

Control de calidad interno del inmunodiagnóstico microbiano para conseguir la calidad global

José Gutiérrez, Fernando Fernández, María José Soto y María del Carmen Maroto

Departamento de Microbiología. Hospital Universitario San Cecilio. Universidad de Granada.

Introducción

Actualmente se asiste a la instalación de la cultura de la calidad en los hospitales. Hasta donde se ha podido revisar, los primeros antecedentes del control de calidad aplicado al inmunodiagnóstico microbiano en España se han de buscar en la IIª Reunión de Calidad en Microbiología Clínica, celebrada en Oviedo en 1979. Este control de calidad surge de la necesidad de normalización de nuestro trabajo en el laboratorio que, aplicado inicialmente a la industria, se va incorporando sucesivamente a las diferentes áreas de nuestra vida. Además, permitirá al laboratorio que se le autorice, acredite o certifique que los productos intermedios que produce cumplen una determinada propiedad, en respuesta, muchas veces, a la competencia del sector privado. Todo esto está apoyado en normativas internacionales como son las series ISO 9000, 8402 y la EN 45000¹. Lo que se requiere ahora es aplicar esta normativa a los procedimientos de trabajo diario^{2,3}. Recientemente, Elma Heidemann, de la Sociedad Internacional de Acreditación de Calidad Sanitaria (<http://www.diariomedico.com>) decía que la acreditación de la calidad va a dejar de ser algo voluntario. Además, propone buscar la calidad global y curar con calidad, como consecuencia de aplicar al enfermo, entre otros, los resultados obtenidos en el laboratorio de Microbiología. Esto obliga a que el clínico deba usar sólo laboratorios autorizados o acreditados para realizar sus pruebas.

La calidad se puede definir como el conjunto de propiedades y características de un producto o servicio, que le confieren su aptitud para satisfacer unas necesidades expresadas o implícitas¹. El control de calidad es el conjunto de acciones que se aplican sobre la estructura, responsabilidades, recursos y procedimientos de la organización de una empresa, que ésta establece para llevar a cabo la gestión de su calidad⁴. El control de calidad es sinónimo de garantía de información (exacta, reproducible y segura) para resolver los problemas infecciosos que surgen en el hospital. Aplicado en el área de inmunología microbiana es similar en la finalidad al de otras áreas del

laboratorio, aunque no semejante, dado que los errores pueden pasar desapercibidos con mayor facilidad. Entonces, ¿por qué hacerlo?: a) porque se trabaja con sistemas biológicos acoplados (múltiples epítomos, variabilidad biológica de los anticuerpos en la enfermedad, significado clínico, etc.) que hay que tener estandarizados y vigilados para detectar los desajustes; b) por la complejidad y sensibilidad de la seroquímica de los inmunoensayos; y c) por los problemas derivados de la automatización en el laboratorio. Controlando la calidad de la serología se contribuye al control de calidad del diagnóstico clínico, que tiene que solicitar la prueba más adecuada basándose en el diagnóstico más probable y sobre una muestra recogida en el momento y la cantidad adecuada^{5,6}.

La calidad del trabajo puede juzgarse utilizando diferentes conceptos como la fiabilidad, que informa si el resultado de una prueba es correcto, la reproducibilidad, basada en la obtención de resultados concordantes al efectuar varias veces el mismo ensayo; la rapidez, que ayuda al clínico a instaurar el tratamiento y la pauta adecuada en el menor tiempo posible; y la relación coste-beneficio, validando una prueba determinada en la medida en que los beneficios que reporta al paciente y la comunidad sean razonables.

Se han establecido una serie de propiedades que debe cumplir el control de calidad. Así, debe aplicarse de manera integral, desde la recogida de la muestra hasta la llegada del resultado al clínico; los pasos cruciales del proceso se controlarán de forma especial, lo que se determina aplicando un método racional; se aplicará de un modo regular o reiterado; y los errores y defectos que se pueden presentar durante su aplicación se detectarán y corregirán de manera frecuente.

El control de calidad presenta ventajas en su aplicación, ya que permite asegurar, entre otras, que las pruebas costosas se utilicen del modo más racional; determina si las pruebas nuevas son válidas o no; mejora el funcionamiento general del laboratorio y contribuye a hacer comparables los resultados obtenidos en diferentes momentos o lugares⁷.

Se han establecido dos grandes grupos en la realización del control de calidad, pudiendo ser estos internos y externos⁸. Los controles externos evalúan la precisión, rapidez, tipo e interpretación de los resultados obtenidos en una muestra enviada a nuestro laboratorio. Se efectúan de forma voluntaria u obligatoria, estos últimos como apoyo oficial que aporte mejoras en las técnicas. Las realizan organismos oficiales o sociedades científicas que llevan a cabo inspecciones ocasionales proporcionando una muestra anónima y semejante a todos los laboratorios que participan en el control.

