

INSTITUTO
NACIONAL
DE
SALUD



Bogotá, D.E., Colombia

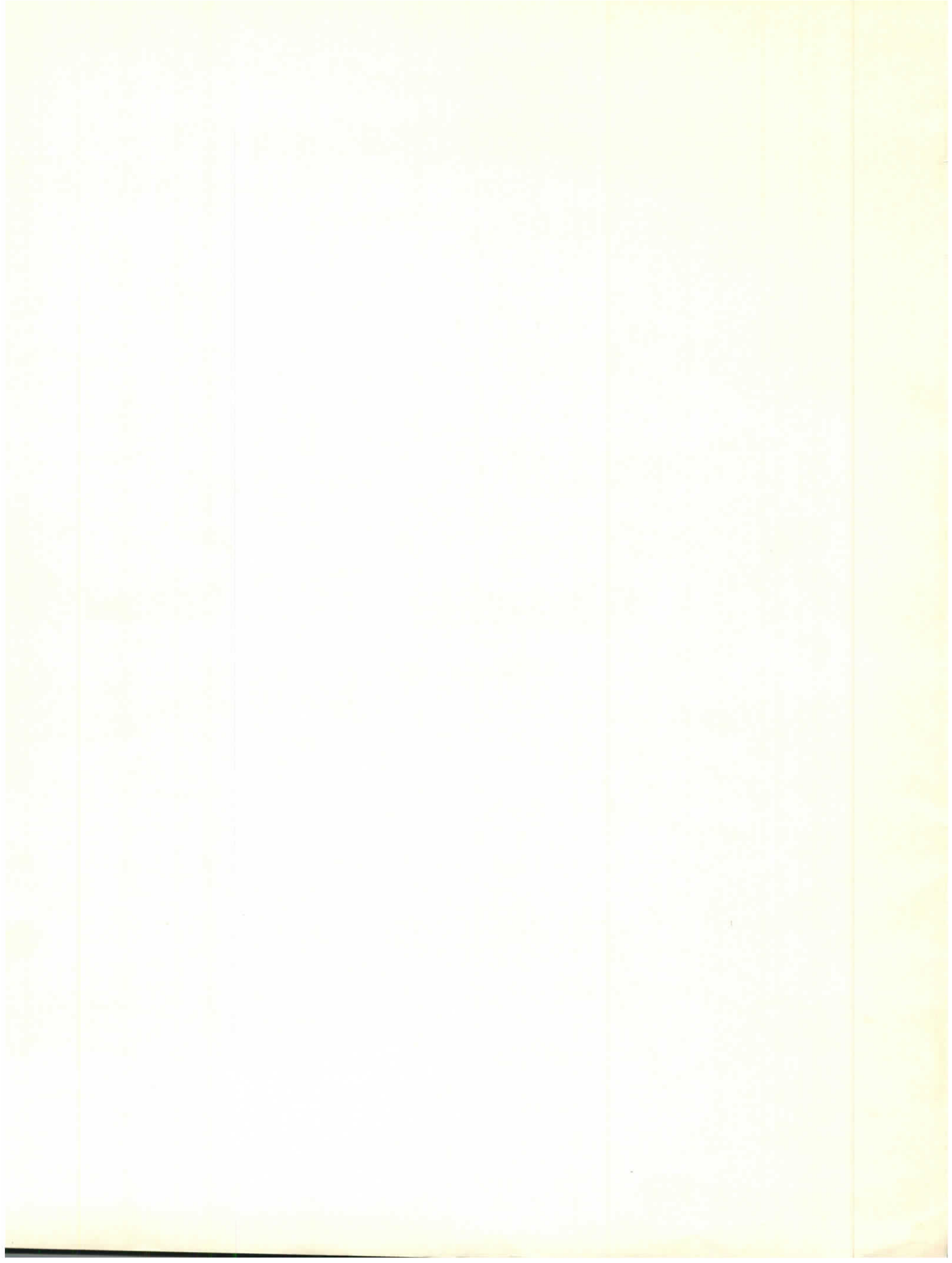
Serie Publicaciones Científicas, N° 2

Garantía de Calidad

Manual de Procedimientos

ENERO DE 1986

RED
NACIONAL
DE
LABORATORIOS



Serie Publicaciones Científicas, N°2

Garantía de Calidad

Manual de Procedimientos

SYLVIA MARIA NAVARRETE

GLORIA INES MUNERA

Grupo Control de Calidad – Instituto Nacional de Salud

Ministerio de Salud – Instituto Nacional de Salud – Bogotá, D. E., Colombia – 1986

Derechos reservados por el I.N.S. Prohibida toda reproducción parcial o total de este documento, sin previa autorización escrita de esta Institución.

Código Editorial ISBN - 958 - 13 - 0000 - 7

DR. LUIS FERNANDO DUQUE RAMIREZ

Director Instituto Nacional de Salud

DR. JAIME RODRIGO GUTIERREZ CORREA

**Director Laboratorio Nacional de Salud
"Samper Martínez"
(Hasta Marzo de 1985)**

DR. MAURICIO RESTREPO TRUJILLO

**Director Laboratorio Nacional de Salud
"Samper Martínez"
(Desde Marzo de 1985)**

EDITOR:

Dr. Gabriel Toro González

COMITE EDITORIAL:

Dr. Carlos Arturo Hernández

Dr. Moisés Wasserman

Dr. Henry Hansen

Dr. Gerzaín Rodríguez

Dr. Juan Manuel Renjifo

Dr. Francisco Carmona

CONTENIDO

	Página
A MANERA DE PROLOGO	7
I. ASPECTOS GENERALES Y NORMAS	9
A. GARANTIA DE CALIDAD DE LAS MUESTRAS	9
1. Paciente	9
2. Toma de muestras	10
2.1. Recolección	10
2.2. Manejo de muestras	10
3. Identificación	11
4. Proceso de obtención de la muestra	11
5. Transporte	11
6. Almacenamiento	12
6.1. Química Clínica	12
6.2. Hematología	12
6.3. Orinas	12
B. MANEJO DE REACTIVOS	13
1. Reactivos químicos	13
1.1. Normas de seguridad relacionadas con la manipulación de químicos y reactivos	14
1.2. Reactivos químicos peligrosos	14
1.3. Identificación de los reactivos	16
1.4. Empaque de los reactivos para transporte	16
2. Estuches comerciales	16
2.1. Criterios que se deben tener en cuenta para seleccionar un estuche de reactivos comerciales	17
2.2. Suministros	17
C. MANEJO DEL MATERIAL DE VIDRIO	18
1. Manejo de material volumétrico	18
1.1. Pipetas	18
2. Limpieza del material de vidrio	19
2.1. Material para bioquímica	19
2.2. Material para hematología	19
3. Control de limpieza del material de vidrio	21
D. AGUA GRADO REACTIVO	21
1. Clasificación	22
2. Control de calidad del agua grado reactivo	24
2.1. Semanalmente	24
2.2. Mensualmente	26

	Página
II. INSTRUMENTACION Y CONTROL DE EQUIPOS	29
A. GENERALIDADES SOBRE ESPECTROFOTOMETRIA	29
1. Componentes de un espectrofotómetro	31
2. Curvas de calibración	33
3. Errores fotométricos	35
B. CONTROL Y MANTENIMIENTO DE LOS INSTRUMENTOS DEL LABORATORIO CLINICO	38
1. Control de los espectrofotómetros	38
2. Control de los fotómetros	45
3. Balanzas analíticas y balanzas de precisión	47
4. Baños serológicos	48
5. Centrífugas	50
6. Centrífuga para Microhematocrito (Microcentrífuga)	52
7. Microscopios	53
8. Refrigeradores y congeladores	55
9. Pipetas automáticas	58
10. Dispensadores	59
11. Potenciómetros	59
12. Fotómetros de llama	61
13. Registro de mantenimiento	63
III. PROGRAMA INTERNO DE GARANTIA DE CALIDAD EN EL LABORATORIO CLINICO	65
1. Precisión y Exactitud	65
2. Distribución normal de frecuencias	65
3. Desviación estándar y coeficiente de variación	66
3.1. Aplicación práctica de la desviación estándar	68
3.2. Interpretación del coeficiente de variación	68
4. Gráficas de control diario	70
4.1. Interpretación de los resultados	71
4.2. Utilización de las gráficas de Garantía de Calidad	72
5. Control de la exactitud	74
6. Soluciones de control	74
6.1. Sueros control	74
6.2. Soluciones patrón	76
BIBLIOGRAFIA	81

A MANERA DE PROLOGO

La Oficina de la Red Nacional de Laboratorios, (RNL) el Grupo de Control de Calidad y los diferentes Laboratorios del Instituto Nacional de Salud, conscientes de la situación actual de los laboratorios y de los problemas que se presentan por la falta de normatización, calidad y diversificación de procedimientos y equipos sin estandarización de los mismos, ha considerado fundamental elaborar los Manuales de Procedimientos para las diversas áreas del Laboratorio de Salud Pública.

Estos manuales son el documento de consulta para el trabajo diario del laboratorio; allí se resumen las normas establecidas y las técnicas recomendadas para ser adoptadas por cada laboratorio, las cuales deben seguirse estrictamente para asegurar la estandarización, reproducibilidad y exactitud en los procedimientos, cumpliendo así algunos de los objetivos señalados en la resolución 01346 de 1977 que establece la Red Nacional de Laboratorios.

La preparación de estos documentos se realizó gracias al trabajo de los grupos de expertos de cada laboratorio del Instituto Nacional de Salud y contando con asesoría externa cuando fue necesario.

Estos manuales no son textos de estudio y están diseñados como guías básicas y prácticas para el buen manejo de las técnicas del laboratorio. Para profundizar sobre los aspectos teóricos de la tecnología se deben consultar las publicaciones reconocidas sobre los diferentes temas y las referencias bibliográficas incluidas al final de cada manual.

Otro aspecto que debe señalarse, es el hecho que la esencia misma de la norma es la de ser temporal, porque ésta responde a la dinámica del conocimiento científico que plantea nuevos hallazgos día a día, y por tanto la "vida" de este documento está estrechamente ligada a estas circunstancias.

Expresamos un sentido reconocimiento a la colaboración recibida del Dr. Alonso Belalcázar quien temporalmente dirigió la Red Nacional de Laboratorios, y del mismo modo la muy eficiente asesoría prestada por los doctores Francisco Rudas y Nohora de Merino. También dejamos constancia de nuestra gratitud y por idénticas razones a la bacterióloga Gladys de García, a la dibujante Angela Quintero y al grupo de secretarías.

Esperamos que éste primer esfuerzo logre facilitar el trabajo, mejorar la calidad de los resultados y establezca un puente de comunicación entre los diferentes Niveles que constituyen la Red.

Los Autores

I. ASPECTOS GENERALES Y NORMAS

La finalidad de un programa de Garantía de Calidad es asegurar que en todos y cada uno de los pasos que conducen a la obtención de un resultado de laboratorio se sigan ciertas normas que conlleven a la precisión y exactitud en todos los análisis.

A. GARANTIA DE CALIDAD DE LAS MUESTRAS

1. Paciente

La preparación adecuada del paciente y la buena calidad del espécimen son factores determinantes para la obtención de resultados acordes con la realidad.

Si éstos aspectos son inadecuados o descuidados, los resultados no solamente serán inútiles para un diagnóstico, sino confusos y algunas veces hasta perjudiciales para el paciente implicado.

En la preparación del paciente para exámenes que así lo requieran, tales como curva de tolerancia a la glucosa, pruebas bioquímicas en orina, estudios bacteriológicos, etc. el laboratorio debe dar las instrucciones por escrito a los usuarios, donde explique detalladamente y en forma clara y sencilla, los requisitos y los pasos a seguir para una buena preparación antes del examen.

En el momento de la toma de la muestra es importante consultar las variaciones relacionadas con el paciente, teniendo en cuenta el tipo de prueba que se vaya a realizar:

- a. Correcta identificación del paciente.
- b. Edad, peso, sexo, embarazo.
- c. Estado de ayuno del paciente, restricciones dietéticas.
- d. Administración de medicamentos o soluciones por vía intravenosa.
- e. Hora de recolección de la muestra.
- f. Estado de reposo del paciente, o si ha estado practicando algún tipo de ejercicio físico.
- g. Si se trata de algún paciente al que se le está controlando alguna prueba en particular, tener en cuenta que se le tome siempre en las mismas condiciones.
- h. Procedencia del paciente (ambulatorio, hospitalizado).

2. Toma de muestras

Las muestras de sangre para determinaciones de Bioquímica y Hematología son obtenidas por medio de punción venosa y deben ser tomadas por personal entrenado.

2.1. *Recolección*

- a. Preparación del material necesario para la extracción de la sangre. Se recomienda un torniquete de goma de 2-5 mm. de calibre, agujas de bisel mediano, calibre 20 para adultos y 23 ó 25 para niños menores de cinco años, longitud de 30-40 mm. y jeringas con capacidad para 2, 5, 10 ó 20 ml.

Los tubos y frascos necesarios para recibir la muestra con o sin anticoagulante.

- b. Cantidad de muestra. Esta debe ser suficiente para todas las pruebas que se vayan a realizar y depende del número y del tipo de exámenes solicitados.

Se recomienda tomar 5 ml. de sangre por prueba para métodos manuales y 1 ml. de sangre por prueba para métodos automatizados en adultos. Para niños se recomienda tomar la mitad y para recién nacidos obtener la muestra por punción capilar en el talón o en el dedo gordo del pie.

- c. Aplicación del torniquete por no más de 30 segundos.
- d. Palpación e inspección de la vena. Se prefiere la vena central que se encuentra en el pliegue anterior al codo o una de las ramas que forman la Y inmediatamente arriba del lugar donde se juntan. En lo posible se deben evitar las venas laterales.
- e. Limpieza y desinfección del área de venopunción. Se utiliza alcohol yodado: etanol al 70% más tintura de yodo al 1%. La desinfección se efectúa con movimientos circulares de adentro hacia afuera.

2.2. *Manejo de muestras*

Una muestra adecuada es aquella que está libre de cualquier interferencia a saber:

- a. Selección del anticoagulante adecuado para las pruebas que lo requieran. Se debe consultar las tablas de interferencia de anticoagulantes para las pruebas de bioquímica y hematología en los respectivos Manuales de Procedimientos.
- b. Interferencia debida a hemólisis, ictericia y lipemia. Consultar las tablas de interferencia de estos factores con cada una de las pruebas.
- c. Interferencia debida a drogas y medicamentos.

Causas de error en la toma de muestras:

- a. Toma de muestra a un paciente equivocado.

b. Cambios de concentración de los componentes por hemólisis, dilución o evaporación parcial debido a:

- Exceso de velocidad en la succión de la sangre
- Uso de agujas o jeringas húmedas
- Uso de anticoagulantes líquidos en proporciones no calculadas
- Dejar destapados los tubos de las muestras durante períodos prolongados, causando evaporación
- Dilución de la sangre por líquido extravascular

c. Cambios de composición en los componentes de la muestra debidos a contaminación bacteriana o actividad enzimática, por ejemplo, Glicólisis.

d. Alteración de los constituyentes químicos por uso de tubos de ensayo mal lavados o contaminados.

3. Identificación

Una vez tomadas las muestras, se deben identificar en forma clara: se coloca un rótulo que debe incluir el nombre del paciente, fecha y examen a realizar.

En el laboratorio debe existir un libro de registro para cada sección, en el cual se anotarán los datos que van en el rótulo de cada tubo y en donde se asignará un número identificador para cada muestra. En el laboratorio clínico de los hospitales el registro debe incluir: nombre del servicio, número de la cama del paciente y número de la historia clínica.

Verificar que la identificación de la muestra corresponda a la orden médica.

4. Proceso de obtención de la muestra

Plasma: se toma la sangre con el anticoagulante correspondiente según la prueba a realizar, se mezcla suavemente por inversión lo menos 6 veces, se centrifuga durante 10 minutos a 2.000 RPM y se separa el plasma.

Suero: se toma la muestra de sangre en un tubo seco. Se deja reposar 15 minutos a temperatura ambiente. Una vez formado el coágulo se desprende suavemente de las paredes del tubo con un palillo de madera y se centrifuga 10 minutos a 2.500 RPM.

5. Transporte

Si las muestras se han de remitir a otro laboratorio, se debe separar el suero y enviar en frasco tapado dentro de las dos horas siguientes a su recolección.

Si no es posible separar el suero, la sangre total debe enviarse dentro de la primera hora después de su recolección. El envío debe hacerse a la mayor brevedad y en las condiciones adecuadas de refrigeración.

6. Almacenamiento

6.1. Química Clínica

Para los análisis de química se utilizan muestras de suero y eventualmente de plasma. Si los análisis se van a efectuar dentro de la hora siguiente a la recolección de las muestras, éstas se pueden dejar a temperatura ambiente durante este lapso. Si el análisis va a tardar en realizarse más de una hora, el suero o plasma se debe guardar en nevera a 4°C. Si se va a tardar más de cuatro horas la muestra se debe congelar a -20°C. La refrigeración y congelación de las muestras de suero y plasma se debe hacer inmediatamente después de su separación de los glóbulos rojos.

Almacenar en tubos limpios y secos y cubrirlos con Parafilm o en su defecto con tapones de plástico. Las muestras que requieran oscuridad se deben cubrir con un forro de papel aluminio. Se debe evitar que las muestras queden destapadas para evitar su evaporación y la entrada de agua al tubo. El tiempo requerido para conservar las muestras está relacionado con la estabilidad de éstas para cada prueba. Se recomienda consultar las tablas de estabilidad en el Manual de Procedimientos de Química Clínica.

Después de ser procesados los sueros deben ser conservados en refrigeración dos días, para el caso de que eventualmente sea necesaria la repetición de alguna prueba.

6.2. Hematología

Las determinaciones hematológicas deben realizarse dentro de las dos horas siguientes a la obtención de las muestras y durante éste período de tiempo éstas se pueden mantener a temperatura ambiente. Después de las dos horas deben llevarse a refrigeración por un período máximo de seis horas.

Las pruebas de coagulación se deben realizar dentro de la primera hora siguiente a la obtención de la muestra. En caso de que no se puedan realizar durante este lapso, se debe refrigerar el plasma por un período máximo de tres horas, o congelarlo a -20°C. por más tiempo.

En hematología se puede trabajar también con muestras obtenidas por punción capilar, y los diferentes procedimientos se harán directamente a partir de la gota de sangre. Para esta punción se utiliza el algodón, alcohol yodado y lancetas desechables. Después de hacer la punción, desechar la primera gota de sangre y utilizar la siguiente para el examen; esta muestra se puede utilizar para determinar hemoglobina, hematocrito, y realizar recuentos globulares y extendidos de sangre.

La punción capilar se practica generalmente en niños o en adultos en quienes se dificulta demasiado la toma de la muestra de sangre.

