes deben tener ventilación y deben estar etiquetados para que en la etiqueta se vayan anotando los solventes desechados. Los desechos de solventes no halogenados pueden ser incinerados, pero los de solventes halogenados necesitan procedimientos especiales de eliminación.
- Azida sódica. Si se arroja al drenaje, ello debe hacerse con grandes cantidades de agua: la azida puede formar compuestos explosivos al reaccionar con tuberías de plomo o de cobre.
- Desechos no tóxicos. Se debe estar seguro de que realmente no son tóxicos antes de desecharlos al drenaje.
- Desechos tóxicos. Los tóxicos de los aparatos automatizados deben ser procesados antes de desecharlos.

Peligros específicos:

- Fenol. Su umbral de tolerancia en la atmósfera es de 5ppm pero su daño lo realiza en piel debido a salpicaduras y en mucosas por ingestión durante el pipeteo bucal. Al manejarlo debe utilizarse anteojeras, y ropa de protección, hacerlo en un sitio en el que sea fácil eliminar los vapores fenólicos y en caso de derramamiento, limpiarlo inmediatamente con un material absorbente.
- Otros vapores. Hay una serie de sustancias que, por despedir vapores, deben ser almacenadas en sitios bien ventilados (Buttner, 1987).

4. SOLVENTES Y SUS PELIGROS DE INCENDIO Y EXPLOSION.

Solventes y su almacenamiento. El reglamento sugiere el uso de campanas para el trabajo de solventes, pero no es indispensable si las áreas de trabajo están bien ventiladas y no tienen fuentes de ignición. Nunca debe haber alimentos cerca de los solventes ya que éstos pueden pasar a los alimentos por solubilización en los lípidos del alimento.

Incendios y explosiones. La mayoría de los incendios de laboratorio se debe a la ignición de vapores de solventes. Por ello, se debe prohibir fumar en todas las áreas de trabajo, así como en zonas adyacentes a aquellas en donde se trabajan solventes. Se debe prestar atención para lograr la mejor localización posible de mecheros, platos calientes y aparatos eléctricos que produzcan chispas. Se debe ser cuidadoso en el uso de sustancias oxidantes que reaccionan violentamente con el agua o que lo hacen aumentar la temperatura ambiente. Para enfrentarse mejor a incendios y explosiones no hay como conocer las propiedades de los reactivos.

Sistemas de protección contra incendios y explosiones. El mejor sistema contra incendios, es el extinguidor portátil, si bien un sistema de riego en los techos puede ser necesario en algunas circunstancias. Las regaderas de techo son para enfrentarse a salpicaduras de sustancias corrosivas, pero pueden utilizarse para ropas incendiadas (Buttner, 1987).

5. PELIGROS BIOLÓGICOS

Manejo de agentes infecciosos. Los agentes infecciosos son un peligro grande en prácticamente todos los laboratorios clínicos. Surgen en el manejo de muestras biológicas, y de ahí pueden penetrar a través de cortadas y raspones de la piel, por boca o por inhalación. Por ello se debe prohibir comer, fumar y

aplicarse cosméticos en el interior del laboratorio; todas estas actividades deben realizarse en salas de descanso. En el manejo de muestras deben utilizarse guantes desechables, sistemas automáticos de pipeteo, y etiquetas autoadheribles. Debe haber instalación para lavarse las manos, operadas por pie o rodilla y aprovisionadas de soluciones germicidas para las manos.

En el manejo de muestras debe utilizarse bata de laboratorio, con un sitio adecuado para almacenar las batas sucias. Las batas no deben salir del laboratorio excepto para su esterilización y lavado. Las áreas de trabajo se deben descontaminar diariamente; un blanqueador de cloro diluido 20 veces es adecuado para todas las mesas de trabajo que no sean sensibles a la corrosión (para esto utilizar glutaraldehído al 2%, pero recordar que es tóxico).

Los desechos deben colocarse en bolsas autoclaveables, y esterilizarse antes de ponerlos en la basura. Se debe, así mismo, instituir medidas de seguridad para la obtención de muestras de enfermos que se sabe están infectados, estableciendo un procedimiento rígido para etiquetar las muestras como peligrosas.

Manejo de muestras. Deben tomarse precauciones para evitar la producción de aerosoles durante el procedimiento (utilizar tapones de rosca y no de presión para abatir la formación de aerosoles al abrirlos). Inspeccionar los tubos antes de centrifugarlos para disminuir la posibilidad de roturas. Colocar protectores de tubos en el fondo de las camisas de centrifuga. La eliminación de desechos de los aparatos automatizados debe ser hecha en drenajes que reciben un lavado diario con soluciones germicidas (Castillo de Sanchez, 1984).