Correspondencia: Dr. J. Gutiérrez.
C/ Camino Bajo de Huétor, 84 1º A.
18008 Granada.
Correo electrónico: josegf@goliat. ugr.es
joseg.f@wanadoo.es

Manuscrito recibido el 19-2-2001; aceptado el 4-7-2001.

Enferm Infecc Microbiol Clin 2001; 19: 488-494

Los controles internos son los que se aplican a nuestro trabajo diario, y han de ser globales, prácticos respecto a los resultados que aportan, realistas, diarios y económicamente viables. Este último es el que centrará el desarrollo de nuestro manuscrito.

Fases del control de calidad interno

Fase preanalítica

La fase preanalítica la constituyen una serie de acciones previas a la investigación de la muestra en el laboratorio. Hablaremos de aspectos específicos y concretos de la misma. Los resultados emitidos por el laboratorio son un producto intermedio y la productividad se puede mejorar controlando en la fase preanalítica⁹ diversos factores que la determinan en mayor o menor medida (tabla 1)^{10,11}, como son los factores ambientales; la formación, adiestramiento y actualización del personal; el empleo de instrumental simple y automatizado; la selección y utilización de la prueba; el almacenamiento de reactivos y productos perecederos; la presencia de un manual de normas y procedimientos de trabajo, así como el apoyo en laboratorios de referencia, regionales o centrales.

Control de los factores ambientales

El control de los factores ambientales se llevará a cabo optimizando el espacio (debe existir por persona, al menos, 10 m² de superficie, 25 m³ de volumen y una renovación de aire de 57 m³ por hora), tamaño, distribución, iluminación, ventilación, temperatura, ruido y seguridad de las condiciones de trabajo, así como la asepsia y esterilización cuando proceda (<http://www.mtas.es/insht/legislation/legiina.htm>). El laboratorio se ha de estructurar en áreas separadas de recepción de muestras, preparación de las mismas, realización de ensayos, almacenamiento de las muestras ensayadas y calibración.

TABLA 1. Actuaciones en las diferentes fases del control de calidad

Fase preanalítica

Control en el laboratorio de

1. Factores ambientales
2. Personal
3. Instrumental
4. Muestra
5. Pruebas
6. Reactivos
7. Productos perecederos
8. Manuales

Uso adecuado de laboratorios de referencia

Fase analítica

Preparación de muestra

- Preparación de la muestra para evitar el factor reumatoide
- Preparación de la muestra para evitar las reacciones cruzadas

Realización de los estudios

- Control de la lote dependencia
- Validación del ensayo
- Limitaciones de la prueba

Política de optimización: perfiles serológicos

Fase postanalítica

- Elementos del informe en elaboración
- Elementos del informe en la historia del enfermo

Control de formación, adiestramiento y actualización periódica del personal

Del mismo modo, se debe efectuar un control de formación, adiestramiento y actualización periódica del personal. Para ello, resulta imprescindible conocer la estructura y organización del servicio en relación a los servicios asistenciales, docentes y de investigación que se prestan. Se debe disponer de datos acerca de los recursos humanos disponibles, en relación con su número, capacitación profesional, puesto que ocupan y trabajo que desempeñan. Es necesario establecer la jerarquía que se aplicará en la toma de decisiones, desempeñando el director técnico la misión de controlar y evaluar las diferentes áreas. En cualquier caso, deben existir canales de comunicación, cada empleado debe estar informado del alcance y los límites de su área de responsabilidad y todo el personal estará suficientemente cualificado para efectuar el trabajo, según el volumen y complejidad del mismo. La cualificación incluirá un control interno y externo de la formación, adiestramiento y experiencia del personal del laboratorio. Se realizará una adecuada supervisión por personal familiarizado con el tema. Para obtener mejoras en la formación de todo el personal, se establecerán cursos de administración de laboratorio como parte de un programa de formación continuada para profesionales y técnicos, que serán desarrollados efectuando reuniones periódicas para informar de los cambios que puedan tener lugar y solicitar sugerencias al respecto.

Control y calibración del instrumental del laboratorio

Otro aspecto que se debe tener en cuenta es el control y la calibración del instrumental del laboratorio, ya sea simple o automatizado. En primer lugar se hace necesario conocer el aparataje inventariable, estableciendo su grado de pertenencia al laboratorio, rendimiento actual y tiempo previsto de funcionamiento operativo del mismo. Se deben cumplir, estrictamente, las especificaciones del fabricante. Se dispondrá de hojas de funcionamiento de aparatos simples y complejos (pegadas al mismo, si es posible). Aquellas se guardarán durante toda la vida del aparato, y reflejarán la fecha y los parámetros que son medidos (comportamiento, desviación de función, problemas de función, acción correctora, incidentes, mantenimiento preventivo). El control será diario (estufa), semanal o mensual, según el tipo y las necesidades de cada instrumento. Además, se dispondrá de termómetro interno y sistemas de alarma luminosos y sonoros. En la tabla 2 se reflejan algunas de las acciones más importantes que se deben aplicar en los diferentes equipos simples.