6.3. Orinas

Para examen citoquímico de orina se recomienda recoger la primera orina de la mañana. Antes de su recolección se debe realizar un buen lavado de la región genital con agua y jabón, enjuagar bien y desechar la primera parte de la micción; destapar el recipiente en el momento de recoger la orina de la mitad de la micción y desechar la porción final.

Las muestras de lactantes se pueden recoger en un colector especial disponible en el comercio que consiste en una bolsa plástica con un soporte adhesivo alrededor de la abertura para fijar la región púbica de manera que permita la recolección directa de la orina.

Los recipientes para recolección deben estar absolutamente limpios y secos, siendo preferible el uso de recipientes desechables. Estos se deben abrir únicamente al emplearlos y una vez recogida la muestra, deben taparse y trasladarse de inmediato al laboratorio. La muestra se puede dejar máximo una hora a temperatura ambiente y si el análisis no se puede realizar durante este lapso, la muestra debe refrigerarse hasta el momento que se vaya a analizar.

Para precisar la localización de un proceso inflamatorio en vías urinarias (uretritis, cistitis) se recomienda el examen fraccionado del sedimento urinario de la primera micción matinal.

Para pruebas bioquímicas de orina se recomienda tomar el volumen total de 12 a 24 horas, dependiendo del examen. Estas muestras deben recolectarse en frascos perfectamente limpios y dependiendo del tipo de examen, llevarán o no preservativos. Referirse al método específico.

Estas muestras deben ir rotuladas así:

- a. Nombre del paciente
- b. Número de historia clínica, cama, servicio, para pacientes hospitalizados
- c. Hora de inicio de la recolección
- d. Fecha

Estas muestras deben mantenerse refrigeradas durante el tiempo que dure su recolección.

B. MANEJO DE REACTIVOS

1. Reactivos Químicos

En la preparación de reactivos químicos elaborados en el laboratorio se deben tener en cuenta los siguientes puntos:

- a. Emplear solamente productos químicos de grado reactivo para análisis (RA).
- b. Conocer las reacciones químicas producidas por los reactivos que se van a mezclar por ejemplo agua con ácido o bases fuertes con el fin de evitar explosiones u otros fenómenos.
- c. Uso de recipientes para envasar reactivos: deben ser del material apropiado, ejemplo, vidrio neutro, oscuro, plástico, etc.
- d. Tener las debidas precauciones al envasar los reactivos y al empacarlos, si es necesario transportarlos.

- e. Conocer qué reactivos son más peligrosos para su manejo.
- f. Evitar la contaminación de los reactivos por uso de recipientes y pipetas y su posible evaporación al dejarlos mucho tiempo destapados, o mal tapados.
- g. No introducir pipetas en el frasco del reactivo puro. Se debe sacar la cantidad aproximada de reactivo a usar en un vaso de precipitado o probeta y desechar el remanente.

1.1. Normas de seguridad relacionadas con la manipulación de químicos y reactivos.

- Todos los químicos corrosivos como ácidos y alcalis se deben manipular con mucho cuidado.
- Se deben tomar todas las precauciones necesarias para prevenir la inhalación, ingestión de químicos tóxicos o corrosivos y evitar el contacto con ojos y piel.
- Evitar el pipeteo de reactivos tóxicos con la boca.
- Los reactivos de éste tipo que se derramen sobre el piso o asientos del laboratorio deben ser retirados inmediatamente utilizando agentes neutralizantes o grandes cantidades de agua.
- No se debe llevar reactivos tóxicos en los bolsillos.
- Se debe tener mucho cuidado al hacer diluciones de ácidos concentrados: se debe agregar el ácido sobre agua lentamente y mezclar bien. Nunca se debe agregar el agua al ácido concentrado porque puede hacer una reacción violenta.
- Evitar la exposición de reactivos inflamables a llamas abiertas (cigarrillo, mecheros, fósforos) y guardar sus recipientes en lugares bien ventilados para evitar la concentración de vapores.
- Almacenar los reactivos lejos de fuentes de encendido.
- No almacenar los reactivos inflamables en refrigerador.
- Los ácidos fuertes deben ser colocados en el piso.
- Soluciones de reactivos corrosivos o tóxicos deben estar claramente marcadas en el rótulo.
- Los reactivos volátiles deben almacenarse a temperaturas inferiores del punto de flama (temperatura a la cual el reactivo inicia su evaporación).

1.2. Reactivos químicos peligrosos

Acido acético glacial: Es un reactivo inflamable. A temperatura de 40°C. puede formar mezclas explosivas con vapor de aire. Es perjudicial su inhalación o ingestión. Almacenarlo separadamente de los oxidantes.

Acetona: Es inflamable y no se debe exponer a llamas abiertas. Es peligrosa su inhalación e ingestión. Almacenarla en un lugar frío.

Hidróxido de Amonio: Es peligrosa su inhalación o ingestión y cualquier contacto con ojos y piel. Almacenarlo separadamente de los ácidos.

Acido Benzoico: No debe ser expuesto a llamas abiertas. No fumar cuando se esté pesando ácido benzoico. El contacto con los ojos produce enrojecimiento y dolor; causa también enrojecimiento de la piel.

Etil-éter: Es altamente inflamable. No usar cerca de llamas abiertas. A temperaturas por encima de 40°C. forma mezcla de vapores con el aire y es explosivo. Es tóxico por inhalación, irrita los ojos, piel y el tracto respiratorio. Almacenarlo en lugar aireado y a temperaturas no mayores de 12°C.

Acido Clorhídrico: En contacto con el aire forma vapores muy corrosivos. Reacciona violentamente con las bases. Causa severas quemaduras. Almacenarlo separadamente de bases fuertes y a nivel del piso.

Acido Nítrico: Es altamente corrosivo por ingestión o por contacto con la piel y los ojos. Causa severas quemaduras. Almacenarlo separado de las bases y a nivel del piso.

Para-nitrofenol: Es un oxidante fuerte y reacciona violentamente con materiales combustibles y reductores. Almacenarlo separado de sustancias combustibles.

Acido Oxálico: Es dañino si se pone en contacto con los ojos, la piel o si se ingiere. Almacenarlo separado de las bases fuertes y oxidantes.

Acido Orto Fosfórico: Es altamente corrosivo por ingestión y por contacto con la piel y ojos. Causa severas quemaduras. Almacenar separado de bases fuertes.

Fenol: Altamente corrosivo, perjudicial su ingestión o inhalación. Almacenar en lugar seco.

Azida de Sodio: Este químico puede ser descompuesto explosivamente bajo acción del calor. Es venenoso por inhalación o ingestión. Irrita los ojos, tracto respiratorio y membranas mucosas.

Acido Sulfúrico concentrado: Es altamente corrosivo y reacciona violentamente con las bases generando calor. Puede ser absorbido por inhalación o ingestión. Causa severas quemaduras. Almacenar en el piso separado de sustancias combustibles y bases fuertes.

Orto toluidina: Es corrosivo, combustible y reacciona violentamente con ácidos. A temperaturas por encima de 85°C. forma con el aire vapores explosivos. No se debe usar cerca de llamas y no se debe fumar en el recinto. Almacenar en lugar separado de ácidos, lejos del calor.

Acido Tricloroacético: Es higroscópico y se descompone por calentamiento, formando gases tóxicos. Es corrosivo y reacciona violentamente con bases. Puede ser absorbido por ingestión o inhalación. Guardar en lugar seco.

1.3. *Identificación de los Reactivos*

Los reactivos una vez preparados se envasan en frascos de vidrio de color ámbar o en frascos de polietileno.

Deben rotularse inmediatamente después de su preparación, incluyendo la siguiente información:

- Nombre del reactivo
- Concentración del reactivo y componentes del mismo
- Fecha de preparación
- Estabilidad del reactivo
- Fecha de expiración o tiempo de duración
- Temperatura de almacenamiento
- Técnica para la cual se va a utilizar
- Cuidados para su manejo
- Iniciales de la persona que lo preparó

1.4. *Empaque de reactivos para transporte*

- Reactivos corrosivos como hidróxido de sodio, ácido sulfúrico en solución, deben ser empacados en recipientes irrompibles.
- Cuando los recipientes se estén llenando con el reactivo, se debe dejar suficiente espacio en ellos para asegurar que no ocurra ningún escape ni distorsión del recipiente.
- Los frascos llenos con reactivos deben cerrarse perfectamente para ser transportados. Así se evitarán escapes y evaporación debida a altas temperaturas las cuales pueden cambiar la concentración de los reactivos.

2. *Estuches comerciales*

En cuanto a los reactivos de casas comerciales, éstos incluyen en sus estuches insertos con las instrucciones para cada prueba, las cuales se deben seguir exactamente. Se debe tener en cuenta especialmente:

- a. La fecha de expiración del reactivo y el número del lote
- b. Instrucciones para la reconstitución de los reactivos liofilizados.
- c. Estabilidad del reactivo después de reconstituido.
- d. Temperatura de almacenamiento.
- e. Controles que se pueden utilizar.
- f. Ambientación de los reactivos.

g. Especificaciones para la lectura final según el instrumento que se utilice (uso de blancos, longitud de onda).

h. Cálculo - unidades.

i. Límites de linealidad (en caso de sobrepasar estos límites, qué diluciones hacer y con qué diluir las muestras).

2.1. *Criterios que se deben tener en cuenta para seleccionar un estuche de reactivos comerciales*

- Volumen de muestra: Debe ser mínima con el fin de que se puedan realizar determinaciones en niños.
- Estabilidad final de la reacción: Debe tener una duración que permita un margen de tiempo cómodo hasta el momento de realizar la lectura.
- Posibilidad de automatización: Debe ser reactivos que tengan la capacidad de trabajarse manualmente y preferencialmente de adaptarse a equipos automatizados.
- Seguridad: Los reactivos que se van a utilizar deben ser de la menor peligrosidad. En caso de que sea indispensable el uso de éstos, se recomienda utilizar pipeteadores, pipetas automáticas o pipetas de seguridad, de manera que se reduzca al máximo la posibilidad de contacto directo con este tipo de reactivo.
- Estabilidad: Se debe tener en cuenta la duración de los reactivos una vez reconstituidos o preparados y calcular la cantidad de pruebas diarias que se pueden realizar durante éste período de tiempo. Es ventajoso que los tiempos de estabilidad no sean muy cortos.
- Facilidad para ejecutar la técnica: una buena técnica debe tener en cuenta que se pueda realizar en el menor tiempo posible y en el mínimo número de pasos, pues cada paso implica una posibilidad de error adicional en cada pipeteo.

2.2. *Suministros*

La verificación de existencia de reactivos y de material de consumo debe hacerse periódicamente (una vez al mes).

También se debe revisar las fechas de vencimiento de los reactivos: ver cuáles están vigentes, cuáles están cercanos a su expiración para usarlos prontamente antes de que dejen de ser útiles y se deben desechar los reactivos ya vencidos. Se recomienda anotar en el estuche de cada reactivo la fecha de su iniciación y en base a esto, mantener suficiente existencia de reactivos y demás material necesario, teniendo en cuenta también la demora en la entrega de éstos, según la institución.

Nunca mezcle reactivos de estuches de diferentes lotes y menos aún reactivos de diferentes casas comerciales.

C. MANEJO DEL MATERIAL DE VIDRIO

El material de vidrio es el material de más uso en el laboratorio y por ello su inadecuado empleo y limpieza inciden directamente sobre los resultados introduciendo errores significativos.

Dentro de los tipos de vidrio para uso general en el laboratorio, el borosilicato es el mejor en cuyo grupo se encuentran Pyrex y Kimax.

El alúmino silicato, vidrio Corex, también tiene propiedades deseables para la mayoría de aplicaciones del laboratorio. No obstante, las disoluciones de un pH superior a 6 pueden atacar el vidrio, al igual que éste tiene una tendencia a adsorber iones metálicos.

Estos efectos pueden llegar a ser significativos produciendo cambios sobre las soluciones. Por ello, se recomienda almacenar soluciones alcalinas y patrones en botellas de plástico.

1. Manejo de material volumétrico

1.1. *Pipetas*

Las pipetas volumétricas y las de transferencia marcadas como TD que significa "para entregar" deben usarse para medir soluciones acuosas, ya que estas están calibradas para agua. Por ello se introduce un error si se usan para manejar soluciones que tengan una viscosidad y tensión superficial significativamente diferentes de las que posee el agua.

Se deben tener en cuenta los siguientes puntos cuando se utilizan estas pipetas:

- a. Nunca debe soplar para hacer salir la última gota.
- b. No debe forzarse la salida del líquido por soplado.
- c. Lectura del menisco:
 - En soluciones transparentes se lee la parte inferior del menisco.
 - En soluciones coloreadas se lee la parte superior de la columna líquida.
 - La lectura se debe hacer colocando la pipeta en posición vertical, y el ojo a nivel del menisco.
 - La temperatura del líquido a medir debe ser cercana a la temperatura de calibración de la pipeta que es habitualmente de $20^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$.

Las pipetas marcadas como TC que significa "para contener" se emplean para medir volúmenes pequeños de líquido y se pueden "lavar" varias veces con el líquido de dilución.

Pipetas "para soplar" son aquellas que deben soplarse para dispensar la última gota del líquido y se identifican con un anillo grabado.

2. Limpieza del material de vidrio

2.1. *Material para bioquímica*

La cristalería para bioquímica no solamente debe ser limpia, sino que debe estar libre de sustancias contaminantes.

Para un correcto lavado se deben seguir las siguientes instrucciones:

a. Material de uso general.

- Inmediatamente después de usar el material de vidrio: tubos, pipetas, se deben colocar en un recipiente que contenga agua corriente para que el suero, la sangre y las soluciones químicas no se sequen.
- Se enjuagan con agua del chorro y se lavan perfectamente con una solución detergente biodegradable y no iónica al 2%, extran, tween, etc. o en su defecto con un detergente nacional líquido al 5%.

Enjuagar con agua del chorro y por último con agua destilada.

b. Material que se usa para mediciones de iones como sodio, potasio, calcio y hierro.

- Después de limpiar como se mencionó anteriormente, se debe colocar en una solución de ácido nítrico al 20% durante 12 horas y enjuagar varias veces con agua desionizada.

c. Material que se va a usar por primera vez, material manchado, grasoso o pipetas con coágulos de sangre.

- Para entregar el material limpio, desmanchado y desengrasado, se pasa por mezcla sulfocrómica; si se necesita de urgencia debe dejarse por lo menos media hora, de lo contrario se debe dejar 12 horas. Después se enjuaga bien con agua del chorro y por último se pasa por agua destilada.

Mezcla Sulfocrómica

- Medir 500 ml. de agua destilada en un erlenmeyer de un litro, añadir lentamente con agitación constante 250 ml. de ácido sulfúrico concentrado; se sumerge el erlenmeyer en un recipiente que contenga agua corriente para enfriar el contenido. Luego se agregan 100 g. de dicromato de potasio y se mezcla hasta disolverlo. Aforar a un litro con agua destilada.

2.2. *Material para hematología*

La cristalería no debe estar contaminada con detergente, porque su presencia así sea en pequeñas cantidades provoca hemólisis.

a. Material de uso general.

- Se lava con agua corriente, se coloca en mezcla sulfocrómica por espacio de 6 horas y se lava con agua corriente; lavar luego con agua destilada, dejar escurrir y secar en el horno.

b. Láminas portaobjetos.

Láminas nuevas:

- Se colocan en mezcla sulfocrómica durante 12 horas, se lavan cuidadosamente con agua corriente, se dejan con alcohol etílico comercial y luego se secan con un paño limpio.

Láminas usadas:

- Estas deben hervirse en una solución de detergente líquido al 5% por 30 minutos para remoción del colorante. Luego se enjuagan bien con agua corriente y se colocan en alcohol etílico comercial. Secar con un paño limpio.

c. Pipetas hematológicas para recuento.

- Se hace pasar por ellas agua corriente, luego agua destilada y por último acetona. Se les hace pasar aire hasta que la pipeta esté seca. Nunca se deben secar por calentamiento porque esto provoca descalibración de la pipeta. Los coágulos pegados a las paredes de la pipeta se remueven colocándolas en una solución de hidróxido de potasio al 10%, durante 12 horas.

d. Tubos de hematocrito de Wintrobe.

- Se limpian llevando a la parte inferior del tubo una pipeta capilar unida a una bomba de aspiración. Luego en forma similar se lavan con agua destilada y luego con acetona. Nunca se deben secar por calentamiento intenso. También se pueden secar dejando pasar aire por el tubo.

e. Material para pruebas de coagulación.

- En estudios o pruebas de coagulación el empleo de material de vidrio disminuye el número de plaquetas. Para que esto no ocurra y se pueda utilizar este tipo de material, se aconseja usar material de vidrio tratado con una solución acuosa de un concentrado de silicona por inmersión, durante 5 segundos o más. Luego se enjuaga con agua y se seca a 100°C. por 10 minutos. Para pruebas de coagulación se deben emplear y guardar separadamente el material que se utiliza para otros fines en el laboratorio. Los tubos y pipetas no se deben dejar sucios; una vez utilizados se deben sumergir en un recipiente con agua, después se deben jugar con una solución de detergente biodegradable al 2% o con un detergente líquido al 5%. Se enjuaga con agua corriente y se pasa por último por agua destilada.

3. Control de la limpieza del material de vidrio

Para comprobar si el detergente de la cristalería ha sido eliminado, se realiza el siguiente procedimiento:

- a. Escoger al azar una pieza de la cristalería de cada lote.
- b. Agregar 20 ml. de agua desionizada a la pieza que va a ser probada y agitar el agua dentro del frasco.
- c. Agregar dos gotas de Bromosulfaleína (BSP) al agua. Mezclar.
- d. Hacer un control positivo con otra pieza de vidrio a la cual se le ha adicionado 1 ml. de detergente.

Interpretación:

La aparición de un color púrpura en el agua indica que la solución es alcalina, lo cual detecta la presencia de residuos de detergente en la pieza de cristal.

D. AGUA GRADO REACTIVO

El agua es el material más importante y más empleado en todos los procesos del laboratorio como medio de reacción, por lo tanto, los patrones para la calidad del agua deben ser tan estrictos como los de cualquier material que se emplee en análisis.

La única forma de obtener agua pura en el laboratorio es por medio de un sistema de purificación adecuado.

Los métodos de purificación del agua se pueden clasificar en tres categorías principales:

- Destilación
- Desionización
- Osmosis inversa

El mejor camino para obtener agua pura con la tecnología presente parece ser el empleo combinado de éstos tres métodos.

La destilación es el método clásico más utilizado para purificación del agua. Este proceso incluye calor, vaporización y condensación. Las impurezas no volátiles del agua permanecen en el destilador durante el proceso.