6. RADIOACTIVIDAD

Requisitos y reglamentos. Existen en México, a cargo del Instituto Nacional de la Industria Nuclear, ININ, muchos aspectos del laboratorio (almacenamiento, área de trabajo, programas de vigilancia de contaminación, manejo administrativo de en qué y cuánto se emplea de radioactividad, seguridad de operadores, ect.) necesita cumplir con los reglamentos respectivos, contar con contadores portátiles para vigilar las contaminaciones; refrigeradores y congeladores con pared de plomo; cubiertas protectoras para los operadores; uso de etiquetas muy visibles en sitios de concentración de radioactividad, etc. Para los laboratorios pequeños que manejan poca radioactividad los requerimientos son menores.

7. GASES COMPRIMIDOS Y CRIOGENICOS.

Los tanques de gas, en uso o almacenados, deben estar colocados sobre estructuras firmes que eviten que se caigan o se dañe su válvula, un gas comprimido a alta presión que se comienza a escapar puede convertirse en un cohete letal. Se deben utilizar reguladores y abrasaderas adecuadas al tipo de gas; se debe prohibir el uso de conexiones improvisadas. Al comenzara trabajar con un gas, se debe abrir cuidadosamente la válvula del tanque e ir vigilando con dobles lecturas la salida del gas con el manómetro (Danton, 1987).

8. SERVICIOS Y SISTEMAS DE SEGURIDAD GENERAL Y DE EQUIPO ELÉCTRICO.

Uso de aparatos. Los instrumentos analíticos deben estar en áreas adecuadas en las que no estén expuestos a vapores de agua o vapores corrosivos, y en las que se puedan conectar a tierra correctamente. Deben escribirse instructivos claros para que los aparatos sean utilizados correctamente.

Sistemas de comunicación. Debe operar bien en caso de emergencia.

Circuitos eléctricos. El sistema eléctrico del laboratorio debe estar diseñado de modo que nunca se necesite un cable mayor de 2 metros para poder enchufar un aparato analítico.

Sistema de gas. Todos los sistemas de gas combustible inflamable deben cumplir los requerimientos de instalación y mantenimiento exigidos en los reglamentos.

Sistema de vacío. Los sistemas de vacío deben tener una trampa adecuada para evitar la introducción de agua, solventes o líquidos corrosivos.

Sistema de drenaje. En todas las atarjeas deben instalarse alguna clase de trampa que facilite la recuperación de material sólido que haya sido tirado a las atarjeas.

9. VENTILACION, AIRE ACONDICIONADO Y CONTROL AMBIENTAL.

El sistema de ventilación debe recibir atención especial en el diseño del laboratorio clínico ya que se manejan muchas sustancias que requieren buena ventilación.

Campana de gases. Una campana bien diseñada debe mantener todos los vapores adentro y sacarlos totalmente al exterior, sin que interfiera en el trabajo que se realiza frente a la campana.

10. DISEÑO, MANTENIMIENTO Y MANEJO DEL LABORATORIO.

Seguridad en los sitios de acceso y en el diseño. Toda unidad del laboratorio debe tener paredes y puertas de material relativamente resistente al fuego. Debe haber salidas, aparte

de la puerta de entrada, para casos de emergencia. El mobiliario y los sitios de almacenamiento deben colocarse en zonas que no estorben las maniobras en las emergencias, colocar adecuadamente el equipo de seguridad para dichas emergencias. Las puertas de acceso al laboratorio deben girar hacia afuera, y deben ser fácilmente cerradas con candado cuando no haya personal responsable.

11. DISEÑO DE UN LABORATORIO SEGURO.

El responsable de seguridad de un laboratorio debe comenzar a participar desde que surge la idea de construirlo.

Una vez que se cuenta con el esbozo inicial del laboratorio, el responsable de seguridad debe consultar a diversos especialistas para enterarse de la tecnología disponible, habitualmente arquitectos, ingenieros de construcción e ingenieros de seguridad, que le permitan ser exitoso en su misión (Castillo de Sánchez, 1984).

REFERENCIAS

- Alva, Sergio y Elorza, María Eugenia. (1989). Unidades "SI" o unidades tradicionales en el informe de resultados. *Bioquímica*, 14 (2): 24-26.
- Ayres, Gilbert (1987). *Análisis Químico Cuantitativo*. Editorial Harla, 2a Ed. México D.F. pags. 463-483.
- Barlandas, E. (1992). Determinación de puntos isobésticos de colorantes y derivados de hemoglobina, para verificar la calibración de espectrofotómetros. *Bioquímica*. 17 (66): 39 - 41.
- Bernard, Henry (1990). *Diagnóstico y Tratamiento Clínico por el Laboratorio*. Salvat Mexicana de Ediciones, S.A de C.V. México D.F. Octava Reimpresión Tomo I Cap. 1,5,6,7, Tomo II Cop. 55.
- Box, George, Hunter, William y Hunter, Stuart (1978). *Statistics for Experimenters an Introduction to Design. Data Analisis and Model Building*. John Wiley & Sons, Inc. USA. pags. 562-563.
- Buttner, Borth (1987) Control de Calidad. *Bioquímica*, 1 (17): 23-25.
- Castillo de Sánchez, Ma. Luisa (1984). Como manejar la calidad para el laboratorio analítico. *Bioquímica*, 24 (1): 35-39
- Christian, Gary (1981). *Química Analítica*. Limusa México, D.F. Capítulos 2, 3.
- Contrato Colectivo de Trabajo (1991 a 1993). IMSS, SNTSS, SS. Editorial Coordinación General de Comunicación Social del Instituto Mexicano del Seguro. México D.F.