El control del sistema automatizado debe permitir un resultado objetivo, para lo cual requiere que la validez de los datos esté asegurada por un sistema que detecte los errores de experimentación, observación o medida. En la tabla 3 se reflejan los aspectos más importantes que deberían cumplir los sistemas automatizados. Estos dispondrán de planes de calibración de las mediciones a realizar, verificación de las funciones que ejecuta el sistema (tabla 4) y, finalmente, el plan de mantenimiento específico del sistema¹¹⁻¹³.

Control de muestras y eliminación de residuos

Nos referimos a la selección, recogida, transporte, conservación, preparación y almacenamiento de las mues-

TABLA 2. Actuaciones aplicadas sobre el instrumental simple

Equipo	Cuidados ordinarios	Vigilancia
Baño María	Limpiar superficie interna. Cambiar el agua cada mes	Verificar nivel de agua a diario. Registrar la temperatura un día de cada semana
Centrífuga	Limpiar pared interna con antiséptico cada semana o en rotura de tubos de vidrio o derrames	
Estufa	Limpiar superficie interna de pared y parrillas cada mes	Registrar la temperatura al comienzo de cada jornada de trabajo
Refrigerador congelador	Limpiar y descongelar cada 2 meses y tras interrupción del suministro eléctrico	Registrar la temperatura el primer día de cada semana
Lector	Igual que la centrífuga	Controlar señal mediante estándares cada semana
Lavador	Igual que la centrífuga	Prueba de verificación diaria
Pipetas	Limpiar superficie interna de pared con antiséptico cada semana o en caso de contaminación interna	Prueba de verificación semanal

tras y eliminación de residuos. Las actuaciones más importantes a tener en cuenta se reflejan en la tabla 5.

Selección y utilización de la prueba

La selección de los reactivos se efectuará entre pruebas aprobadas y uniformes, por una serie de factores que conforman diversas variables. En primer lugar, se estimará la propia naturaleza de la enfermedad, teniendo en consideración si es tratable o grave, su prevalencia, las con-

secuencias económicas, sociales o psicológicas de un resultado falso, las posibilidades de opción y un análisis de coste-beneficio. El formato puede efectuarse con equipos abiertos o cerrados. La capacidad del laboratorio también se ha de tener en cuenta, considerando los costes derivados del empleo de reactivos, la carga y laboriosidad que suponga, así como los requerimientos de las muestras, personal específico o espacio físico. El número de determinaciones de rutina o urgentes determinará, en parte, la utilización de la prueba. Del mismo modo se considerará la intencionalidad en el uso de la prueba, ya sea para cribado o confirmación (como las que se emplean en el caso de confirmación de infecciones graves o debido a la existencia de falsos positivos en poblaciones poco prevalentes).

Antes de la utilización de la prueba es imprescindible una evaluación previa o verificación, que se efectuará por nosotros mismos o revisando la literatura, y se determinarán variables como: la exactitud o fiabilidad, que es el grado en el que se acerca el resultado obtenido al valor verdadero; la precisión, que consiste en determinar sobre la muestra control la media y desviación estándar obtenida tras la repetición. Nos informa de la reproducibilidad de una prueba que se hace sin coincidir en el tiempo, aceptándose, para valores bajos, variaciones de hasta un

TABLA 3. Condiciones a cumplir por la automatización

Captación y emisión continuada de la información
Uso de código de barras en muestras, soportes y reactivos
Rapidez en funciones
Control de absorción del factor reumatoide
Uso potencial de muestras tratadas con calor
Formato en microplaca (abierto) o específico (cerrado)
Robotización del transporte del soporte y dispensación de reactivos sin contaminación
Incubación y lavado del soporte con evaporación reducida
Realice y guarde la lectura del ensayo con interpretación de resultados, en fases de:
1º Validación de la prueba
2º Interpretación del resultado obtenido en la muestra
Realice y monitorice, simultáneamente, varias pruebas por muestra
Disponga de manual de interpretación y solución de errores
Verifique la exactitud de funciones

TABLA 4. Verificación de exactitud de funciones del sistema automatizado

Con frecuencia diaria
Comunicación con equipos remotos
Dispensación y dilución de muestras y reactivos
Medición de volúmenes de reactivos
Vacío de los sistemas de lavado
Temperatura
Lavado de soporte sólido
Lectura fotométrica. Chequeo de linealidad de longitudes de onda
Control de lote para interpretación de resultados
Con frecuencia semanal: aspiración, lavado, fotómetro y temperatura de incubación, mediante controles más rigurosos