Los destiladores más usados son de acero inoxidable o cobre plateado con estaño para evitar la corrosión metálica y contaminación del agua. También las hay en vidrio, totalmente libres de trazas de metales.

Aunque disfruta de gran popularidad, no es un método ideal de purificación, por las siguientes razones:

1. La purificación implica sólo la eliminación de las materias no volátiles.

Las impurezas líquidas con el mismo punto de ebullición del agua se evaporan y condensan junto con el agua destilada, lo mismo sucede con compuestos orgánicos cuyos puntos de ebullición son mayores de 100°C., los cuales pueden destilar y condensar con el vapor según el proceso denominado "Destilación por arrastre de vapor".

2. Las materias no volátiles se quedan en el destilador; estos materiales se acumulan cada día provocando un aumento en la concentración del agua del destilador, y las pocas gotas no destiladas que pasan por el condensador pueden contener impurezas.

- La desionización es un método de purificación del agua en el que el agua pasa a través de una columna portadora de lechos de resinas intercambiadoras de iones, las cuales son capaces de eliminar especies cargadas positiva o negativamente. Debido a que el agua que sale de la columna está virtualmente libre de iones, puede tener una resistencia específica hasta de 18 megOhms, dependiendo de la eficacia de la columna.

En el sistema de desionización el agua se hace más pura porque está recirculando continuamente por las columnas y éste flujo continuo evita el crecimiento de bacterias que se presenta en aguas estancadas.

Este proceso tiene el inconveniente de no eliminar los componentes orgánicos, las partículas de materiales, ni los microorganismos, y de operar solamente con agua que ha pasado por una purificación preliminar.

- La osmosis inversa consiste en una purificación en la cual el agua pasa a través de una membrana semipermeable que atrapa material orgánico e inorgánico, pero deja pasar hasta un 10% de impurezas; se recomienda solamente como sistema de purificación preliminar del agua que se va a desionizar.

1. **Clasificación:**

El Colegio Americano de Patólogos Clínicos (C.A.P.) ha clasificado el agua de grado reactivo en tres tipos, cuyas especificaciones se resumen en la siguiente tabla:

Clasificación del Agua Grado Reactivo

	Tipo I	Tipo II	Tipo III
Conductividad específica Microhms / cm (máximo)	0.1	2.0	5.0
Resistencia específica (MegOhms / mínimo)	10	0.5	0.2
Silicatos (mg / L máximo)	0.01	0.01	0.01
Metales Pesados (mg / L máximo)	0.01	0.01	0.01
Reducción de KMnO ₄ (Minutos, mínimo)	60	60	60
Sodio (mg / L, máximo)	0.1	0.1	0.1
Amoniaco (mg / L, máximo)	0.1	0.1	0.1
pH	6-7	6-7	6-7
CO ₂ (mg / L, mínimo)	3	3	3
Cultivo, recuento de colonias	Mínimo	Mínimo	Mínimo

Tomado de Herrera Nilo E, Control de Calidad en el Laboratorio Clínico 1982,
con algunas modificaciones.

El C.A.P. recomienda los siguientes tipos de agua para los siguientes procedimientos:

TIPO I Espectrofotometría de absorción atómica
 Fotometría de llama
 Enzimología
 Gases sanguíneos, pH y determinaciones de iones
 Soluciones amortiguadoras de referencia
 Reconstitución de materiales liofilizados.

TIPO II La mayoría de pruebas analíticas de laboratorio
 Procedimientos hematológicos, serológicos y microbiológicos.

TIPO III Procedimientos histológicos
La mayoría de procedimientos cualitativos
Lavado de cristalería.

2. Control de calidad del agua grado reactivo

Se deben llevar a cabo los siguientes controles al agua salida del destilador o desionizador del laboratorio, con la frecuencia indicada a continuación:

2.1. Semanalmente

1. Resistencia específica
2. pH
3. Tiempo de reducción del KMnO_4

1. Resistencia específica:

Es la resistencia real entre los lados opuestos de un centímetro cúbico a 25°C .

El agua sin especies ionizadas se opone al paso de la electricidad. Por consiguiente, el grado de resistencia es proporcional al grado de pureza del agua. A mayor resistencia específica, más pura el agua.

La resistividad se mide en MegOhms (10^6 Ohms). La conductividad es el recíproco de la resistividad y ésta medida se hace con los conductímetros.

Si no se dispone de un conductímetro se puede valorar la presencia de iones de la siguiente forma:

Cloruros: Titulación con nitrato de plata.
Solución estandarizada de 0.1 N de AgNO_3

Preparación:

- Disuelva exactamente 1.699 g de AgNO_3 en 100 ml. de H_2O destilada.

Procedimiento:

- A 100 ml. de agua a controlar, agregue 5 gotas de ácido nítrico (R.A.) y 1 ml. de AgNO_3 0,1 N.

Resultado:

- No se debe producir opalescencia.

Sulfatos: Titulación con cloruro de bario
Solución de cloruro de bario

Preparación:

- Disuelva 12 g. exactamente pesados de cloruro de bario en agua desionizada y lleve a 100 ml. en balón aforado.

Procedimiento:

- A 100 ml. de agua a controlar, agregue 1 ml. de BaCl_2 al 12%

Resultado:

- No debe producir turbidez.

Calcio: Titulación con oxalato de amonio

Solución de oxalato de amonio

Preparación:

- Disuelva 3.5 g. exactamente pesados de oxalato de amonio en agua desionizada y lleve a 100 ml. en un balón aforado.

Procedimiento:

- A 100 ml. de agua a controlar agregue 2 ml. de solución de oxalato de amonio.

Resultado:

- No debe producir turbidez.

Bioxido de carbono: Test con $\text{Ca}(\text{OH})_2$

Solución de hidróxido de calcio

Preparación:

- A un litro de agua desionizada enfriada a 4°C. agregue 3 g. exactamente pesados de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y agite vigorosamente durante una hora, procurando mantener la solución a 4°C. Deje sedimentar el exceso de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y separe el sobrenadante limpio.

Procedimiento:

- A 25 ml. de agua a controlar agregue 25 ml. de solución de $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

Resultado:

- La mezcla debe permanecer clara.

Metales pesados: Test con H_2S

Preparación:

- Sulfuro de hidrógeno: preparar cada vez una solución saturada haciendo pasar H_2S por agua fría. Guarde en frasco ambar pequeño sin burbuja de aire.

Procedimiento:

- Lleve 40 ml. de agua a controlar a pH 3.0 - 4.0 con ácido acético 1N (usando papel indicador de corto rango de pH).
- Agregar 10 ml. de solución saturada de H₂S recientemente preparada y deje reposar 10 minutos, evitando la luz directa.

Resultado:

- El Líquido no debe ser más oscuro que una solución control de 50 ml. de la misma agua con la misma cantidad de ácido acético 1N.

NOTA: El agua para las soluciones debe ser de alta calidad, controlada en laboratorios especializados o en el laboratorio de referencia.

2. pH

Se recomienda medirlo potenciométricamente en una solución preparada mediante la adición de 0.3 ml. de solución saturada de cloruro de potasio a 100 ml. de agua a controlar. Debe dar el pH entre 6.0 y 7.0.

3. Tiempo de reducción del KMnO₄:

La reducción de una solución estandarizada de KMnO₄, luego de ser agregada al agua a ser ensayada, es determinada por la desaparición del color del KMnO₄ bajo condiciones controladas. Esta prueba es usada como indicador del contenido de materia orgánica del agua. Para pasar la prueba de reducción para el grado reactivo, una muestra de agua de 500 ml. no debe reducir 0.2ml. de la solución de KMnO₄ 0.01N en una hora.

2.2. Mensualmente

1. Limpieza general del destilador: lavar la parte refrigeradora con una solución de HCL al 0.5% para destiladores metálicos y más concentrado si se trata de destiladores de vidrio. Enjuagar con abundante agua hasta que ésta salga con pH neutro.
2. Estudio bacteriológico.

CONTROL DE CALIDAD DEL AGUA GRADO REACTIVO

Semanalmente : 1) Medir la Resistencia específica o la conductividad específica.

2) Medición del pH con un potenciómetro.

3) Tiempo de reducción del KMnO_4 .

Mensualmente : 1) Limpieza del Destilador o Desionizador.

2) Estudio Bacteriológico.

Semana	1		2		3		4	
Resistencia Específica								
Conductividad Específica								
pH								
Reducción de 500 ml. Agua con 0.2 ml. KMnO_4 0.01N en 1 hora	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO
Limpieza General								
Estudio Bacteriológico								
Mes : _____ Equipo : _____ N° Serie : _____ Laboratorio : _____ Observaciones : _____ _____ _____								
Firma : _____								

II. INSTRUMENTACION Y CONTROL DE EQUIPOS

A. GENERALIDADES SOBRE ESPECTROFOTOMETRIA

Las medidas fotométricas representan la fase terminal de la mayoría de las determinaciones cuantitativas que se efectúan en química clínica.

Es necesario aclarar varios conceptos elementales antes de entrar en materia.

Fotometría:

Es el procedimiento por medio del cual se efectúan mediciones de energía radiante utilizando filtros para aislar parte del espectro de luz.

Espectrofotometría:

Es la medición de la intensidad de la energía radiante en un estrecho intervalo de longitudes de onda del espectro, escogido por el instrumento. Utilizan para aislar parte del espectro, rejillas de difracción o prismas.

Absorbancia:

Este concepto es sinónimo de densidad óptica y extinción y se define como la cantidad de energía radiante que se absorbe a determinada longitud de onda.

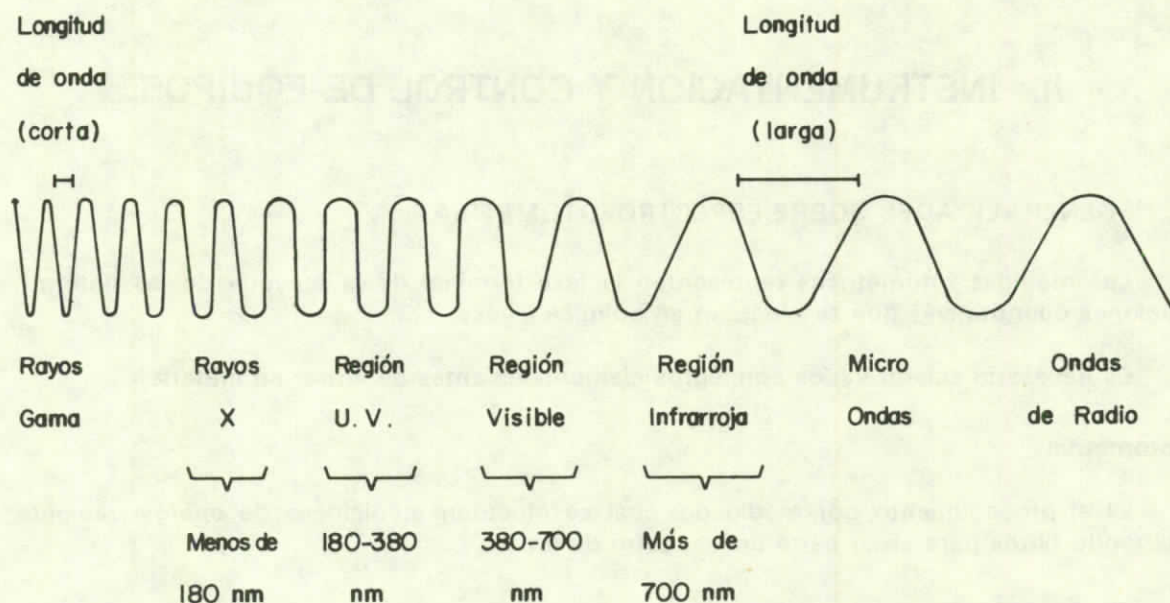
Transmitancia o porcentaje de transmisión:

Es la cantidad de energía radiante que transmite o deja pasar una sustancia a una determinada longitud de onda.

Longitud de Onda:

La radiación electromagnética comprende energía radiante que va desde radiaciones Gamma hasta ondas de radio, pasando por las regiones ultravioleta y visible. La energía radiante viaja en forma de ondas y la distancia entre los picos que las forman se denomina longitud de onda, la cual se expresa en nanómetros (nm), equivalentes a 10^{-9} mt.

ESPECTRO DE LA ENERGIA RADIANTE



Ley de Beer:

La concentración de una sustancia es directamente proporcional a la cantidad de luz absorbida, o inversamente proporcional al logaritmo de la luz transmitida.

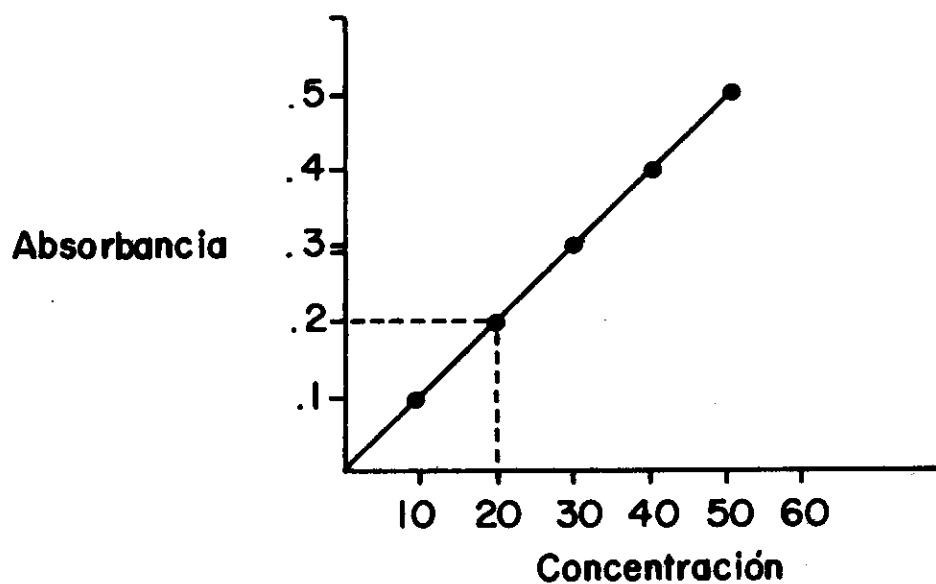
Su expresión matemática es:

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

Donde:

- A = Absorbancia
- a = absortividad de la sustancia
- b = Espesor de la cubeta (1 cm. de paso de luz)
- c = Concentración
- % T = Transmitancia

Gráficamente la Ley de Beer se puede ilustrar de la siguiente manera en papel milimetrado:



La línea resultante en la gráfica es el producto de la medición de una solución estandar de diferentes concentraciones.

1. Componentes de un espectrofotómetro:

1. Fuente de luz
2. Hendidura de entrada de luz
3. Monocromador (selector de longitud de onda)
4. Cubeta
5. Detector
6. Medidor

Para efectos de control en los espectrofotómetros es importante tener en cuenta los siguientes aspectos referentes a sus componentes:

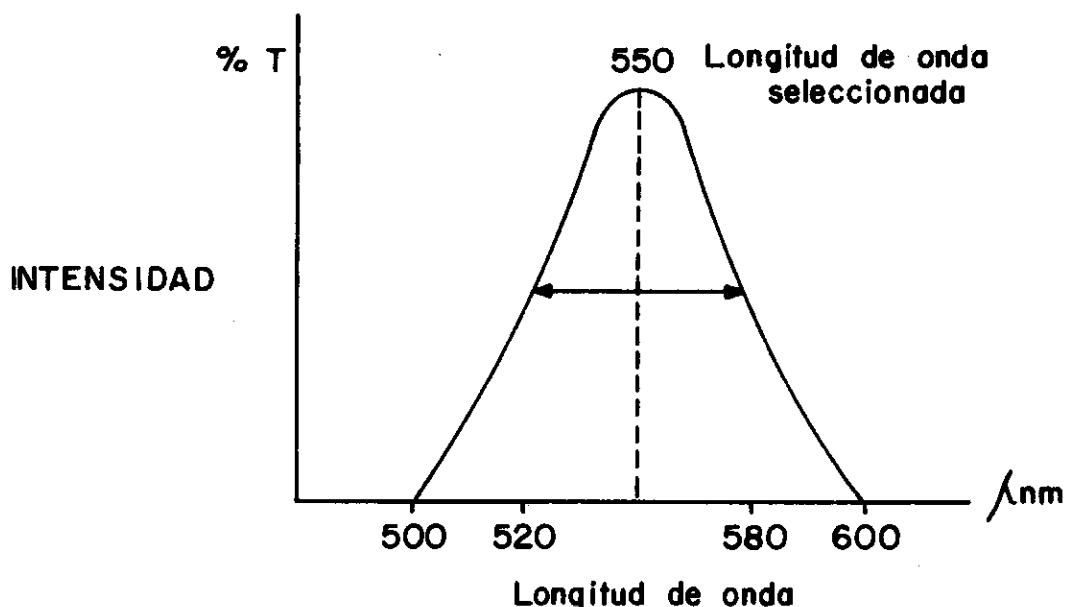
- Fuente de luz

Para longitudes de onda de la región visible se utilizan lámparas de filamento de tungsteno y para longitudes de onda por debajo de 360 nm son preferibles las lámparas de vapor de mercurio, halógeno, de hidrógeno o de deuterio.

Es importante saber las horas de trabajo que tiene la bombilla de un instrumento, ya que el envejecimiento de ésta produce cambios en la lectura de absorbancia, así como el acúmulo de suciedad y opacidad. Estos factores obligan al cambio de la lámpara por otra nueva.

- *Pureza de la longitud de onda*

El ancho de banda espectral expresado en nanómetros, indica las cantidades variables de luz de otras longitudes de onda diferentes a la inicialmente seleccionada que pasan a través de la cubeta que contiene la muestra.



Damos como ejemplo la selección de una longitud de onda a 550 nm. Si fuera posible aislar luz monocromática pura se obtendría una línea vertical, pero en lugar de esto obtenemos una curva que indica que está pasando luz desde 500 a 600 nm de longitud de onda. El ancho de banda de éste equipo es el intervalo de longitud de onda correspondiente a la amplitud media de la curva, es decir de ± 30 nm en el ejemplo.

Cuanto más estrecho sea el ancho de banda, mayor es la absortividad y mejor es el análisis.

En la región cercana a ultravioleta (340 a 380 nm) en donde las longitudes de onda son más cortas que en la región visible es necesario que la luz sea lo más monocromática posible, o sea que el ancho de banda sea mínimo para que la energía radiante se concentre y proporcione su mayor intensidad, indispensable en esta región. No es recomendable trabajar estas longitudes de onda en instrumentos cuyo ancho de banda sea mayor de 8 nm. En la región visible no son tan estrictas estas especificaciones, y se puede aceptar hasta 30 nm. de ancho de banda.

- *Cubetas*

Para mediciones por debajo de 320 nm se deben utilizar cubetas de cuarzo. Para mediciones de 340 nm o cercano visible se deben utilizar cubetas de vidrio o de plástico especiales que no absorban luz ultravioleta.