Danton, Keith (1987). Seguridad Industrial, Administración y Métodos. Mc Graw Hill. México, D.F. Pags 147 - 148.

Duncan, Achenson. (1989). Control de Calidad y Estadística Industrial. Editorial Alfa Omega. México, D.F. Cap. I.

Feigenbaum, Armand. (1987). Control Total de la Calidad. Mc Graw-Hill, México. Primera Edición.

Flores, Gilberto (1978). Procedimientos de Laboratorio Clínico. Instituto Mexicano del Seguro Social. Subdirección Médica. México, D.F.

Fraser, C. (1986). Interpretation of Clinical Chemistry Laboratory Data. Blachwell Scientific Publications. Caps. 2, 3 y 6.

Grant, Eugene y Leavenworth, Richard (1988) Control Estadístico de Calidad. Mc Graw-Hill, México. primera edición Pags. 344-345.

Guía de Procedimientos Adecuados de Laboratorio Analítico. (1989). CIPAM. México, D.F.

Hawinks, Douglas.(1981). Combined Chewart Cusum Quality Control Schemes. Journal of Quality Technology. 13 (4)

Instructivo para el Control de Calidad en Laboratorio Clínico IMSS (1982). Subdirección General Médica, Jefatura de Servicios Médicos, Subjefatura de Hospitales, Sistema de Atención Médica.

Ishikawa, Kaoru. (1986). Qué es el control total de Calidad? Editorial Norma Colombia. Caps. 3,5.

Lewis, S. M. (1990). Garantía de calidad en hematología. *Bioquímica*, 15 (4): 18-30

Lidh, J. (1988). Métodos de Laboratorio. Editorial Interamericana, Tomo I. Primera Reimpresión. Pag. 22.

Little, Thomas y Hills Jackson (1990) Métodos Estadísticos para la Investigación en la Agricultura. Editorial Trillas. México D.F. Segunda Edición en Español.

Mannhermn, G. (1989). Manual de Operaciones de Pipeteo automático. Pag. 24.

Menjivar, H. y Col. (1990). Análisis de Datos y Control de Calidad en el Radioinmunoanálisis II. *Revista de Investigación Clínica*. 42,41: 336 - 340.

Montgomery, Douglas. (1991). Control Estadístico de la Calidad. Grupo Editorial Iberoamerica S.A. de C.V. México D.F. Pags. 1-6.

Morejón, Manuel; Ramos, J. R. y Nuñez, alfonso. (1989). Programa Provincial para el Control Externo de la Calidad... *Bioquímica*, 14 (2): 30-33.

Morejón, Manuel; Vázquez, J. R. y Villán, Joaquín. (1989b). La implantación del sistema internacional... *Bioquímica*, 14 (2): 27-29.

Ramos, J.R. y Col. (1990). Influencia de algunas variables sobre la estadística de un suero control líquido. *Bioquímica* 15 (15): 45 - 47.

Skoog, Douglas y West, Donald. (1990). Química Analítica. Editorial Mc. Graw Hill. Cuarta Ed. Caps. 3, 19.

Sonnenwirth, Jarett (1986). Métodos y Diagnósticos de Laboratorio Clínico. Ed. Médica Panamericana. 8a. Edición. Tomo I. Pags. 461-462.

Tiezts, Norbert (1989). Química Clínica Moderna. Ed. Interamericana. México D.F. Pags. 1-74.

Torres de Espejo, Margarita (1989). Elaboración de Sueros Control. Bioquímica 14 (1); 44-46.

Vargas, Martha; Castillo de Sánchez, M. L. y Alva, Sergio. (1989). Programa de evaluación externa de la calidad... Bioquímica, 14 (3): 33-36.

Vázquez de R, Dolores (1991). La Química Clínica en los Laboratorios de Salud. Problemas y Soluciones. Impresor Ciscar. 13a. Edición. Caps. 2,3,4,7,8,10.

Whitehead, T.P. (1977). Control de Calidad en Química Clínica. Ed. John Wiley & Sons España. Caps. 2,4,5,10,15,16.

Zavala, Elvira y Pérez Carlos (1984). Métodos Selectos para el pequeño Laboratorio de Química Clínica. Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica A.C. México, D.F. Pags. 125 - 129.