TABLA 5. Actuaciones para asegurar el control de calidad de las muestras empleadas en el inmunodiagnóstico

Selección, recogida, transporte, conservación, preparación y almacenamiento adecuado
Eliminación de residuos
Elaborar definiciones conjuntas entre clínicos y directores de laboratorio
Excluir muestras duplicadas en 72 horas
Política horaria de recogida
Identificación correcta
Participar en la formación de personas
Elaborar instrucciones por escrito
Controlar muestras específicas
Discos impregnados con sangre
Saliva o líquido crevicular ¹⁴
Líquido cefalorraquídeo

título de diferencia y de dos títulos si son altos; la linealidad, que se evalúa con diluciones seriadas de muestra control; la automatización posible, que aumentaría la exactitud y precisión; la posible interferencia de factores séricos, para lo que se ha de revisar la literatura o adicionar sustancias que interfieren en la muestra; la efectividad o capacidad de realizar un diagnóstico correcto en condiciones reales, que a su vez depende del grado de comportamiento en la población sana o enferma; la sensibilidad o número total de resultados positivos entre el número total de infectados (cuanto más sensible sea menos falsos negativos se obtendrán); la especificidad o número total de resultados negativos entre los sujetos no infectados (cuanto mayor sea menos resultados falsos positivos tendrán lugar). Lógicamente, la sensibilidad y especificidad de una prueba están relacionadas. Modificando los criterios de limitación cabe aumentar la sensibilidad de una prueba a expensas de su especificidad y viceversa. Se prefieren los métodos muy sensibles, aunque a costa de reducir la especificidad, en infecciones tratables, fácilmente evitables, cuando los falsos positivos no causan trastornos físicos, psíquicos, económicos o sociales, en poblaciones de bajo riesgo o estudios de cribado de la infección. Estas pruebas es preferible utilizarlas en grupos de riesgo. Se prefiere utilizar pruebas muy específicas, aunque a costa de bajar la sensibilidad, en situaciones contrarias a lo anterior. Otro parámetro que debe valorarse es el valor predictivo, que mide la validez de la prueba teniendo en cuenta la prevalencia de la infección. Su formato positivo es el porcentaje de enfermos que detecta la prueba del total de resultados positivos. El formato negativo es el porcentaje de sanos que detecta la prueba entre los que dan una respuesta negativa en la prueba. Los resultados obtenidos en estos parámetros se deben comparar con los logrados mediante la prueba de referencia, si existe. En el caso de que se trate de equipos completos suministrados se comprobará si se cumplen las especificaciones del fabricante. En cualquier caso, al menos se analizarán 20 muestras reactivas y entre 20 y 50 no reactivas. El equipo estará verificado si la desviación obtenida es inferior al 5% de la esperada. Cuando los equipos que se utilizan se elaboran "en casa", es preciso observar ciertas medidas adicionales:

1. Estandarizar el antígeno y el sistema marcador, estableciendo correctamente la correspondencia de los anti-anticuerpos. Así, generalmente se utilizan los anticuerpos cabra y oveja frente a los humanos.

2. Investigar el ruido de fondo que produce cada reactivo del equipo por separado y un suero no reactivo con el soporte sólido no sensibilizado (en este caso la señal producida debe sustraerse de la señal obtenida). La señal que produce el PBS (*phosphate buffered saline*) en el ELISA debe ser inferior a 0,1 unidades arbitrarias (preferiblemente 0,05) de densidad óptica y la del control negativo inferior a 0,2. Si la absorbancia es superior a estas cifras es preciso llevar a cabo alguna de las siguientes actuaciones: adicionar a la fase sólida albúmina sérica bovina al 1%-5% u otra proteína inespecífica, que cubra los lugares no reactivos, aumentar la efectividad del lavado o su número, incrementar la dilución o pureza del conjugado enzimático o diluir este en un tampón con suero no reactivo, entre el 1% y 5%, de la misma especie animal que se investiga¹¹.