Para que se cumpla constantemente la Ley de Beer se deben utilizar siempre cubetas con 1 cm. de paso de luz, preferiblemente cuadradas. En caso de no seguirse esta regla, se debe hacer la corrección de la siguiente manera:

Se tiene una cubeta de 12 mm. de paso de luz y se obtuvo una absorbancia de una solución = 0.385. Cuál sería la absorbancia para una cubeta con 10 mm. de paso de luz.

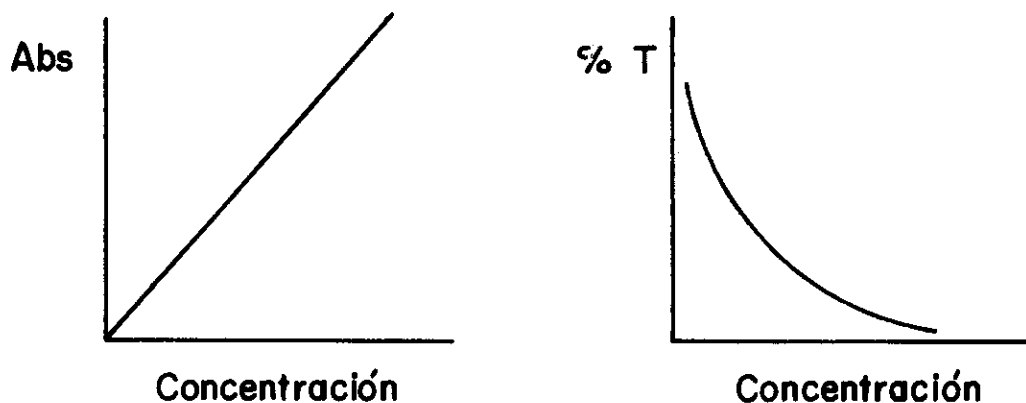
$$= \frac{10 \text{ mm.} \times 0.385}{12 \text{ mm.}} = 0.321$$

Al utilizar cubetas de vidrio o de plástico es indispensable que no tengan rayones, manchas o suciedad, pues esto afecta la lectura final. Existen otro tipo de cubetas, las de flujo continuo cuyo sistema de llenado es por vacío. En este tipo de cubetas está eliminado totalmente el error de diferencia de dimensiones en el paso de luz, porque en la misma cubeta se hacen todas las mediciones. También se afectan más difícilmente por rayones en sus superficies. Teniendo en cuenta que la cubeta se desocupa por el mismo sistema de vacío, se puede presentar el fenómeno de arrastre, o sea que después de hacer una medición y desocupar la cubeta pueden quedar residuos adheridos a su superficie y esto puede afectar las mediciones subsecuentes por cambios en su concentración.

2. Curvas de calibración

Una curva de calibración relaciona las absorbancias o transmitancias con las concentraciones y su empleo es necesario en los trabajos cuantitativos en los que hay que calcular la concentración de una sustancia.

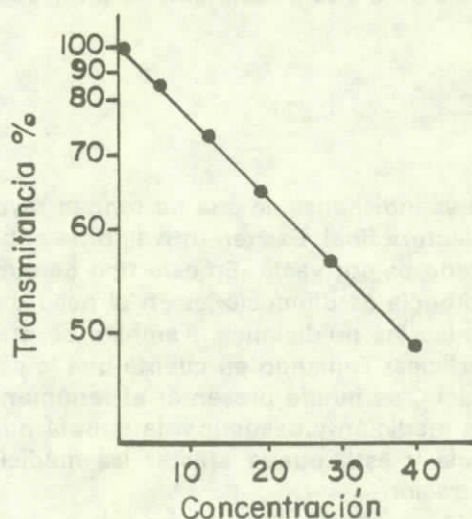
Las curvas de calibración se elaboran en papel milimetrado como sigue:



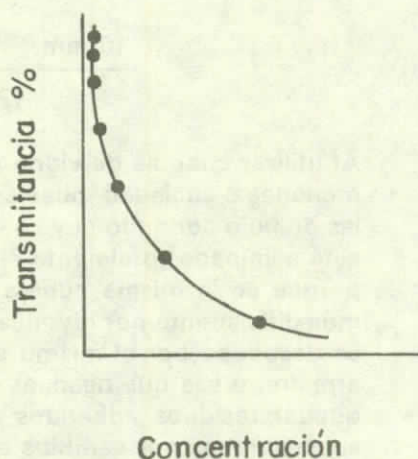
Algunos instrumentos carecen de escalas logarítmicas, leyendo únicamente en % T.

En este caso deben transformarse las lecturas de % T en valores de absorbancia, mediante el empleo de la ecuación $A = 2 - \log \%T$, o mediante la utilización de tablas de conversión.

Alternativamente puede trazarse la gráfica relacionando el % T con la concentración en papel semilogarítmico, siempre y cuando los valores de % T caigan todos dentro de la zona situada entre 10 y 90 % T. Generalmente no resulta adecuado enfrentar % T contra concentración como se ilustra a continuación:



Papel semilogarítmico



Papel milimetrado

Si se trabaja en estas condiciones, es necesario conocer 7 o más puntos para trazar una curva lo suficientemente exacta y es difícil dar el valor experimental adecuado para cada punto. Resulta prácticamente imposible en tal tipo de gráficas comprobar si la lectura sigue o no la Ley de Beer. Además con gráficas de éste tipo cualquier cambio en uno o más patrones empleados para comprobar la curva obliga a la reconstrucción de la totalidad de la misma, para averiguar su forma real. Por todas estas razones es preferible utilizar las gráficas que relacionan absorbancia con la concentración.

Para averiguar si las relaciones existentes entre absorbancia y la concentración son lineales se necesita un mínimo de 3 puntos.

A es igual a cero cuando la concentración es igual a cero con la que tenemos ya localizado un punto. Esto significa que, además del blanco de reactivos deben obtenerse como mínimo otros dos puntos experimentalmente.

Uno de tales puntos debe representar la máxima concentración que se encontrará en la práctica y el otro debe estar situado hacia la mitad entre la concentración más alta y el punto cero. Aunque idealmente la curva debe partir de cero, ésto no siempre se cumple en la práctica. En estos casos se interpolan los datos desde donde comience la curva, lo cual no implica error. No deben obtenerse los puntos experimentales leyendo las concentraciones más altas y haciendo diluciones seriadas de la solución final coloreada. Cada punto experimental debe prepararse independientemente. Cuando no se toma esta precaución pueden derivarse en ocasiones serios errores.

Es aconsejable hacer duplicados de cada punto y tener mayores precauciones en la técnica para trazar la curva.

Una vez se han colocado los puntos experimentalmente conocidos sobre la gráfica, se traza con una regla transparente una línea que sea la que mejor los represente.

Por consideración del error fotométrico debe procurarse que los puntos situados entre valores de absorbancia de 0.1 y 1.0 (10 - 80% T), sean representados de la forma más exacta posible al trazar la gráfica.

Las normas que se acaban de dar para trazar una línea recta a través de los puntos obtenidos experimentalmente se aplican únicamente a aquellos casos en los que está justificado buscar tal línea recta, o sea en los casos en que el sistema obedece a la Ley de Beer.

Cuando ésto no sucede, no se obtendrá una línea recta, entonces debe trazarse una curva. Esto exige la determinación de mayor número de puntos para poder tener una descripción adecuada de la curva.

Las concentraciones de los problemas se obtienen a partir de la curva de calibración la cual se comprobará o cambiará cada vez que se prepare nuevos reactivos, se utilicen diferentes métodos o se reparen los equipos.

Las curvas de calibración no son perennes. Estas deben cambiarse mínimo cada tres meses y son específicas para cada laboratorio y cada equipo.

Tablas de calibración

Siempre que se utilicen curvas de calibración deben interpolarse A/Concentración para obtener los valores que serán utilizados en la rutina diaria. No se recomienda trabajar directamente sobre las curvas, ya que esto incorpora errores significativos.

3. Errores fotométricos

Algunos errores instrumentales son intrascendentes en el trabajo habitual a causa de que quedan anulados al utilizar las curvas de calibración o patrones, pero existen otras causas de error que deben ser cuidadosamente controladas:

1. Luz parásita, luz extraña o luz espúrea

Se refiere a aquella energía radiante no deseada procedente de polvo, rayaduras de las superficies ópticas de prismas, lentes, espejos, hendiduras, equipo con bandas muy amplias, etc. y asimismo de la luz de la habitación o de la fuente luminosa del instrumento. En estos casos se debe tapar siempre el pozo de lectura en el momento de hacer las mediciones.

2. Variaciones de la longitud de onda

La longitud de onda efectiva de un fotómetro de filtro viene determinada fundamentalmente por sus características de transmisión, y por la distribución de la luz por

parte de los detectores de la misma sobre la zona espectral transmitida por el filtro. El envejecimiento de la lámpara o del detector o la sustitución de alguno de ellos pueden originar desviaciones en la longitud de onda efectiva, así como la sustitución de algún filtro, puesto que rara vez son idénticos.

Todos los filtros deben recibir un cuidado adecuado; mantenerse limpios frotándolos con un trozo de tela blanca; se debe evitar su contacto con solventes orgánicos. En el caso de que sea indispensable su limpieza con uno de estos últimos, se debe procurar no mojar los bordes, ya que se correría el riesgo de alterar el cemento que mantiene unidas las distintas capas del filtro. En otras ocasiones se agrieta el cemento, por lo cual penetra el vapor de agua entre las capas del filtro, lo que ocasiona la separación de éstas, dando como resultado una desviación con respecto a la longitud de onda nominal.

Los espectrofotómetros dotados de una escala que permite la lectura directa de longitud de onda seleccionada tiene muchas ventajas, pero tienen la posibilidad de introducir errores en la longitud de onda, causados por la incorrección de la escala que da lugar a una incongruencia entre los datos proporcionados por la lectura de la escala y la longitud de onda nominal.

3. Errores de lectura

En instrumentos antiguos la zona óptima de lectura se encuentra entre 20% y 80% T (0.7 y 0.1 A). Esta zona es más amplia en los instrumentos que actualmente aparecen en el mercado. Un error que comunmente se comete en el laboratorio es no tener en cuenta que a medida que las lecturas de absorbancia se desvían cada vez más de la zona óptima de lectura, se van produciendo errores cada vez mayores en las medidas de concentración. Ordinariamente las medidas deberían quedar limitadas a la zona de 10 a 80% T (1.0 - 0.1 A) a menos que se sepa con seguridad que el instrumento con el que se está trabajando funciona satisfactoriamente en una zona más amplia.

Hay varias posibilidades para llevar el % T a la zona óptima:

- a. Ajustando las concentraciones mediante la variación del volumen de la muestra.
- b. Utilizando cubetas de diferentes pasos de luz.
- c. Utilizando una longitud de onda o filtro distinto. Debe tenerse en cuenta que cualquier desviación de la longitud de onda hacia una zona en la que la absorbancia no sea la máxima, se transforma automáticamente en una disminución de la precisión.
- d. Midiendo el problema frente a un patrón en vez de hacerlo solamente frente a un blanco.
- e. En los casos en que se va a hacer calibración o pareamiento de cubetas, en que es necesario saber la diferencia de % T entre cada una de ellas, se coloca la aguja en 50% de transmitancia y a partir de este punto se harán las lecturas de % T de las cubetas.

- f. Cuando se intentan hacer lecturas de cambios o diferencia de extinción del mismo componente a diferentes intervalos de tiempo por ejemplo: reacciones cinéticas y éstas caen fuera de la zona óptima de lectura, se coloca la aguja en 0.5 de A y se leen las absorbancias a partir de este punto en los diferentes intervalos de tiempo,
4. Fatiga de la fotocelda o del fototubo por exposición prolongada a la luz afectando el porcentaje de transmisión.
5. Uso de cubetas diferentes entre sí, rayadas, etc.
6. Variaciones de voltaje: variaciones en el voltaje pueden introducir serios errores en los resultados. Por ello se aconseja utilizar un estabilizador de núcleo saturado.

Existe otro tipo de errores fotométricos los cuales son originados en la muestra. Estos son: cambios de absorción con la temperatura o con el tiempo, enturbiamiento y fluorescencia.

Temperatura:

Rutinariamente las medidas fotométricas se efectúan a temperatura ambiente, pero una vez que el instrumento lleva trabajando cierto tiempo el comportamiento de la cubeta tendrá una temperatura más elevada. Esto puede afectar la medida por calentamiento excesivo de la muestra; existen en la actualidad varios instrumentos con mecanismos de termostatación incluyendo el compartimiento de la muestra, con los cuales se mantendrá la temperatura requerida para una reacción todo el tiempo. Estos dispositivos son obligatorios cuando se hacen determinaciones cinéticas de actividad enzimática, o cualquier otro tipo de medida basada en determinaciones cinéticas.

Tiempo:

Muchas soluciones que se miden fotométricamente en química clínica tienen propiedades colorimétricas inestable. La intensidad del color puede aumentar o disminuir o también puede variar con el tiempo la zona de absorción máxima.

Las medidas deben hacerse a intervalos de tiempo previamente estandarizados después del inicio de la reacción productora de color.

Enturbiamiento:

Una de las causas de error más frecuente es la presencia de enturbiamiento en las soluciones problema. La presencia de partículas en suspensión da lugar a una disminución de la transmisión de luz a causa de una combinación de absorción verdadera y dispersión de la luz. Dado que la dispersión es mayor cuanto menor sea la longitud de onda, la presencia de un enturbiamiento apreciable da lugar a desviaciones aparentes en los máximos de absorción.

B. CONTROL Y MANTENIMIENTO DE LOS INSTRUMENTOS DEL LABORATORIO CLINICO

Es indispensable que las personas que trabajan en el laboratorio clínico se familiaricen con los instrumentos que utilizan, conozcan sus limitaciones y capacidades, tengan la habilidad para solucionar problemas menores, practiquen los controles necesarios de mantenimiento preventivo y lleven registros correspondientes a éstos.

1. Control de espectrofotómetros

Los siguientes parámetros deben ser controlados con la periodicidad y las soluciones recomendadas.

RESUMEN DE CONTROL DE ESPECTROFOTOMETROS

PARAMETRO	SOLUCION	DIARIO	SEMANAL	MENSUAL
Limpieza del Pozo de la Cubeta	Agua destilada	X		
Calibración de la longitud de Onda	Filtros de vidrio	X		
Calibración de la absor-bancia	Dicromato de Potasio (400 nm)	X		
Exactitud	Sulfato de Cobre (650 nm)	X		
Detección de luz extra_ña	Sulfato de Niquel 400 nm		X	
Amplitud de banda	460 nm		X	
Calibración de la longitud de Onda	510 nm		X	
	550 nm		X	
	700 nm			
Linealidad	Dicromato de Potasio (340 nm)			X
	Sulfato de Niquel (510 nm)			
	Sulfato de Cobre (650 nm)			
Calibración de Cubetas	Hemoglobina o solución coloreada			X

Reactivos

Para controlar los espectrofotómetros prepare los siguientes reactivos:

a. Dicromato de potasio

K₂ Cr₂O₇ 3.03 mg/dl en KOH 0.05 N:

- Solución blanco

KOH 0.05 N

Pesar 2.8055 g. de KOH. Disolverlos en H₂O destilada y llevar a 1 litro en balón volumétrico.

- Solución de Dicromato de potasio

Pesar 30.3 mg. de K₂ Cr₂O₇. Disolver en 300 ml. de KOH 0.05 N y llevar a 1 litro con la solución blanco. Mezclar bien y almacenar en un recipiente limpio y seco de plástico. Esta solución es estable por 3 meses.

b. Sulfato de cobre

CuSO₄ · 5 H₂O 2 g/dl en H₂SO₄ al 1%.

- Solución blanco

H₂SO₄ al 1%

Agregar 10 ml. de H₂SO₄ concentrado a 300 ml de agua destilada. Mezclar y completar a 1 litro con agua destilada en un balón aforado.

- Solución de sulfato de cobre

Pesar 20 g. de sulfato de cobre. Transferirlos a un balón volumétrico de 1 litro. Disolver los cristales en 300 ml. de agua destilada. Agregar 10 ml. de H₂SO₄ concentrado y mezclar bien. Diluir a 1 litro con H₂O destilada. Mezclar nuevamente y almacenar en frasco oscuro. Tiene un tiempo de duración de 6 meses.

c. Sulfato de níquel

NiSO₄ · 6H₂O 20 g/dl en HCL al 1%

- Solución blanco

HCL al 1%

En un balón volumétrico de 50 ml. colocar 0.5 ml. de HCL concentrado y diluir hasta la marca con agua destilada. Colocar 15 ml. de esta solución en una cubeta y taparla.

- Solución de sulfato de níquel

Disolver 10 g. de sulfato de níquel grado reactivo en 20 ml. de agua destilada. Agregar 0.5 ml. de HCL concentrado y diluir la mezcla en un balón volumétrico hasta 50 ml. Filtrar 15 ml. de esta solución en una cubeta pareada y tapar inmediatamente con un tapón de plástico sellado con parafina.

Estas soluciones, si las cubetas están bien selladas, permanecen estables por mucho tiempo, hasta años a 25-30°C.

NOTA: Estos reactivos deben ser grado reactivo. Antes de su uso deben ser secados durante toda la noche a 110°C. y enfriados a temperatura ambiente en un desecador.

PROCEDIMIENTO

1. Control diario

a. Limpieza del pozo de la cubeta

Se hace con un escobillón impregnado en agua destilada. Se debe hacer cuidadosamente y dejar secar la zona.

b. Calibración de la longitud de onda

Se puede calibrar usando filtros de vidrio de absorbancia máxima pre-fijada.

En espectrofotómetros que tengan 20 nm de ancho de banda se usa el filtro de Didymiun, cuya máxima absorbancia es a 585 nm. Para espectrofotómetros con ancho de banda de 2 a 8 nm se usa el filtro de óxido de holmio, cuya máxima absorbancia se obtiene a 360 nm.

c. Calibración de la absorbancia y exactitud

Las soluciones K_2CrO_7 y $CuSO_4$ sirven para controlar la longitud de onda y la exactitud, puesto que deben dar un determinado valor de absorbancia a una longitud de onda dada.

d. Leer la absorbancia de la solución de $K_2Cr_2O_7$ a 400 nm frente a la solución blanco de KOH 0.05N. Para instrumentos que no tienen esta longitud de onda exacta, se puede escoger 405 nm ó 415 nm.

Se debe obtener los siguientes valores de absorbancia a las longitudes de onda especificadas:

400 nm :	0.396 ±	0.002
405 nm :	0.288 ±	0.002
415 nm :	0.144 ±	0.002

e. Leer la absorbancia de la solución $CuSO_4$. a 650 nm frente a la solución blanco de H_2SO_4 al 1%.