Cuando, por el contrario, se adquieren los equipos a un proveedor, estos deben cumplir las exigencias que a tal efecto dispone el Real Decreto 166/2000 sobre Requisitos de Conformidad de los Productos Sanitarios de Diagnóstico *In-vitro* y Accesorios. Este decreto entró en vigor a primeros de octubre del año 2000, aunque existe un período transitorio de adaptación hasta diciembre del año 2005. Su contenido se basa en la directiva europea 98/79/CE, las normas del CEN (Comité Europeo de Normalización) y el CENELEC (CEN Electrónica). Su contenido obliga a que tales equipos tengan que llevar la marca CE para poder ser utilizados, símbolo que prueba que determinado producto o servicio se ajusta o satisface plenamente la exigencias técnicas esenciales impuestas por las directivas que lo afecten, así como las expresadas por el fabricante para ese equipo en lo referente al control del proceso de elaboración y capacidad de detección de antígeno o anticuerpo. Además existen organismos notificados, designados por las administraciones nacionales, para la evaluación de la conformidad de algunos de los productos fabricados, de los que se deriva un mayor riesgo, como son los que detectan la infección por retrovirus, virus de la hepatitis B, C y D, virus de la rubéola, *Toxoplasma gondii*, citomegalovirus y *Chlamydia*. En el resto de los productos la conformidad es llevada a cabo sólo por el fabricante, bajo su responsabilidad. Con los requisitos exigidos cumplidos la comisión atribuye un número que es publicado en la Organización de Desarrollo y Cooperación Económica (DOCE). Esta normativa no se aplica a los equipos elaborados en casa y afecta a todo lo fabricado y destinado a ser usado en el laboratorio con fines de diagnóstico o prevención de un proceso infeccioso o no. En el caso de que existan problemas de cualquier tipo se deben notificar a la Dirección General de Farmacia y Productos Sanitarios.

Control de almacenamiento de reactivos

Para llevar a efecto el control del almacenamiento de los reactivos es preciso, en primer lugar, realizar un registro de los reactivos en uso y reserva. También se debe procurar que su conservación tenga lugar según las condiciones del fabricante, marcando los contenedores con su contenido, concentración, requerimientos de conservación y fecha de preparación. Se descartarán los reactivos caducados o que no cumplan unas condiciones de almacenamiento adecuado, para lo que se evitarán las congelaciones-descongelaciones (antes de congelar se dividirá en alícuotas para realizar varias determinaciones). Por último, es necesario el control de la fecha de caducidad, la recepción y el momento del primer uso del reactivo. Según la naturaleza y componentes de los reactivos se han de tener diversas precauciones. Los antígenos se mantendrán a la temperatura requerida y, preferiblemente, liofilizados ya que así se evitarán los problemas de transporte y su concentración no disminuirá con el almacenamiento. Los sueros patrón se titularán frente a su antígeno y se conservarán a -20° C en pequeños viales para usarlos independientemente en cada reacción. Por su parte, el agua tiene otras implicaciones. Así, el agua aportada por un fabricante sólo puede ser usada para tal fin, se debe colocar dentro de un contenedor secundario para ser usada, nunca introducir pipetas en el contenedor original y 7 días después de su apertura se

debe descartar, puesto que se degrada durante la conservación. Se han establecido tipos de agua, del 1 a 4, según el Consejo Nacional de Normalización de Laboratorios Clínicos (NCCLS) en base a criterios de conductividad, pH, contenido en sílice, bacteriológico y en partículas. La mayor parte de las veces se debe usar el tipo 1 para los ELISA. Para la preparación se utiliza la destilación o la desionización, siendo este último el método más usado. La simple esterilización del agua no cumple estas especificaciones. Es necesario diseñar y construir un sistema de distribución de aguas que cumpla las normas del NCCLS, como disponer de contenedores de propileno reforzado con fibra de vidrio.

Control de funcionamiento de productos perecederos

El control de funcionamiento de productos perecederos, si son de uso habitual, se realizará una vez a la semana, y si son de uso no habitual, cada vez que se usen. Para ello, se debe vigilar la fecha de elaboración, recepción del reactivo, primer uso y caducidad.

Manuales

Deben ser aprobados, estarán en un lugar accesible, se actualizarán al menos cada año, con bibliografía de apoyo reciente, y existirán copias en varios sitios del laboratorio. Es necesario aprobar y fechar todos los cambios que se realicen. El Manual de la Calidad ha de contener información sobre los distintos temas relacionados con el control de calidad del laboratorio, entre los que se incluirán la estructura orgánica del laboratorio, recursos humanos, normativa de construcción, instalaciones, precauciones de seguridad, instrumentación y obtención de material y reactivos. Además del Manual de la Calidad también se recogerá la información acerca de la muestra (tipo, soporte, cantidad y conservación), técnica empleada para la determinación, plazo de entrega e interpretación de los resultados, informes recibidos de evaluaciones de calidad (auditorías externas e internas), manipulación y eliminación de residuos peligrosos, prevención de contaminación ambiental, mantenimiento y cuidado del equipo, limpieza del lugar de trabajo, inmunizaciones apropiadas, registro, eliminación y procesamiento de las muestras, y registro y notificación de los resultados en un Manual de Procedimientos. Este manual sustenta el correcto funcionamiento del laboratorio. Englobarán todas las pruebas que se llevan a cabo en los aspectos del fundamento de las técnicas, realización, límites de comportamiento normal, tipo de muestra a aplicar, preparación de reactivos, controles de calidad, y cálculos y presentación de los resultados. Se guardarán los procedimientos antiguos durante dos años. Finalmente, los manuales se deben aplicar siguiendo escrupulosamente las "buenas prácticas de laboratorio" (BPL) establecidas en las normas de sistemas de calidad ISO 9000, para que los laboratorios demuestren que sus productos satisfacen los estándares de calidad establecidos.

Uso de laboratorios de referencia

El empleo de los laboratorios de referencia tiene como objetivo realizar pruebas que: a) se solicitan con escasa frecuencia; b) tienen un carácter muy especializado; c) requieren confirmación; d) se desee determinar de un modo más específico algún agente patógeno de gran

importancia para la salud pública; o e) contrasten periódicamente los resultados habituales del laboratorio. Del mismo modo, son necesarios estos laboratorios para proporcionar sueros de referencia y reactivos estandarizados con fines de control de la calidad y formación profesional, así como para que, opcionalmente, facilite muestras anónimas con clave cifrada para que el laboratorio solicitante pueda poner a prueba su competencia.

Fase analítica

La fase analítica se realizará diariamente y siguiendo las normas del fabricante. Requiere la actualización continua, introduciendo nuevas pruebas que mejoran la anterior en todos los aspectos¹¹. Su aplicación debe incluir (tabla 1) aspectos relativos a la preparación de las muestras para eliminar el factor reumatoide o los anticuerpos compartidos entre varios procesos infecciosos diferentes, el control de la realización del ensayo y la política de optimización de los recursos.

Control de la preparación de la muestra

Cuando se quiera detectar la presencia de IgM en las muestras es necesario separarla del resto de los componentes séricos para de este modo reducir los falsos positivos por la presencia del factor reumatoide y los falsos negativos debidos al exceso de IgG. Este proceso se puede realizar con diversos métodos, como son las resinas de intercambio iónico (con el inconveniente de que eliminan IgM y dejan IgG4, es un proceso lento y requieren bastante muestra), la centrifugación con gradiente de sacarosa (con el inconveniente de que eliminan IgM y es un proceso complejo) o la fijación de la IgG con proteína A o anti-IgG de oveja frente al fragmento Fc de la IgG humana (este método también evita los falsos negativos que se producen en la detección de IgA por el exceso de IgG). Por último, también se puede utilizar la cromatografía de filtración en gel o la captura de la IgM. Esta variante, popularizada por fabricantes como la más específica, puede presentar falsos positivos por la presencia del factor reumatoide. Entonces, en aquellos casos en los que se obtenga una positividad límite, se debe repetir el ensayo adicionando previamente anti-IgG. Para evitar las reacciones serológicas cruzadas se puede utilizar la adsorción previa del suero con otro antígeno, la purificación con adsorción en una columna con el antígeno puro y elución posterior o la realización directa de la prueba con epítomos específicos. En todos los casos se incrementa la especificidad del resultado pero se reduce el valor predictivo negativo.

Control de realización del ensayo

Cuando se quiere controlar la realización de los ensayos, se deben tener en cuenta múltiples aspectos. Así, no se deben intercambiar reactivos de equipos con lotes distintos salvo especificación de fabricante. Cuando se cambia de lote pueden existir variaciones cuantitativas significativas del resultado de uno a otro empleando la misma muestra. Por ese motivo, los estudios apareados se deben realizar usando el mismo lote de reactivos. De la misma forma, es necesario el uso de controles (prueba de validación) que informan del comportamiento de una prueba verificado, garantizando el buen funcionamiento del ensayo. Debe realizarse en cada ensayo y cada vez que se

recibe un reactivo o lote. El origen de los componentes de los reactivos son apartados por el fabricante, como una información, que suele ser lote-específica. En caso de que los controles sean elaborados en casa o de otras fuentes, se validarán previamente por un laboratorio de referencia. Por último, no se puede olvidar que las diferentes pruebas tienen múltiples limitaciones que no se pueden olvidar (tablas 6 y 7)

Perfiles serológicos

La utilización de una política de optimización mediante el uso de los perfiles serológicos consiste en el estudio, de forma programada, de los posibles agentes etiológicos de un síndrome clínico, ya sea de uno en uno o simultáneamente (económicamente más caro aunque más rápido y, probablemente, más efectiva desde el punto de vista clínico). Generalmente hay niveles que se ejecutan progresivamente según los resultados obtenidos en el nivel anterior. En cada etapa del examen de una muestra los resultados se deben interpretar con miras a escoger la prueba más rápida y fiable para la etapa siguiente. Este método de optimización del trabajo mejora el rendimiento del laboratorio al excluir o incluir determinaciones que el clínico había solicitado o no, respectivamente. Esta filosofía de trabajo supone una organización especial del laboratorio y una comunicación fluida con el clínico, que contribuyen a reducir costes¹⁵. Esta política de optimización debe incluir, también, ciertas actuaciones como “no realizar determinaciones en líquido cefalorraquídeo antes de los estudios en suero”, “no hacer serología de hepatitis en sujetos con enzimas hepáticas normales”, etc. Cada laboratorio podrá utilizar los perfiles de traba-

jo que más demanda y rendimiento tengan. De esta forma la petición de la prueba se ha de entender como una forma de diálogo que se inicia cuando surgió el problema infeccioso por el que el clínico competente plantea problemas al laboratorio. Si el problema está bien planteado, la respuesta del laboratorio encaja en la pregunta. El microbiólogo hará lo que tiene que hacer y no lo que el clínico quiere que haga, lo que por desgracia no coincide siempre.