Se deben obtener los siguientes valores de absorbancia a las longitudes de onda especificadas:

600 nm :	0.068 ±	0.002
650 nm :	0.224 ±	0.002
700 nm :	0.527 ±	0.002

INTERPRETACION

Cualquier desviación significativa en los resultados obtenidos requiere revisión. La absorbancia de algunos espectrofotómetros no puede calibrarse, solo se puede

comprobar; en tales casos, si no se obtiene la absorbancia, es prueba de que el instrumento debe repararse. Es importante calibrar la longitud de onda antes de verificar la calibración de la absorbancia.

2. Control semanal

El control semanal del instrumento se efectúa con la solución de NiSO_4 con la cual vamos a chequear los siguientes parámetros: Amplitud de banda, detección de luz extraña, calibración de la longitud de onda.

Procedimiento:

Utilizando el blanco para ajustar a 100% de T se lee la solución de sulfato de níquel en las siguientes longitudes de onda. Se deben obtener lecturas similares a las siguientes:

400 nm :	menos de 4% T
460 nm :	28% T $\pm$ 3
510 nm :	60% T o mayor
550 nm :	54% T $\pm$ 2
700 nm :	menos de 2% T.

Se debe ajustar el 100% T con el blanco cada vez que se varíe la longitud de onda.

Un registro semanal de estos datos partiendo del valor inicial nos permite conocer que cambios se presentan con el tiempo.

Significado de los resultados

1. Las lecturas a 400 y 700 nm sirven para detectar luz extraña. Un aumento por encima del 4% y 2% T respectivamente demanda corrección del instrumento.

Causas	Remedio
- Lámpara excitadora vieja, oscurecida u opaca.	Limpiar o reemplazar la lámpara y controlar nuevamente la calibración.
- Polvo en los lentes de salida del sistema óptico.	Limpiar los lentes.
- Dispensador de difracción o lentes internos deteriorados.	Necesita servicio profesional,

2. La lectura a 510 nm sirve para detectar cambios en la amplitud de banda. Disminución en la lectura indica aumento en la amplitud de banda. Una disminución del 3% T con respecto al valor original demanda servicio.

Causas	Remedio
- Torción o curvatura del filamento de la lámpara excitadora.	Cambiar la lámpara y controlar nuevamente la calibración.
- Apertura de salida dañada en el orificio de las cubetas.	Necesita servicio profesional.
- Dispersador de difracción dañado.	Necesita servicio profesional.

3. Las lecturas a 460 nm y 550 nm son útiles para controlar:

a. Calibración de la longitud de onda

Los valores de % T a estas longitudes de onda están en direcciones opuestas. Cualquier cambio en estas lecturas se debe a alteraciones en la relación entre la localización del filamento de la lámpara excitadora y la del disco selector de longitudes de onda.

b. Linearidad fotométrica:

Las lecturas de % T a estas longitudes de onda están relacionadas entre sí en proporción de 2 a 1. Por ejemplo, a 460 nm da una lectura de 0.602 y 550 nm da 0.301.

Causas	Remedio
- Las lecturas a 460 y 550 nm cambian en direcciones opuestas.	Ajuste la calibración de la longitud de onda con el tornillo para obtener la lectura a 550 nm. La lectura a 460 nm debe corregirse hasta más o menos 1.5% T de su valor original (para equipos como Coleman).
- Cambios en las lecturas pero no en direcciones opuestas.	Necesita servicio profesional.

3. Control mensual

Linearidad:

La linearidad es la capacidad del instrumento para registrar una señal directamente proporcional a la intensidad de la luz.

Este control se puede realizar con las mismas soluciones descritas anteriormente, a 3 longitudes de onda diferentes del espectro. Se deben hacer diluciones de cada una de ellas; las absorbancias de cada solución, deben estar en la relación 1:2:4.

A. Dicromato de potasio, $K_2Cr_2O_7$ 3.03 mg/dl en KOH 0.05 N:

El dicromato de potasio se utiliza para verificar la linearidad de espectrofotómetros y fotómetros en el rango ultravioleta o cercana a éste.

Preparar las siguientes soluciones:

Concentración 3.03 mg/dl

- Tomar solución stock de $K_2Cr_2O_7$ 3.03 mg/dl en KOH 0.05 N.

Concentración 1.51 mg/dl

- Tomar 5 ml. de la solución stock de $K_2Cr_2O_7$ 3.03 mg/dl y completar a 10 ml. en volumétrico aforado con KOH 0.05 N.

Concentración 0.75 mg/dl

- Tomar 25 ml. de la solución stock de $K_2Cr_2O_7$ 3.03 mg/dl y completar a 10 ml. en volumétrico aforado con KOH 0.05 N.

Solución blanco KOH 0.05 N.

Leer estas tres soluciones a 340 nm. o a longitudes de onda cercanas frente a la solución blanco.

Trazar la curva en papel milimetrado y observar la linealidad.

Se grafica absorbancia contra concentración.

B. Sulfato de cobre, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 2 g/dl en H_2SO_4 al 1%.

Preparar las siguientes soluciones:

Concentración 2 g/dl

- Tomar solución stock de $CuSO_4$ 2 g/dl en H_2SO_4 al 1%.

Concentración 1 g/dl

- Tomar 5 ml. de la solución stock de $CuSO_4$ 2 g/dl y completar a 10 ml. en volumétrico aforado con H_2SO_4 al 1%.

Concentración 0.5 g/dl

- Tomar 2.5 ml. de la solución stock de $CuSO_4$ 2 g/dl y completar a 10 ml. en volumétrico aforado con H_2SO_4 al 1%.

Solución blanco H_2SO_4 al 1%.

Leer estas tres soluciones a 650 nm. o a longitudes de onda cercanas frente a la solución blanco.

Grafique los resultados y observe linealidad.

C. Sulfato de Niquel, $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 20 g/dl en HCl 1%.

Preparar las siguientes soluciones:

Concentración 20 g/dl

- Tomar solución stock de NiSO_4 20 g/dl en HCl 1%.

Concentración 10 g/dl

- Tomar 5 ml. de la solución stock de NiSO_4 20 g/dl y completar a 10 ml. en volumétrico aforado con HCl al 1%.

Concentración 5 g/dl

- Tomar 2.5 ml. de la solución stock de NiSO_4 20 g/dl y completar a 10 ml. en volumétrico aforado con HCl al 1%.

Solución blanco: HCL al 1%.

Leer estas tres diluciones a 510 nm o a longitudes de onda cercanas frente a la solución blanco.

Trazar estas curvas en papel milimetrado y observar la linealidad.

Se grafican absorbancias contra concentraciones.

Calibración de cubetas:

Se aconseja hacer este tipo de calibración puesto que con el uso se van rayando. Además, se deben utilizar para las mediciones cubetas pareadas, es decir, cubetas que tengan el grado más alto de semejanza. A continuación se expone un método bastante simple para calibrar cubetas.

- Hacer una solución de hemoglobina de 50 mg/dl. Emplear un filtro verde o una longitud de onda de 540 nm. De la misma manera se pueden utilizar otras soluciones coloreadas a las longitudes de onda correspondientes.
- El aparato se coloca para leer en 50% de transmitancia.
- Se lee la misma solución en una serie de cubetas, rotándolas.
- Se seleccionan para su empleo las que:
 - a. Coincidan con una variación de 0.3 % T.
 - b. Las que den una % T máxima, o sea, los más cercanos a 50% T.
- Se traza en la parte superior de la cubeta una marca con un lápiz de diamante para indicar un alineamiento adecuado.

HOJA DE CONTROL DE ESPECTROFOTOMETROS

LABORATORIO: _____ EQUIPO (Nº Serie) : _____ MES: _____ AÑO: _____

CONTROL DIARIO

Limpieza del pozo de la cubeta: Después de efectuar este control, firmar en el día correspondiente.

Control de Exactitud, chequeo de calibración de Longitud de Onda: Anotar los valores de Abs. obtenidos cada día con las soluciones de $K_2Cr_2O_7$ y $CuSO_4$ a las longitudes de onda correspondientes; anotar los valores obtenidos con los filtros de vidrio (Óxido de Holmio y Didymium), en caso de poseerlos el equipo.

CONTROL SEMANAL

Amplitud de banda, Intensidad de la lámpara, luz extraña, longitud de onda: Anotar los valores de % T obtenidos con la solución de $NiSO_4$ a las longitudes de onda correspondientes.

CONTROL MENSUAL

Calibración de cubetas: Después de efectuar este control, firmar en el día correspondiente.

Linealidad: Anexar a esta hoja de control las curvas realizadas con $K_2Cr_2O_7$, $CuSO_4$ y $NiSO_4$.

DÍA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	FIRMA
Limpieza Pozo																																
$K_2Cr_2O_7$ 400/405/415																																
$CuSO_4$ 600/650/700																																
Filtro Didymium																																
Filtro O. Holmio																																
$NiSO_4$ 400 nm																																
$NiSO_4$ 460 nm																																
$NiSO_4$ 510 nm																																
$NiSO_4$ 550 nm																																
$NiSO_4$ 700 nm																																
Calibración cubetas																																

OBSERVACIONES : _____

2. Control de los fotómetros

Colorímetros como el Leitz a las cuales no se les puede trazar la curva espectral de Sulfato de Níquel por carecer de las longitudes de onda indicadas, además del control de linealidad se les pueden realizar los siguientes controles:

Diariamente:

1. Control de estabilidad o Drift

- Coloque el equipo en cualquier longitud de onda.
- Cuadre el 100% de transmitancia sin cubeta.
- Observe durante un minuto la variación y anótela.

Resultado:

La variación no debe ser mayor del 2%

En caso de que sea mayor del 2% indica la inestabilidad eléctrica que se puede corregir conectando a la fuente de energía, un estabilizador de núcleo saturado. Si con éste no se corrige, requiere revisión técnica.

2. Respuesta de la fotocélula (detector)

- Coloque el equipo a 400 nm o a 415 nm.
- Cuadre el 100% T sin cubeta.

El equipo debe ser capaz de llegar al 100% T. Si esto no sucede, descarte el envejecimiento de la lámpara excitadora cambiándola por una nueva. Si con una lámpara nueva no se corrige la respuesta, el colorímetro requiere revisión técnica.

3. Tiempo de reacción

- Seleccione cualquier longitud de onda.
- Coloque una solución coloreada y mida el tiempo que toma el galvanómetro en detectar el cambio.

El tiempo de reacción debe ser de 7 a 9 segundos. En caso de que sea mayor, el equipo requiere revisión técnica.

Mensualmente

Control de la linealidad:

Para 400 nm o longitudes de onda cercanas, verifíquese con $K_2Cr_2O_7$, para 510 nm o longitudes de onda cercanas con $NiSO_4$ y para 650 nm o longitudes de onda cercanas con $CuSO_4$.

HOJA DE CONTROL DE LOS FOTOMETROS

LABORATORIO: _____ EQUIPO (Nº Serie): _____ MES: _____ AÑO: _____

CONTROL DIARIO

- Control de estabilidad o Drift
- Respuesta de la fotocélula
- Tiempo de reacción

CONTROL MENSUAL

Linealidad (Anexe las curvas efectuadas mensualmente con $K_2Cr_2O_7$, $NiSO_4$ y $CuSO_4$, a ésta hoja de Control).

DÍA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	FIRMA
Control de Estabilidad																																
Respuesta de la Fotocélula																																
Tiempo de Reacción																																
Linealidad $K_2Cr_2O_7$	ACEPTABLE ☐										NO ACEPTABLE ☐																					
Linealidad $NiSO_4$	ACEPTABLE ☐										NO ACEPTABLE ☐																					
Linealidad $CuSO_4$	ACEPTABLE ☐										NO ACEPTABLE ☐																					

OBSERVACIONES : _____

Para este efecto, seguir las mismas indicaciones dadas para el control de los espectrofotómetros.

3. **Balanzas analíticas y balanzas de precisión**

El pesaje en un laboratorio clínico es crítica, especialmente si se preparan patrones.

Con cualquier tipo de balanza se debe tomar ciertas precauciones si se quiere obtener resultados reproducibles.

- a. Se debe tener en cuenta que al hacer la pesada el brazo se encuentre en posición de reposo, de lo contrario se puede dañar la porción oscilante que une el platillo con el brazo.
- b. El brazo debe soltarse suave y lentamente.
- c. Se debe observar si hay marcada oscilación del platillo después de soltarse el brazo, pues esto indica falta de alineación, la cual debe ser corregida por un técnico experimentado en balanzas.
- d. Las corrientes de aire dentro de la balanza producen inestabilidad. Se requieren de 15 a 30 segundos para que el flujo de aire cese después de haber cerrado la puerta de la balanza.
- e. No adicionar sustancias al platillo cuando la balanza está en libertad.
- f. La balanza debe nivelarse por medio de los tornillos especiales y verificar su nivelación con la burbuja de aceite.
- g. La luz solar y los cambios de temperatura pueden producir desviación del cero de la balanza debido a calentamiento disperejo del mecanismo de la balanza. Este problema se puede obviar calibrando el cero siempre que se vaya a pesar algo.
- h. No se debe colocar sobre los platillos sustancias químicas, pues esto produce corrosión de éstos y contaminación de las muestras.
- i. Se recomienda usar siempre pinzas para coger las pesas.
- j. La vibración produce lecturas erradas, por esto la balanza debe montarse sobre bloques de concreto o en un mesón nivelado.
- k. Siempre se debe verificar el cero y la burbuja de aceite antes de cada pesada.

Se debe efectuar los siguientes chequeos periódicos:

1. *Diariamente*

- Chequeo del nivel de la burbuja de aceite y chequeo del cero.
- Limpieza de los platillos y la cámara.

2. *Mensualmente*

- Control con pesas de peso conocido (National Bureau of Standards).

HOJA DE MANTENIMIENTO PARA BALANZAS ANALITICAS

LABORATORIO: _____ BALANZA (Nº Serie): _____ MES: _____ AÑO: _____

DIARIAMENTE

1. Chequeo de la nivelación de la balanza por medio de la burbuja de aceite.

2. Limpieza de la balanza.

Firmar en el día correspondiente después de haber efectuado estos controles

DIA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	FIRMA
Chequeo Nivelación																																
Limpieza																																

MENSUALMENTE

Chequeo de peso con pesas de valor conocido.

Valor nominal de las pesas

Valor obtenido

Firma

_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

OBSERVACIONES: _____

4. Baños serológicos

Para el correcto funcionamiento de los baños y para asegurar la exactitud de la temperatura empleada, se debe llevar a cabo los siguientes procedimientos de mantenimiento a intervalos regulares:

1. Diariamente

- Controlar y registrar la temperatura del agua de los baños serológicos.

Ajustar la temperatura si ésta se sale de los límites especificados. Se debe tener un termómetro adaptado apropiadamente al baño y dentro del agua.

- Controlar el nivel del agua y mantener constantemente el nivel apropiado.

2. Semanalmente

- Desocupar el baño, limpiarlo cuidadosamente y llenarlo con agua destilada. Hacerlo igualmente cada vez que se riegue algún líquido dentro del baño. Se le puede agregar al agua Timol (1 g. por cada litro de agua) o Hipoclorido de sodio (decol), para inhibir el crecimiento bacteriano.

HOJA DE MANTENIMIENTO DE BAÑOS SEROLOGICOS

LABORATORIO:_____ EQUIPO (Nº Serie):_____

MES:_____ AÑO: _____

DIARIO

Registro de Temperatura. Debe realizarse a la misma hora todos los días.
Ajustarla si es necesario. Mantener el nivel de agua constante.

SEMANAL

Limpieza, cambio de agua. Firmar en el día correspondiente después de efectuar este control.

DIA	TEMP.	HORA	LIMPIEZA, CAMBIO AGUA	FIRMA
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
20				
21				
22				
23				
24				
25				
26				
27				
28				
29				
30				

Temperatura establecida para el Baño Serológico y Límites de tolerancia :

Observaciones :

5. Centrífuga

Hay dos factores que influyen en la velocidad de la centrífuga: el motor y la carga. La velocidad del motor varía inversamente con la carga. A carga más pequeña, mayor velocidad.

Antes de determinar el sitio donde se va a colocar la centrífuga, hay que tener en cuenta qué equipo está conectado en la misma línea eléctrica: nevera, estufas, baños serológicos, colocados en la misma red pueden causar reducción en la velocidad de la centrífuga.

Las siguientes partes de la centrífuga deben ser controladas:

a. Reostato

Aunque algunas centrífugas tienen velocidad constante, la mayoría vienen con un reostato para controlar las diferentes velocidades. Se debe tener en cuenta que los números indicadores en el disco de velocidades no siempre corresponden a la misma velocidad y por esto, cuando se quiere determinar la velocidad con exactitud se debe usar un tacómetro. En las centrífugas pequeñas se puede adaptar el tacómetro a través de un agujero que trae la tapa.

La centrífuga siempre se debe usar tapada, porque al destaparla se reduce su velocidad. Cuando se va a empezar a centrifugar en una centrífuga grande, el reostato debe moverse lentamente y aumentar la velocidad progresivamente hasta alcanzar la deseada.

b. Cabezales

En algunas centrífugas el cabezal va colocado sobre el eje asegurado por un tornillo el cual debe estar bien apretado.

c. Freno

Muchas centrífugas y especialmente los modelos más viejos vienen equipadas con un freno. A menos que sea absolutamente necesario el freno no debe usarse para la centrifugación porque el sedimento puede suspenderse nuevamente debido al paro repentino.

d. Balance de la carga

Es necesario que las cargas opuestas sean iguales en masa y tengan el mismo centro de gravedad usando tubos de centrífuga que sean idénticos.

Los envases en donde se colocan los tubos deben estar balanceados antes de ser colocados en la centrífuga. Deben pesarse y colocarse en forma pareada uno frente al otro. Se aconseja marcar los envases metálicos con números y marcar el lugar del cabezal donde van a ser colocados respectivamente.

Los envases metálicos deben tener un tapón de caucho en el fondo para amortiguar la presión centrífuga que hace que el tubo de la muestra se pegue contra el fondo del

envase metálico. Cuando se rompa un tubo, se debe lavar bien el envase para evitar que algún pedazo de vidrio produzca desequilibrio.

No se debe utilizar tubos en mal estado porque la presión de la centrífuga puede producir rompimiento de éstos. Cada vez que se centrifugue se debe balancear los tubos que quedan opuestos.

e. Motor

Las escobillas del motor deben mantenerse limpias y en buen estado para evitar que se produzcan chispas y se pierda la velocidad. Se deben inspeccionar y reemplazar periódicamente para asegurar máxima eficiencia.

También se debe revisar las balineras del motor pues cualquier defecto en ellas produce pérdida de energía. Un síntoma de esto es el escape de aceite, visible en la base de la centrífuga.