Fase postanalítica de interpretación de resultado

La computarización facilita la lectura e interpretación de los resultados obtenidos, señalando aquellos positivos o con comportamiento atípico, y reduciendo los posibles errores. La informática mejora la calidad del informe y reduce los costes. Su elaboración puede o no formar parte del más amplio subsistema que abarca todos los laboratorios de análisis y éste, a su vez, formar parte del sistema informático del hospital^{15,16}. En el control de la fase postanalítica se deben distinguir los elementos del informe en elaboración y los que se incluirán en la historia del enfermo (tabla 1).

Elementos del informe en elaboración

Todos los datos del control de calidad se deben revisar, firmar por el supervisor o director del laboratorio y guardar, al menos, durante dos años en un lugar fácilmente accesible para su posterior revisión en caso necesario, siempre cumpliendo la legislación sobre protección de datos del enfermo. Cuando los datos excedan el límite de tolerancia permitido se ha de indentificar el problema y documentar la acción correctora aplicada, anotando las

TABLA 6. Limitaciones de las pruebas que no utilizan anticuerpos marcados

Prueba	Control de calidad básico	Limitaciones
Precipitación	Control P/N/PL/ diluyente	La hemoglobina interfiere. Falsos negativos
Aglutinación directa	Control P(10 UI) /N/ diluyente	Falsos negativos y positivos
Látex para detectar Ac	Control P/N/ látex	No sustituye al cultivo de LCR; tratar el suero
Látex para detectar Ag	Similar al anterior	Falso negativo
Hemaglutinación	Similar al anterior	Falso negativo
Fijación del complemento	Control P/N. Acitividad anti-C' de suero, Ag y tampón. Control de hemáties. Estándares de hemólisis	No estudios epidemiológicos. Estandarización. Titular el C' frente hemolisina y el Ag frente Ac. El C' es termolábil (-70° c/4°c)

P: positivo; N: negativo; PL: positivo límite; Ac: anticuerpo ; Ag: antígeno; LCR: líquido cefalorraquídeo; C': complemento.

TABLA 7. Limitaciones de las pruebas que utilizan anticuerpos marcados

Prueba	Control de calidad básico	Limitaciones
IFI	Control P /PL (2 diluciones por arriba y una por abajo)/ N/PBS	Falsos positivos: anticuerpos totales, subjetividad, autofluorescencia, suciedad, anticuerpos antinucleares, contaminación entre pocillos, lectura precoz, falso negativo, microscopio
ELISA para detectar Ac	Control P/N/Tampón	Evitar contacto de cromógeno con partes metálicas o hipoclorito. Anticuerpos heterófilos pueden interferir con los EIA en sandwich. Requiere infraestructura. Posibilidades de separación entre Ag y Ac
ELISA para detectar Ag	Control P/N	Falso negativo por escaso Ag o formando ICC (disociarlos)
Immunoblot	Control P/PL/N	Caro. Puede ser complejo de interpretar. No usar para cribado
Inmunocromatografía	Control P/N	Falsos negativos

P: positivo; N: negativo; PL: positivo límite. Ac: anticuerpo; Ag: antígeno. ICC: inmunocomplejos. EIA y ELISA: enzimoimmunoanálisis; IFI: inmunofluorescencia indirecta, PBS: phosphate buffer saline.

personas implicadas en la incidencia. Estos datos sólo deben estar a disposición de personal autorizado. Los resultados dudosos requieren la repetición del ensayo y no se debe informar el resultado hasta que no se esté seguro del mismo. Si persiste, la interpretación dependerá de la prueba empleada (así los ensayos de avididad de IgG permiten discriminar múltiples situaciones atípicas)¹⁷, de la posibilidad de obtener una nueva muestra y de la situación clínica del sujeto.

Elementos del informe en la historia del enfermo

El control de los elementos del informe en la historia del enfermo incluye la revisión completa de los datos del enfermo y resultados antes de que sea emitido desde el laboratorio. La información emitida se puede hacer por teléfono (cuando el resultado es crítico para el cuidado del enfermo o se trata de información relativa a un agente altamente infeccioso, si bien se debe hacer de una manera muy restringida) o por escrito (de forma preliminar, en las primeras 24-48 horas de la recepción de la muestra, o definitivo). Siempre se debe tener en cuenta que los informes no definitivos pueden inducir a problemas y consumir más tiempo. Todos los informes deben contener datos del enfermo relativos a la filiación, nombre del laboratorio y del facultativo, fecha de entrada y salida del informe, nombre de la prueba realizada y resultados obtenidos, incluyendo los valores normales numéricos. En determinadas ocasiones, si procede, se ampliará el informe con información interpretativa acerca de los resultados obtenidos, de la prueba empleada o sobre la recogida o transporte inadecuado de las muestras. Si se detecta un error en un informe emitido es necesario contactar con el médico, informarle de que le fue emitido un resultado erróneo y enviar uno nuevo correcto en el que se refleje que incluye una información corregida. No se debe eliminar el resultado erróneo de nuestra ficha del enfermo para que conste en posteriores controles. Para detectar errores es necesario revisar los informes y controlar los resultados inusuales con sistemas de detección de los mismos. A nivel de laboratorio son precisas las reuniones diarias para comentar los hechos más relevantes acaecidos, y semanales para informar de los problemas, solicitar sugerencias y realizar los cambios potenciales.

En resumen, podríamos decir que el control de la calidad implica una acción que, inicialmente, puede ser

molesta pero, a cambio, se convierte en nuestro mejor aliado para superar los problemas del trabajo diario. Además, los costes que ocasiona la falta de calidad en los resultados nos obligan a tener que instaurarla en nuestro trabajo diario.

Bibliografía

1. Anónimo. Plan Nacional de Calidad Industrial. Ministerio de Industria y Energía. Subdirección General de Seguridad y Calidad Industrial. 1996.
2. Baron EJ. Instrument maintenance and quality control. En: Isenberg HD, ed. Clinical microbiology procedures Handbook. Washington: ASM 1992; 2: 12.0.1-12.22.1.
3. Sewell DL. Quality assurance, quality control, laboratory records, and water quality. En: Isenberg HD, ed. Clinical microbiology procedures Handbook. Washington: ASM, 1992; 2: 13.1.1.-13.4.11.
4. Bartlett RC. Quality assurance in the clinical microbiology laboratory. En: Balows A, Hausler WJ, Hermann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ, eds. Manual of clinical microbiology (5ª ed.). Washington: ASM. 1991; 36-43.
5. Borobio MV. Control de calidad en el laboratorio de serología. Actas de la I Reunión de la Sociedad Andaluza de Microbiología y Parasitología Clínicas. Almería: SAMPAC, 1988.
6. Aznar J. Control de calidad en el laboratorio de virología. Actas de la I Reunión de la Sociedad Andaluza de Microbiología y Parasitología Clínicas. Almería; SAMPAC, 1988.
7. Vandepitte J. Métodos básicos de laboratorio en bacteriología clínica. Organización Mundial de la Salud, 1993.
8. Miranda C, Mendoza J. Control de calidad en microbiología. *Enf Infecc Microbiol Clin* 1988; 6: 281-283.
9. Sewell DL, McLowry JD. Laboratory management. Manual of clinical microbiology. Murray PR, Baron EJ, Pfaller PA, Tenover FC, Tenover RH, eds (7ª ed.) Washington: ASM, 1999; 4-22.
10. Della-Latta P, Vellozi EM. Instrument maintenance and quality control. En: Isenberg HD, ed. Essential procedures for clinical microbiology. Washington ASM, 1998; 695-730.
11. Sewell DL. Quality assessment and control. En: Isenberg HD, ed. Essential procedures for clinical microbiology. Washington: ASM 1998; 733-747.
12. Tomar RH. Laboratory automation: systems operational requirements, characteristics, and information elements; proposed standard. AUTO4-P. NCCLS standards and guidelines 1999; 1-9.
13. McPherson RA. Laboratory automation: electromechanical interfaces; proposed standard. AUTO5-P. NCCLS standards and guidelines 1999; 1-9.
14. Gutiérrez J, Guerrero R, Menéndez M, Noguero B, Liébana J. Análisis mediante una prueba de ELISA de la respuesta de anticuerpos frente a *Fusobacterium nucleatum* y *Eikenella corrodens* en sujetos con enfermedad periodontal. *Med Clin (Barc)* 2000; 115: 176-177.
15. Brezmes MF, Ochoa C, Eiros JM. Gestión y sistemas de información aplicables al laboratorio de microbiología clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1999; 17: 231-241.
16. Campos JM. Use of the laboratory information system to improve the quality and reduce the costs of microbiology testing. *Clin Microbiol Newsl* 1999; 21: 11-14.
17. Gutiérrez J, Maroto MC. Are IgG antibody avidity assays useful in the diagnosis of infectious diseases? A review. *Microbios* 1996; 87: 113-121.