Cuidado de la centrífuga

1. Leer y seguir las instrucciones del manual de fábrica con detenimiento con el fin de evitar accidentes.
2. Lubricarla como indica el manual. La fricción y el recalentamiento de las balineras reduce la velocidad y produce desgaste rápido.
3. Reemplazar las escobillas con regularidad. Limpiarlas cuando se produzcan chispas.
4. Mantener la centrífuga limpia de restos de muestras, vidrio y polvo.
5. Cuando esté funcionando la centrífuga se debe mantener su tapa cerrada. Si algo se rompe no se debe abrir hasta que haya parado completamente.
6. Reemplazar los envases metálicos que estén abollados, pues producen una presión no uniforme sobre el tubo de muestra.
7. Reemplazar los tapones amortiguadores. En caso de romperse algún tubo, se les debe quitar todo el vidrio.
8. Controlar las revoluciones por minuto con un tacómetro eléctrico.

Se deben efectuar los siguientes controles periódicos:

1. *Diariamente:*

- Limpieza general de la centrífuga incluyendo los tubos metálicos.

2. *Mensualmente:*

- Control de las revoluciones de la centrífuga con un tacómetro eléctrico.
- Control del tiempo.
- Reemplazo de las escobillas cuando sus 3/4 partes estén desgastadas.

6. Centrífuga para Microhematocrito (Microcentrífuga)

Se debe efectuar los siguientes controles periódicos:

1. Diariamente:

- Limpieza interior y exterior de las superficies de la centrífuga con un paño humedecido en un detergente suave. Evitar para ésta el uso de tetracloruro de carbono, cloroformo, gasolina, acetona, hidrocarburos aromáticos como benceno, tolueno, xileno, o hidróxido de amonio y sodio que pueden dañar la cubierta.

2. Mensualmente:

- Control de las revoluciones. Estas deben estar entre 12.000 y 15.000 RPM.
- Control del tiempo: controlar con un cronómetro digital graduado en décimas de segundo el tiempo de cada ciclo de la microcentrífuga.

3. Anualmente:

- Revisión de las escobillas después de 2.500 ciclos, equivalentes más o menos a un año de uso, cuando ha sido utilizada un promedio de 10 horas por día. Si las escobillas están desgastadas, se deben cambiar siguiendo cuidadosamente las instrucciones del fabricante.

HOJA DE MANTENIMIENTO DE CENTRIFUGAS

LABORATORIO: _____ EQUIPO (Nº Serie): _____ MES: _____ AÑO: _____

DIARIAMENTE

Limpieza general y de los tubos metálicos.

MENSUALMENTE

Control de RPM, control del tiempo, reemplazo de escobillas.

DIA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	FIRMA
Limpieza																															
RPM																															
Tiempo																															
Reemplazo de Escobillas																															

OBSERVACIONES: _____

HOJA DE MANTENIMIENTO DE MICROCENTRIFUGAS

LABORATORIO: _____ EQUIPO (Nº Serie): _____ MES: _____ AÑO: _____

DIARIAMENTE

Limpieza general con un paño humedecido con un detergente suave. Firmar en el día correspondiente después de efectuar este control.

MENSUALMENTE

Control de revoluciones por minuto (RPM), que debe ser entre 12.000 y 15.000 rpm.

Control del tiempo.

DIA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	FIRMA
Limpieza general																															

Fecha de último control de revoluciones: _____ Tiempo: _____

Número de revoluciones registradas: _____

Fecha del último cambio de escobillas: _____

OBSERVACIONES: _____

7. Microscopios

El microscopio necesita cuidados cotidianos para conservarlo en buenas condiciones de trabajo y asegurar resultados confiables en el laboratorio. En los climas cálidos y húmedos se requieren cuidados especiales.

1. *Diariamente*

a. Limpieza de los objetivos

- Objetivos secos:

Exhale sobre la lente y límpiela con un trapo suave, moviéndola de un lado a otro y no en círculos.

- Objetivos de inmersión en aceite:

Quite el aceite con papel especial para lentes o papel absorbente. Si quedan vestigios de aceite de inmersión viejo o se ha empleado aceite de madera de cedro, humedezca el papel muy ligeramente con xilol o tolueno y limpie la lente otra vez con papel seco.

Todas las noches, antes de guardar el microscopio, quite el polvo de los objetivos arrojándoles aire con la pera de goma. Si es necesario, limpie el polvo remanente usando el pincel fino.

b. Limpieza de los oculares

Limpie la superficie de la lente más alta (en la que se aplica el ojo) con un trapo suave o papel de seda.

Limpie la superficie inferior de la lente más baja, dentro del tubo del microscopio, con el pincel fino.

Si hay polvo en el interior del ocular, desatornille la lente más alta y limpie las lentes interiores empleando sólo aire aplicado con una pera de goma y el pincel fino.

c. Limpieza del condensador y del espejo

El condensador se limpia de la misma manera que los objetivos, con un trapo suave o papel de seda humedecido con xilol.

El espejo se limpia con un trapo suave humedecido con alcohol.

d. Limpieza del bastidor y la platina

Limpie con una pieza de piel de gamuza o trapo suave, que no desprenda pelusa.

Nunca se debe usar xilol ya que puede arrancar la pintura negra del microscopio.

La platina se puede limpiar completamente usando papel absorbente impregnado de vaselina.

2. Precauciones adicionales que se deben tener en climas cálidos:

a. Climas cálidos y húmedos:

En los climas cálidos y húmedos, si no se tienen precauciones, pueden proliferar hongos en el microscopio, especialmente en la superficie de las lentes, en las roscas de los tornillos y debajo de las capas de pintura, de suerte que el instrumento se inutiliza en poco tiempo. Esto se puede evitar así:

- Laboratorios que cuentan con electricidad

Guarde el microscopio por las noches en un armario templado, lo cual se logra por medio de una bombilla de 40 watios.

- Laboratorios que no cuenta con electricidad

En estos laboratorios se puede conservar el microscopio al aire y en la sombra, aunque siempre cerca de un sitio soleado.

Nunca se debe guardar el microscopio en su estuche de madera; se debe utilizar invariablemente una cubierta.

Algunas cosas que nunca se deben hacer:

1. Nunca limpie las lentes de los objetivos o los oculares con etanol.
2. Nunca sumerja los objetivos en xilol o etanol (se aflojarían).
3. Nunca emplee papel ordinario o algodón para limpiar las lentes.
4. Nunca toque los objetivos con los dedos.
5. Nunca limpie los soportes o la platina con xilol.
6. Nunca limpie las lentes internas de los oculares o los objetivos con trapo o papel (esto desprendería la capa antirreflejante); utilice solamente un pincel fino.
7. Nunca deje el microscopio sin los oculares, a menos que los orificios se taponen.
8. Nunca guarde el microscopio en estuches de madera cerrados si la región es cálida y húmeda.
9. Nunca deje el microscopio con aceite de inmersión en el objetivo.
10. Nunca lleve el microscopio cogiéndolo por el bastidor con una mano; utilice ambas manos, una en el pie y la otra en el bastidor.

8. Refrigeradores y congeladores

Se deben llevar a cabo los siguientes procedimientos de mantenimiento para garantizar su servicio ininterrumpido.

1. *Diariamente*

- Controlar y revisar las temperaturas de los refrigeradores y congeladores.
- Colocar un termómetro verticalmente dentro del refrigerador en un sitio apropiado. Usar termómetros de mercurio para los refrigeradores y de alcohol o digitales para los congeladores. El registro de las temperaturas se debe hacer a la misma hora todos los días, de preferencia en la mañana, antes de abrirlos la primera vez en el día.
- Como control práctico de estabilidad en la temperatura de congelación se sugiere mantener en el congelador un tubo pequeño con agua hasta la mitad el cual, una vez esté congelado se invierte y cuando se encuentre vacío indica que en algún momento se descongeló. Este es un buen control para detectar la descongelación en las horas de la noche.

2. Semanalmente

- Se debe ajustar la temperatura si es necesario: la temperatura de los refrigeradores debe mantenerse entre 4°C. y 8°C. Si el promedio para la semana no fue de 6°C se debe ajustar a este nivel la temperatura.

La temperatura de los congeladores más utilizada en el laboratorio clínico oscila entre -30°C y -20°C.

3. Trimestralmente

- Descongelar los refrigeradores, siempre y cuando lo requieran, según el tipo.

4. Semestralmente

- Descongelar los congeladores, siempre y cuando lo requieran según el tipo.

5. Anualmente

- Aspirar o retirar el polvo del resorte del condensador en la parte trasera del refrigerador. Algunas unidades tienen un ventilador en el condensador.
- Asegurarse que el ventilador se mueva apropiadamente.

En el 95% de los casos en que el condensador está lleno de polvo o el ventilador está trabajando mal, el refrigerador dejará de funcionar apropiadamente.

Cualquier salpicadura o reguero de líquido dentro del refrigerador debe ser limpiado inmediatamente.

NOTA: El refrigerador siempre se debe colocar por lo menos a 13 cm. de la pared para que suministre una adecuada circulación de aire y no se recaliente la unidad compresora. Esto disminuirá la posibilidad de que el compresor se funda o pierda su efecto enfriador. Nunca se deben usar cables de extensión en refrigeradores o congeladores.

HOJA DE MANTENIMIENTO DE REFRIGERADORES Y CONGELADORES

LABORATORIO: _____ EQUIPO (Nº Serie): _____

MES: _____ AÑO: _____

DIARIO

Registro de temperaturas. Debe realizarse a la misma hora todos los días.

SEMANAL

Ajuste de temperatura si es necesario

TRIMESTRAL

Descongelación de refrigeradores, si estos lo requieren.

Fecha última descongelación: _____

SEMESTRAL

Descongelación de congeladores, si estos lo requieren.

Fecha última descongelación: _____

ANUAL

Limpieza del polvo que se deposita en el condensador.

Fecha última limpieza: _____

DIA	TEMP.	HORA	FIRMA
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			

DIA	TEMP.	HORA	FIRMA
16			
17			
18			
19			
20			
21			
22			
23			
24			
25			
26			
27			
28			
29			
30			

OBSERVACIONES: _____

Rango de Temperatura establecido para el refrigerador o congelador _____

9. Pipetas automáticas

Para garantizar que las pipetas automáticas dispensen la cantidad establecida se deben tener en cuenta los siguientes cuidados periódicos:

1. *Diariamente*

- Hacer una limpieza general de todas las superficies con un paño húmedo.

2. *Semanalmente*

- Lubricar internamente las pipetas. Las instrucciones adjuntas explican detalladamente cómo efectuar la lubricación.
- Limpiar el conducto de salida de aire de la pipeta, siguiendo de igual manera las instrucciones adjuntas.

3. *Mensualmente*

- Efectuar un chequeo de la calibración de la pipeta de la siguiente manera:
 - a. Pesar un frasco limpio y seco en una balanza analítica y determinar su peso hasta la cuarta cifra decimal.
 - b. Empleando la pipeta a calibrar, dispensar ese volumen de agua dentro del frasco.
 - c. Pesar el frasco con el agua.
 - d. Calcular el peso del agua
 - e. Empleando un termómetro calibrado, medir la temperatura del agua.
 - f. Determinar la densidad del agua a esa temperatura según la tabla de densidades del agua.
 - g. Calcular el volumen del agua vertida por la pipeta según la fórmula:

$$\text{Volumen} = \frac{\text{Peso del agua}}{\text{Densidad a esa temperatura}}$$

- h. Se debe realizar este procedimiento de 15 a 25 veces y hacer los cálculos necesarios para obtener finalmente el coeficiente de variación.

Las instrucciones de cada pipeta lleva especificado el coeficiente de variación permisible o los límites de tolerancia.

- i. En la hoja control se debe anotar el CV permitido por el fabricante y el obtenido en el laboratorio. Cualquier desviación que sobrepase los límites permitidos requiere servicio técnico.

HOJA DE CONTROL DE PIPETAS AUTOMATICAS

LABORATORIO: _____ EQUIPO (Nº Serie): _____ MES: _____ AÑO: _____

DIARIAMENTE

Limpieza con un paño húmedo. Firmar en el día correspondiente después de efectuar este control.

SEMANALMENTE

Lubricación interna de la pipeta. Limpieza del conducto de salida del aire.

MENSUALMENTE

Chequeo de calibración por peso. Anotar en el espacio correspondiente el valor calculado permisible, o los límites de tolerancia.

DIA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	FIRMA	
Limpieza general																																
Lubricación																																
Limpieza del conducto de salida del aire																																
Chequeo de calibración Valor nominal de la pipeta _____ C.V. permitido _____ C.V. obtenido _____ Firma _____																																

OBSERVACIONES: _____

10. Dispensadores

Se debe comprobar su exactitud semanalmente haciendo dispensar el volumen de reactivo para el cual está graduado, en un balón volumétrico de la misma medida.

11. Potenciómetros

a. Calibración

Para efectuar la calibración o la estandarización del pH en operaciones de rutina, se lee un primer buffer standard y se ajusta la aguja a leer el valor del buffer en la escala; un segundo buffer debe leerse después de que se ha ajustado la lectura con el primer buffer. Si el segundo buffer no lee adecuadamente, se debe ajustar el "Slope". El primero se llama "ajuste del rango".

b. Cuidado y limpieza de los electrodos de pH.

Cuando los electrodos no estén en uso, el orificio de llenado del electrodo de referencia debe mantenerse cerrado y tanto el electrodo medidor como el de referencia deben mantenerse sumergidos en agua destilada para prevenir desecamiento.

Para prevenir la polarización de los electrodos, éstos nunca deben ser retirados de la solución cuando el instrumento esté en posición de medida. Todo electrodo debe

mantenerse meticulosamente limpio. Normalmente es suficiente mantener los electrodos en agua destilada cuando no estén en uso y enjuagarlos con agua destilada entre una y otra medición. El electrodo de referencia debe tener suficiente cantidad de KCl saturado, el cual se adiciona por el agujero cada vez que se observe evaporación, y cambiarse semanalmente.

Mensualmente se debe lavar el electrodo de referencia con agua tibia.

1. Control diario

Calibración del pH.

2. Control semanal

Cambio de la solución interna de KCl del electrodo, en aquellos potenciómetros donde no esté contraindicado.

3. Control mensual

Limpieza del electrodo de referencia.

CONTROL DE CALIDAD PARA POTENCIOMETROS

LABORATORIO: _____ EQUIPO (Nº Serie): _____ MES: _____ AÑO: _____

DIARIAMENTE

Ajustes de "Rango" y "Slope". Anotar las lecturas de pH obtenidas.

SEMANALMENTE

Cambio de la solución interna de KCl del electrodo.

MENSUALMENTE

Lavar el electrodo con agua tibia para evitar su cristalización.

DIA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	FIRMA
Solución Buffer pH =																															
Solución Buffer pH =																															
Cambio de la Solu- ción interna del electrodo																															
Limpieza del elec- trodo con agua tibia																															

OBSERVACIONES: _____

12. Fotómetros de llama

Un fotómetro de llama consta básicamente de:

- a. Un aspirador - atomizador.
- b. Un suministro de gas y oxígeno o aire con sus sistemas de regulación de la presión, y/o un compresor.
- c. Un quemador (chimenea).
- d. Un sistema óptico (fotómetro).

Los siguientes cuidados y controles deben efectuarse para la obtención de óptimos resultados:

a. Aspirador - atomizador:

Este debe ser muy preciso ya que la exactitud y precisión de los análisis en fotometría de llama dependen de que a la llama entre siempre una cantidad constante de muestra.

Es importante mantener muy limpio el capilar por donde se recibe la muestra, pues sustancias extrañas o depósitos de proteínas, introducen errores en las lecturas. Si existe una obstrucción parcial, el flujo de aspiración será menor y por consiguiente habrá menos muestra vaporizada, lo cual será fuente de error. El flujo de aspiración debe ser constante y su velocidad debe controlarse semanalmente. Cada fotómetro especifica la velocidad de aspiración.

b. Reguladores de presión

El gas, oxígeno o aire se deben llevar a la cámara de combustión a una velocidad de flujo constante para obtener una llama de tamaño uniforme y temperatura constante. Para asegurar esto, es necesario tener una presión adecuada y reguladores de flujo. La presión debe verificarse a diario.

c. Quemador

Una llama pura, de alta temperatura, uniforme y constante es el principal requisito. Para obtener esto, es fundamental utilizar gas propano o butano de alta pureza; en caso de que su suministro sea difícil, se aconseja usar filtros de purificación del aire y del gas para evitar la contaminación de la llama.

d. Sistema óptico

Es óptimo el uso de filtros de interferencia.

Otras fuentes de error importantes en fotometría de llama son:

- El material de vidrio o de plástico usado debe estar perfectamente limpio, libre de detergentes y lavado con agua desionizada.

- Los estándares de sodio, potasio y litio deben almacenarse en frascos de polietileno, pues el vidrio puede absorber o liberar iones.
- La calidad del agua utilizada debe ser de Tipo I, destilada, desmineralizada, desionizada.
- Las muestras deben estar libres de hemólisis.
- El suero o el plasma debe separarse en un tiempo máximo de media hora después de la obtención de la muestra, ya que si es superior se suceden intercambios celulares produciendo un aumento de potasio y una disminución del sodio.
- No se deben usar anticoagulantes que contengan sodio o potasio, a excepción de la heparina pura.

1. *Diariamente*

- Calibración y control de la llama.
- Limpieza del aspirador.
- Control de la presión.
- Uso de sueros control estandarizados. Se debe procesar con cada lote de muestras.

2. *Semanalmente*

- Control de la velocidad de aspiración.

3. *Mensualmente*

- Control de la reproducibilidad:

Se aspira la misma muestra un mínimo de 12 veces, se anotan los resultados y se hace el cálculo estadístico. No debe obtenerse un CV mayor del 2%.

- Control de la linealidad:

Prepare 5 estándares de sodio que contengan : 120, 130, 140, 150 y 160 meq/L. y prepare 5 estándares de potasio que contengan 2, 3, 4, 5 y 6 meq/L. Mida cada solución en el fotómetro de llama y observe linealidad.

- Limpieza del quemador.

4. *Semestralmente*

- Cambio de los filtros de impurezas de gas y de aire.

HOJA DE CONTROL PARA FOTOMETROS DE LLAMA

LABORATORIO: _____ EQUIPO (Nº Serie): _____ MES: _____ AÑO: _____

DIARIAMENTE

Calibración y chequeo de la llama. Limpieza del aspirador. Chequeo de la presión.

SEMANALMENTE

Chequeo de la velocidad de aspiración.

MENSUALMENTE

Control de la reproductividad. Control de la linealidad. Limpieza del quemador.

SEMESTRALMENTE

Cambio de filtros de impurezas.

DÍA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	FIRMA
Chequeo llama																															
Chequeo presión																															
Limpieza del Aspirador																															
Chequeo del Aspirador																															
Limpieza del Quemador																															
Reproductividad																															
Linealidad																															

OBSERVACIONES: _____

13. Registro de Mantenimiento

A todos los equipos y especialmente a los más sofisticados se les debe abrir una "historia clínica" contemplada en su hoja de registro, control, mantenimiento y reparación que se efectúe por parte del representante o técnico de la casa comercial correspondiente.

Esto tiene varias ventajas:

- a. "Seguirle la pista" a través del tiempo el equipo: así un equipo que ha necesitado de muchos servicios técnicos en el año, es indicativo de que el equipo, o es demasiado viejo o necesita cambiarse, o que es un equipo que aunque bueno no se adapta para ser utilizado en la rutina diaria por ser muy delicado o exigente para las condiciones ambientales del laboratorio clínico de rutina.
- b. Poder cuantificar las "horas de trabajo" de los aditamentos, que pueden variar con las condiciones especiales de un laboratorio dado.
- c. Planificar con el debido tiempo los suministros y la cantidad de repuestos necesarios.
- d. Calcular el costo "real" del equipo.

III. PROGRAMA INTERNO DE GARANTIA DE CALIDAD EN EL LABORATORIO CLINICO

Un Programa de Garantía de Calidad puede definirse como el conjunto de prácticas que son realizadas en forma periódica para detectar y eliminar los errores, así como para asegurar que los resultados obtenidos reflejen la condición real del paciente.

La finalidad de un Programa de Garantía de Calidad es mantener la mejor precisión y exactitud posibles en todos los análisis.

1. Precisión y exactitud

Para definir la calidad de un análisis se emplean los términos precisión y exactitud.

Precisión: Expresa la reproductibilidad de los valores obtenidos y el grado de dispersión de dichos valores.

Un método es preciso cuando los valores que se obtienen son constantemente reproducibles.

La precisión de un análisis cuantitativo se expresa en términos de desviación estándar (SD) y coeficiente de variación (CV). A menor desviación estándar y menor variación, mayor precisión.

Exactitud: Este término se aplica al valor verdadero, es decir, a un valor único y es la medida estricta de una cantidad.

Un método puede ser preciso sin ser exacto. Mientras que es posible la precisión sin exactitud, es imposible la exactitud sin un cierto grado de precisión.

Ejemplo: Se tiene un suero cuyo valor exacto para colesterol es 170 mg/ dl. Se obtienen los siguientes resultados:

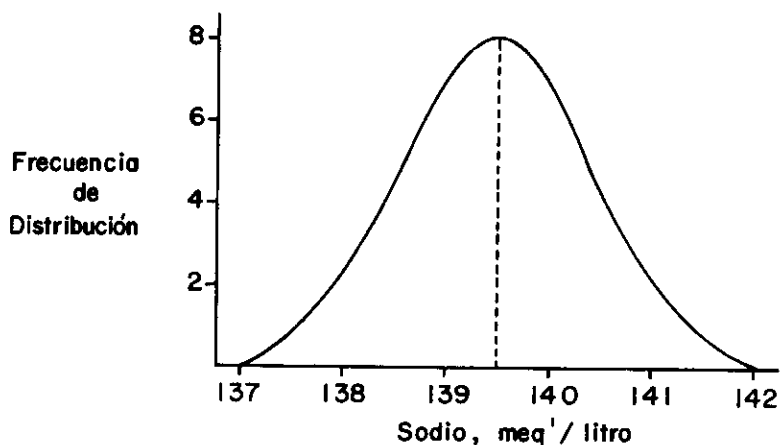
158	Observamos que éste es un método preciso porque da
156	valores reproducibles en exámenes repetidos de la
157	misma muestra, pero no es exacto porque se aleja del
158	valor verdadero.

2. Distribución normal de frecuencias

Al realizar 30 determinaciones del mismo componente y calcular su valor medio, se observará que los valores individuales se agrupan alrededor del valor medio, y

aproximadamente la mitad de ellos dan valores más altos que la media y la otra mitad dan valores más bajos.

Al hacer el gráfico de los valores obtenidos frente a su frecuencia, se tendrá una curva en forma de campana que se llama curva de distribución normal, o campana de Gauss. Tomamos como ejemplo la representación gráfica de 6 determinaciones de sodio.



CURVA DE DISTRIBUCION NORMAL

Tomado de Murali Dharan, Control de Calidad en los Laboratorios Clínicos. 1980.

3. Desviación estándar y coeficiente de variación

La desviación estándar expresa la dispersión de los datos con respecto al valor medio ($\bar{X}$) y nos permite evaluar la precisión de un procedimiento analítico.

Para calcular la desviación estándar se utiliza la siguiente fórmula:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (\bar{X} - x)^2}{n - 1}}$$

En donde:

x	=	valor individual
$\sum$	=	sumatoria
n	=	número total de valores
$\bar{X}$	=	valor medio

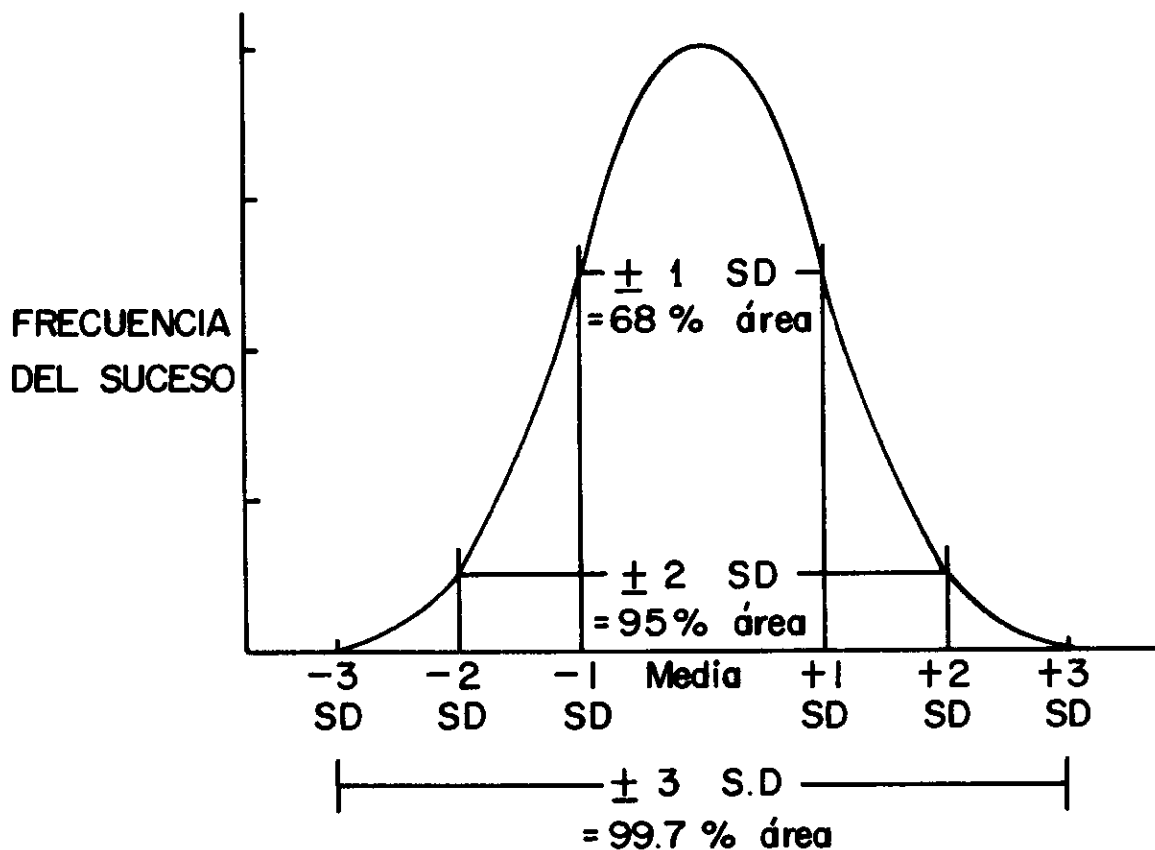
$$\bar{X} = \frac{\sum x}{n}$$

$(\bar{x} - x)^2$ = cuadrado de la diferencia entre el valor medio y el valor individual, o sea la desviación de la media.

La curva de distribución normal está relacionada directamente con la media y la desviación estándar ya que la forma de la curva está dada por estas dos variables. Cuando en la curva se dibuja la escala de desviación estándar, tanto en sentido positivo como negativo a partir de la media, se puede demostrar que el 68% del área de la curva está comprendido entre la media y ± 1 SD, el 95% entre la media y ± 2 SD, y el 99.7% entre la media y ± 3 SD. Esto quiere decir, que los análisis repetidos que se hacen sobre una muestra, el 68% de éstos caerán dentro de ± 1 SD de la media, el 95% dentro de ± 2 SD y el 99.7% dentro de ± 3 SD. Este principio es la clave de todos los Programas de Garantía de Calidad de los laboratorios clínicos.

Se considera como límites aceptables de precisión los valores correspondientes a ± 2 SD, dentro del cual quedan incluidos el 95% de los datos.

Los valores analíticos que caigan fuera de ± 3 SD con respecto a la media son inaceptables.



CURVA DE DISTRIBUCION NORMAL

Tomado de Murali Dharan, Control de Calidad en los Laboratorios Clínicos 1980.

Para el ejercicio matemático de la SD tomaremos como ejemplo el cálculo estadístico que se le hace a un suero control, al cual se le quiere determinar el valor teórico para proteínas.

En el laboratorio se hicieron 30 determinaciones de proteínas por el método del Biuret, utilizando el mismo lote de suero, los mismos reactivos, metodología y equipo. Cada día se realizó 1 determinación.

$$\begin{array}{rcl}
 \sum X & = & 196.1 \\
 \bar{X} & = & 6.5 \\
 \sum (\bar{X} - X)^2 & = & 1.69 \\
 \frac{\sum (\bar{X} - X)^2}{n - 1} & = & 0.058 \\
 SD & = & 0.24
 \end{array}$$

Ya que la SD se expresa en las mismas unidades del constituyente que se mide, su interpretación y comprensión se hace difícil y confusa.

Una manera práctica de interpretar la SD es el coeficiente de variación (CV) el cual expresa la SD en porcentaje con respecto al valor medio.

$$CV = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$

3.1 Aplicación práctica de la desviación estándar

El cálculo de la SD se utiliza para:

- Hallar el valor teórico de las concentraciones de un suero control para los diversos constituyentes.
- Determinar la precisión de una serie de análisis.
- Evaluar el comportamiento de un laboratorio que esté llevando a cabo o participando en Programas de Garantía de Calidad intra o interlaboratorios.

3.2 Interpretación del coeficiente de variación

El CV permite establecer los límites comprobables de variación para diversos constituyentes. También determina los límites permisibles de error.

En general se considera aceptable un CV hasta el 5% para sustratos, y hasta un 10% para enzimas.

Además el CV es también una medida de precisión.

Cuando se quiere hallar el valor teórico de un suero control y se tiene su SD, debe investigarse el CV antes de aceptar los resultados. Si, por ejemplo, se está averiguando el valor para glucosa, y se obtiene un CV del 10%, éste no es aceptable, y por

Laboratorio: Control de Calidad INS

Determinación: Proteínas totales

Método: Biuret - Manual

Aparato: Perkin Elmer

Suero: Control para Química Clínica, Suero liofilizado

Fecha	n	$\bar{x}$	$\bar{x} - x$	$(\bar{x} - x)^2$
X-1-84	1	6.3	0.2	0.04
X-2-84	2	6.4	0.1	0.01
X-3-84	3	6.7	0.2	0.04
X-4-84	4	6.2	0.3	0.09
X-5-84	5	6.9	0.4	0.16
X-6-84	6	6.5	0.0	0.00
X-7-84	7	7.0	0.5	0.25
X-8-84	8	6.3	0.2	0.04
X-9-84	9	6.5	0.0	0.00
X-10-84	10	6.6	0.1	0.01
X-11-84	11	6.5	0.0	0.00
X-12-84	12	6.8	0.3	0.09
X-13-84	13	6.9	0.4	0.16
X-14-84	14	6.3	0.2	0.04
X-15-84	15	6.2	0.3	0.09
X-16-84	16	6.5	0.0	0.00
X-17-84	17	6.8	0.3	0.09
X-18-84	18	6.9	0.4	0.16
X-19-84	19	6.3	0.2	0.04
X-20-84	20	6.4	0.1	0.01
X-21-84	21	6.6	0.1	0.01
X-22-84	22	6.7	0.2	0.04
X-23-84	23	6.5	0.0	0.00
X-24-84	24	6.6	0.1	0.01
X-25-84	25	6.9	0.4	0.16
X-26-84	26	6.4	0.1	0.01
X-27-84	27	6.3	0.2	0.04
X-28-84	28	6.2	0.3	0.09
X-29-84	29	6.5	0.0	0.00
X-30-84	30	6.4	0.1	0.01

consiguiente los valores están muy dispersos, por lo cual debe repetirse el ensayo para averiguar el valor de la glucosa de ese suero que servirá como control.

En el ejercicio matemático hecho para el cálculo de la SD para hallar el valor teórico del suero control para proteínas totales se obtiene un CV menor del 5%, por lo tanto se pueden aceptar los resultados.

$$CV = \frac{0.24}{6.5} \times 100 = 3.7\%$$

4. Gráficas de control diario (Gráfica de Levy-Jennings)

La gráfica de control diario se prepara a partir de los datos calculados para la SD.

Para establecer el valor numérico del límite superior, se toma el valor medio ($\bar{X}$) más la SD multiplicada x 2 y x 3, y para los límites inferiores se resta del valor medio ($\bar{X}$) la SD multiplicada x 2 y x 3.

En el ejemplo descrito para la asignación del valor teórico de proteínas totales para el suero control liofilizado, tenemos:

$\bar{X}$	=	6.5
SD	=	0.24
2 SD	=	0.48
3 SD	=	0.72

Límite superior de alerta: 7.2 ($\bar{X} + 3 \text{ SD}$)

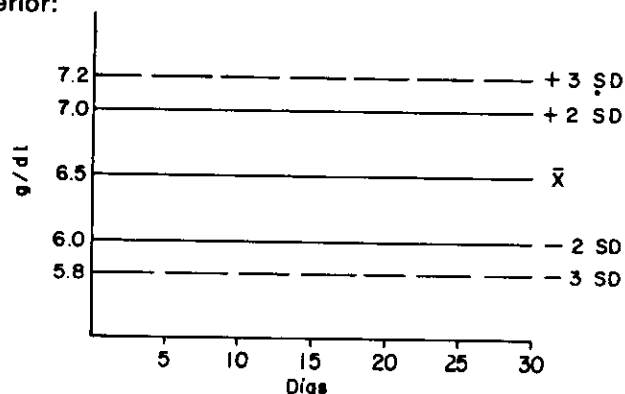
Límite superior de control: 7.0 ($\bar{X} + 2 \text{ SD}$)

Límite inferior de control: 6.0 ($\bar{X} - 2 \text{ SD}$)

Límite inferior de alerta: 5.8 ($\bar{X} - 3 \text{ SD}$)

La gráfica se construye así: en el eje de las abscisas (X) los días del mes, y en el eje de las ordenadas (y) la concentración de los constituyentes y sus valores correspondientes al valor medio, los límites de control y los límites de alerta.

Para el ejemplo anterior:



GRAFICA DE CONTROL DIARIO

Esta gráfica permite anotar diariamente los resultados de los sueros control y observar sus variaciones día a día, así como la desviación o la tendencia del suero control hacia alguno de los límites.

Estas gráficas deben colocarse en un lugar visible del laboratorio, ojalá en la pared donde todas las personas involucradas en la sección puedan detectar rápidamente algún problema, lo cual permite tomar las medidas correctivas necesarias.

Además es indispensable que éstas gráficas se manejen día a día, y se interpreten los resultados en su conjunto.

El análisis de los sueros control debe ser diario, y deben prepararse las gráficas para el mes y para el mismo lote de control. Existen en el comercio sueros de control que ya traen calculados sus valores teóricos. Para éstos casos, y para los sueros de control liofilizados que distribuya el Nivel Central no es necesario hacer el cálculo estadístico para el establecimiento de los valores del suero para los diversos constituyentes. En estos casos se construyen las gráficas de control diario con los valores conocidos, teniendo en cuenta la selección de éstos según el método y el equipo.

4.1 Interpretación de los resultados

Los valores de los sueros control deben caer a ambos lados de la línea media, y distribuirse según las siguientes reglas:

a. Los resultados analíticos de los sueros control deben caer - el 95% de las veces dentro de las líneas de la media y ± 2 SD (ver gráfica días 1 a 7).

b. Los valores deben distribuirse uniformemente a ambos lados de la línea media.

No es posible que haya más de 5 determinaciones consecutivas a un mismo lado de la línea media, a menos que haya algún error. (ver gráfica días 8 a 14).

c. No puede haber un incremento o disminución gradual de los valores control para más de 5 análisis consecutivos (ver gráfica días 15 a 21).

d. Ningún valor debe caer fuera de ± 3 SD (ver gráfica día 30).

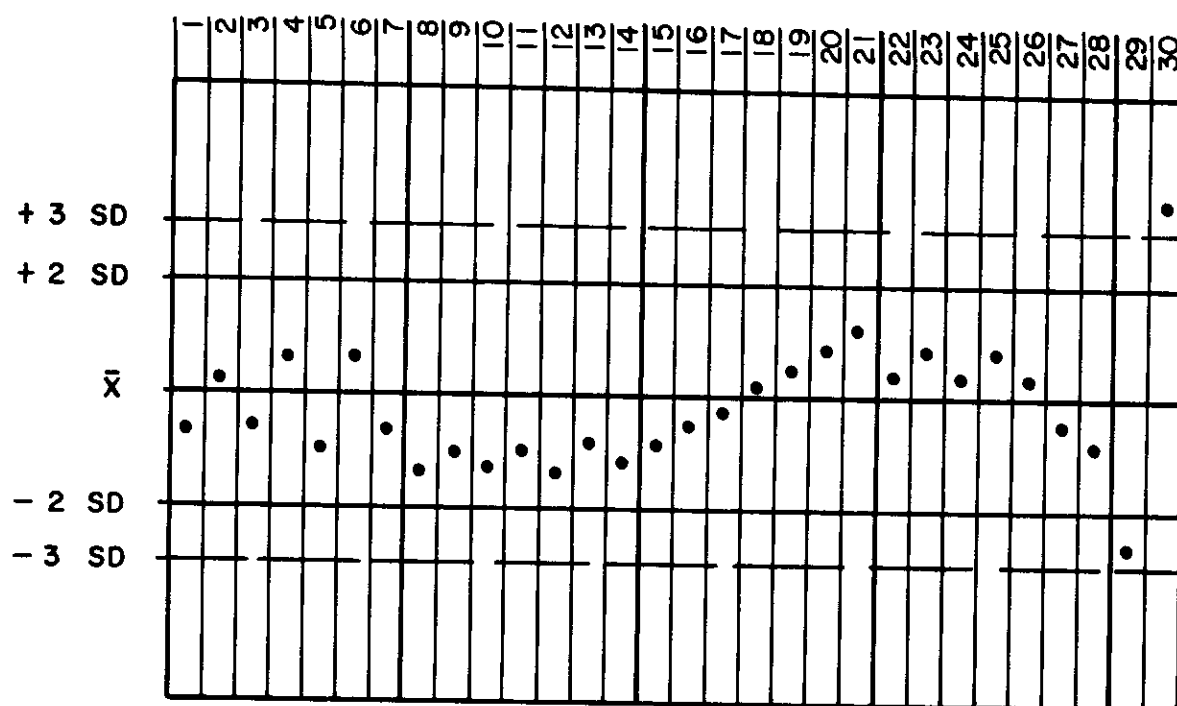
e. Cuando un valor cae dentro de los límites ± 2 SD y ± 3 SD es voz de alarma (ver gráfica día 29).

f. Los días 22 a 28 de la gráfica muestran un cambio brusco en los valores.

g. No debe haber una diferencia de más de 2 SD por 2 días consecutivos.

Cuando las gráficas de control no cumplan éstas reglas, y se observe alguna tendencia o desviación de los valores ello puede deberse a un deterioro del reactivo, a un patrón que se está volviendo más concentrado por evaporación, a una cubeta de flujo sucia o a otros problemas.

GRAFICAS DE GARANTIA DE CALIDAD



Cuando esto ocurra o cuando un dato esté fuera de control, los pasos a seguir son:

- Controlar los reactivos.
- Revisar cada etapa del procedimiento y ver que las operaciones y los componentes son correctos.
- Ver si el cálculo es correcto.
- Comprobar si el mantenimiento preventivo de los aparatos se ha llevado a cabo satisfactoriamente.
- Procesar un nuevo suero control para ver si mejora el valor. Si este valor es también inaceptable, repetir la prueba cambiando todos los reactivos.

4.2. Utilización de las gráficas de Garantía de Calidad

Los resultados del suero control de cada serie deben ser evaluadas antes de informar los resultados de las determinaciones en los pacientes.

Pautas para aceptar o rechazar los resultados de las muestras de los pacientes basados en los valores del suero control.

A. Aceptar la serie así:

1. Todos los controles caen dentro de ± 2 SD de la media establecida.
2. En caso de doble control: nivel I, nivel II.
Un control cae dentro de ± 2 SD y el otro control entre ± 2 y ± 3 SD.

B. Rechazar la serie si:

1. Un control es mayor que ± 2 SD de la media.
2. En caso de doble control: Nivel I, nivel II
Un control es mayor que ± 3 SD de la media.
3. Ambos controles son mayores que ± 2 SD de la media.
4. Un control cae entre ± 2 SD y ± 3 SD en dos series sucesivas.

C. Si la serie es rechazada:

1. Retener los resultados y consultar con el supervisor.
2. Reconstituir una nueva muestra de suero control.
3. Repetir las determinaciones del suero control usando ambos controles (fresco y viejo) y hasta 5 muestras de pacientes de la serie analítica y proceder:
 - a. Si la nueva muestra de suero control cae ahora dentro de ± 2 SD, compare los valores de las muestras repetidas de los pacientes con los valores originales.

Si los resultados de cada paciente muestran un porcentaje de diferencia menor del doble del CV para dicho constituyente, consultar con el supervisor para dar los resultados de los pacientes. Si la diferencia es mayor, repetir todas las muestras de los pacientes.
 - b. Si los valores de control continúan siendo inaceptables, proceda con la guía de problemas.

Considerar los siguientes puntos:

1. ¿Están correctos los cálculos?
 2. ¿Están siendo usados patrones nuevos?
 3. ¿Están siendo usados reactivos nuevos?
 4. ¿Se han deteriorado algunos reactivos?
 5. ¿Fueron los parámetros del instrumento controlados antes de la prueba?
 6. ¿Estaban sucios los instrumentos y/o la cristalería?
- c. Descarte todo material de control que esté dando resultados erróneos.

5. Control de la exactitud

Se debe llevar un control de la exactitud independientemente del control de precisión. Esto se logra utilizando los controles de exactitud o soluciones patrón.

Se deben correr los patrones por duplicado y comparar los resultados con el valor teórico. Se calcula la diferencia entre éstos y se aplica la siguiente fórmula para obtener el porcentaje de desviación del valor teórico:

$$\frac{V_t - V_h}{V_t} \times 100$$

En donde:

V_t = Valor teórico

V_h = Valor hallado

La desviación porcentual permitida puede ser hasta de 10%.

Ejemplo: valor teórico de una solución patrón de glucosa: 90 mg/dl.

Valores hallados: 95 mg/dl
89 mg/dl

$$\frac{90 - 95}{90} \times 100 = 5.5\%$$

$$\frac{90 - 89}{90} \times 100 = 1.1\%$$

Observamos que en ambos resultados se obtiene una buena concordancia respecto al valor teórico del ejemplo.

6. Soluciones de control

Las soluciones de control son la base de cualquier Programa de Garantía de Calidad, ya que constituye el punto de referencia y de comparación para el análisis de la precisión y la exactitud, así como nos ayudan a valorar el comportamiento del laboratorio.

6.1. Sueros control:

Las propiedades que debe tener un suero control son:

- Tener valores asignados para la concentración de cada uno de sus componentes.
- Estabilidad: sus componentes no deben desnaturalizarse rápidamente.

- Deben ser de naturaleza similar a la muestra de manera que no sufra cambios de importancia al recibir el mismo tratamiento que ella.

Clases de Suero control, preparación y manejo:

a. Mezclas o "Pools" de sueros congelados

Se preparan a partir de la recolección diaria de los sueros sobrantes de los pacientes, que no estén hemolizados, ictericos, lipémicos y que no presenten contaminación.

Los sueros se recolectan durante un período de 3 meses y se almacenan a -20°C. hasta obtener un volumen apreciable de 2 a 3 litros.

Después se procede a su homogenización, ajuste de valores, análisis estadístico para la búsqueda de los valores teóricos y por último se distribuyen en alícuotas para ser congeladas y usadas cada día para el análisis conjunto con las muestras.

La ventaja de la preparación de éstos sueros redunda principalmente en su bajo costo, pero tiene la desventaja de que se contamina fácilmente, produciendo un deterioro o descomposición de los componentes, así como no se pueden utilizar para controlar todos los constituyentes de interés clínico.

b. Sueros Control liofilizados:

Tienen un proceso de preparación similar a los anteriores, pero por su liofilización posterior tienen la ventaja de poderse conservar por mucho más tiempo y tener una estabilidad mucho mayor. Puesto que en la reconstitución de los sueros control liofilizados se pueden introducir errores, se requiere seguir cuidadosamente los siguientes pasos:

- Tener en cuenta que el suero está en polvo y que dentro del frasco hay vacío.
- Se deberán destapar con cuidado y evitar que la tapa o parte del contenido vuelen por la presión.
- Utilizar para su reconstitución únicamente agua grado reactivo.
- Agregar la cantidad exacta de agua sin que la pipeta haga contacto con el suero. No soplar.
- Tapar el frasco, invertirlo suavemente y dejarlo en reposo aproximadamente media hora. No se debe agitar y evitar la formación de espuma.
- Después de la media hora se mezcla suavemente, quedando listo para su uso.

El suero control tendrá el mismo tratamiento que cualquier muestra problema y se debe correr junto con cada serie de muestras.

El resultado diario del suero control se registrará, para la posterior utilización y aplicación en los Programas de Garantía de Calidad.

6.2. Soluciones patrón:

Estas soluciones tienen valores absolutos de las concentraciones de los diferentes componentes. Pueden ser utilizados como patrones de calibración, es decir, como puntos fijos en la curva de calibración y en control de calidad son útiles como control de la exactitud.

Existen varios tipos de soluciones patrón:

a. Patrones acuosos (o primarios):

Tienen una concentración conocida de determinado componente pero tienen el inconveniente de tener sólo la sustancia química pura.

Estos patrones no se recomiendan para ser usados como un control de calidad rutinario, puesto que no se comportan de manera similar a las muestras.

b. Patrones acuosos más proteínas:

Son patrones acuosos a los cuales se les han agregado proteínas en cantidad equivalente a las del suero humano, pero aún así no alcanzan a tener una naturaleza igual a la del suero.

c. Patrones en suero:

Este tipo de patrones sirven para ser usados como patrones de calibración y sirven para el control de la exactitud. No se recomienda su uso como controles diarios de la precisión, ya que un deterioro o mal uso de éstos pasa inadvertido puesto que se emplea el mismo suero para su comprobación.

DESVIACION STANDARD

Determinación		Método	Reactivo	Suero Control	Determinación		Método	Reactivo	Suero Control
Fecha	n	x	$\bar{x} - x$	$(\bar{x} - x)^2$	Fecha	n	x	$\bar{x} - x$	$(\bar{x} - x)^2$
	1					1			
	2					2			
	3					3			
	4					4			
	5					5			
	6					6			
	7					7			
	8					8			
	9					9			
	10					10			
	11					11			
	12					12			
	13					13			
	14					14			
	15					15			
	16					16			
	17					17			
	18					18			
	19					19			
	20					20			
	21					21			
	22					22			
	23					23			
	24					24			
	25					25			
	26					26			
	27					27			
	28					28			
	29					29			
	30					30			

$\Sigma x =$

2 SD =

$\bar{x} =$

Cifras límite =

$\Sigma (\bar{x} - x)^2 =$

SD =

CV =

Equipo =

Firma =

Laboratorio =

$\Sigma x =$

2 SD =

$\bar{x} =$

Cifras límite =

$\Sigma (\bar{x} - x)^2 =$

SD =

CV =

Equipo =

Firma =

Laboratorio =

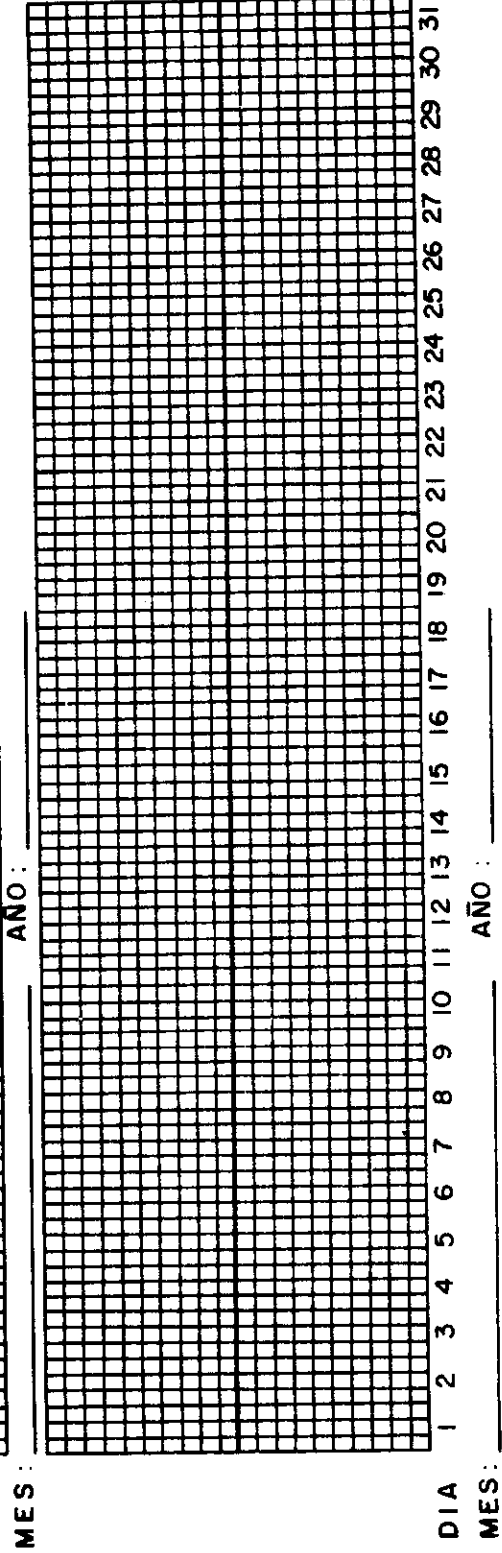
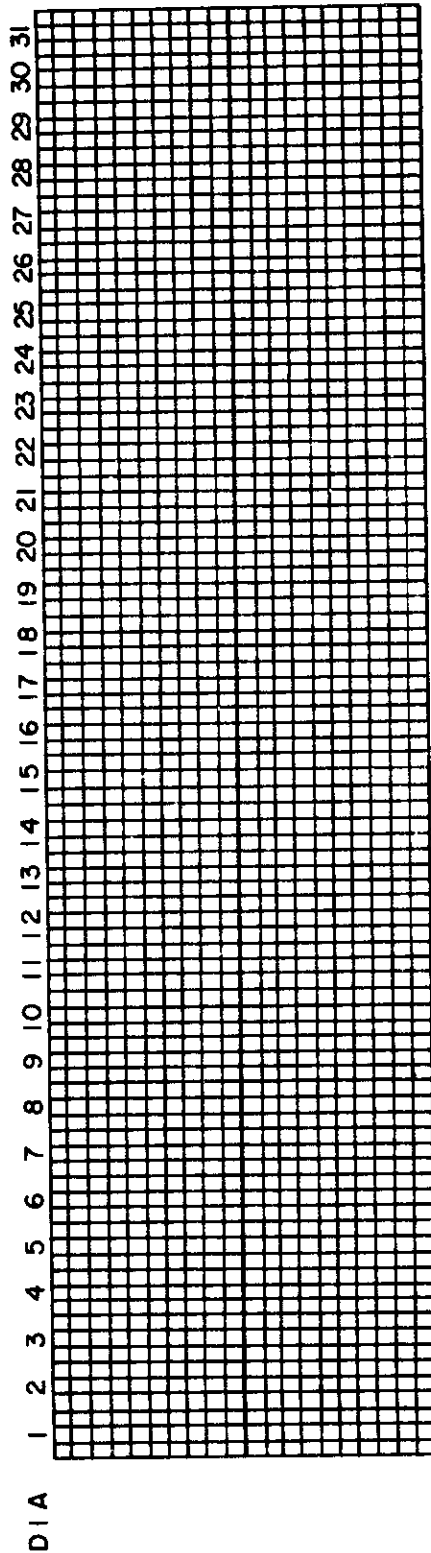
CONTROL DE LA EXACTITUD

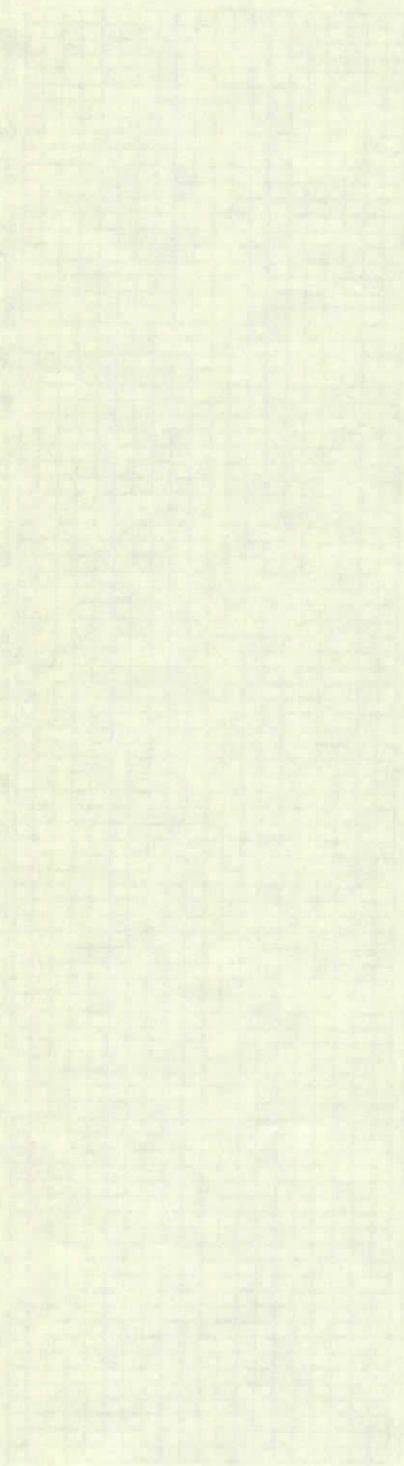
[illegible]

GRAFICA DE CONTROL DIARIO

LABORATORIO: _____ METODO: _____ SUERO CONTROL: _____

DETERMINACION: _____ REACTIVOS: _____ Nº DE LOTE: _____





DATE _____

NAME _____

CLASS _____

BIBLIOGRAFIA

- Dharan, Murali M.S., PhD. Control de Calidad en los Laboratorios Clínicos. Editorial Reverte, Barcelona. 1980.
- Davidsohn I., et al. Diagnóstico Clínico por el Laboratorio. 5a. Edición. Salvat Editores, Barcelona. 1972.
- Faulkner, W.R., et al. Selected Methods for the Small Clinical Chemistry Laboratory, American Association for Clinical Chemistry, Washington, D.C. 1982.
- Herrera, Nilo E. Control de Calidad en el Laboratorio Clínico. II Seminario Taller Internacional. Impreso en el Instituto Nacional de Salud, Bogotá. 1982.
- Henry, R.J., et al. Química Clínica. Bases y Técnicas. Editorial JIMS, Barcelona. 1980.
- Merino, Nohra., M.D. Instrumentación en el Laboratorio Clínico. Editado en la Universidad del Valle, Facultad de Medicina, Departamento de Patología. 1976.
- Organización Panamericana de la Salud. Manual de técnicas básicas para un laboratorio de salud. Publicación científica, No. 439. Serie Paltext. Washington, D.E. 1983.
- Richterich, R., Colombo, J.P. Química Clínica. Salvat Editores, Barcelona. 1983.
- Ruiz A.C., Manual de Laboratorio y Técnicas Analíticas. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Farmacia. Caracas. 1970.
- Tietz, Norbert W. Química Clínica Moderna. Primera Edición. Editorial Interamericana. México. 1972.
- Whitehead, T.P. PhD. Control de Calidad en Química Clínica. A. Wiley Medical Publication. Impreso en España. 1977.

EDITADO EN LA IMPRENTA
DEL INSTITUTO NACIONAL
DE SALUD — BOGOTÁ, D. E.

THE UNIVERSITY OF CHICAGO
LIBRARY OF THE DIVISION OF THE PHYSICAL SCIENCES
540 EAST 58TH STREET
CHICAGO, ILL. 60637

