



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

“ANÁLISIS DE LAS CONDICIONES MÍNIMAS DE LAS VALIDACIONES PARCIALES DE ANALITOS DE PRUEBA DE COLESTEROL UTILIZADA EN LAS PRUEBAS QUE SE REALIZAN EN EL LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS DE LA FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA”

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

PRESENTA

LUIS ANGEL NIEVES HERNÁNDEZ

ASESOR

MAESTRO EN CIENCIAS FÍSICAS GABINO ESTÉVEZ DELGADO

CO ASESORA

MAESTRO EN CIENCIAS EN LA EDUCACIÓN MARÍA REBECA TINOCO MARTÍNEZ

SINODALES

Q.F.B. OSCAR CASTRO HERNÁNDEZ

D.C. RAUL CORTÉS MARTÍNEZ

ING. JORGE PÁVEL VICTORIA TAFOYA

DICIEMBRE, 2013

MORELIA, MICHOACÁN, MÉXICO

AGRADECIMIENTOS

En primera instancia agradezco a dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en momentos de debilidad, por brindarme una vida llena de experiencias, aprendizaje y felicidad.

También, me gustaría que estas líneas sirvieran para expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que directa e indirectamente colaboraron en la realización del presente trabajo, de manera especial:

A mis padres Manuel Nieves Cordero y Nora Alicia Hernández Téllez, por su constante, invaluable e incondicional apoyo, por los valores y principios que me han inculcado, por haberme dado la mejor herencia que un hijo puede recibir que es la oportunidad de tener una formación académica.

A mis hermanos, Emmanuel, Paul Daniel y Alison, por su apoyo y compañerismo, son mi motivo para seguir adelante.

A mi tía Maricela Nieves Cordero, por los ánimos, la motivación, los consejos y las atenciones que me ha brindado a lo largo de mi carrera.

A mis abuelos, por todas sus atenciones y la sabiduría de sus consejos.

Un agradecimiento especial mi co-asesora y maestra María Rebeca Tinoco Martínez por haberme brindado la confianza y la oportunidad de formar parte de este gran proyecto, muchas gracias maestra.

A mi asesor Gabino Estévez Delgado por su paciencia, apoyo, orientación y conocimientos brindados, y quien además es pieza clave en la realización de este proyecto.

A la Q.F.B. Yazmín Cuevas Muñoz por su oportuna e invaluable colaboración, respaldo, apoyo y conocimientos, siendo parte esencial en el marco experimental de este proyecto.

A mis revisores, por sus valiosas aportaciones y tiempo dedicado a este trabajo de investigación.

A mis compañeros de tesis Dulce, América y Bruno, por su amistad y apoyo brindado a lo largo de esta investigación.

A todo el personal del laboratorio de análisis clínicos de la Facultad de Químico Farmacobiología.

Con mucho amor y cariño para toda mi familia

Y en memoria de mi querido tío

“Marco Hugo Hernández Téllez”

ABREVIATURAS

CENAM.- Centro Nacional de Metrología

ECV.- Enfermedades cardiovasculares

ECV.-Enfermedades cardiovasculares

EMA.- Entidad Mexicana de Acreditación

HDL.- Lipoproteína de alta densidad

IEC.- (International Electrotechnical Comisión), Comité Electrotécnico Internacional

ILAC.-Cooperación Internacional para la Acreditación de Laboratorios

ISA.- Federación Internacional de Asociaciones de Estandarización

ISO.- Organización Internacional para la Estandarización

ITU.- Unión Internacional de Telecomunicaciones

LDL.- Lipoproteína de baja densidad

OMS.- Organización Mundial de la Salud

OPS.- Organización Panamericana de la Salud

SCN.- Sistema Nacional de Calibración

SINALP.- Sistema Nacional para la Acreditación de Laboratorios de Prueba

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1.6.5 laboratorios de análisis clínicos acreditados por la EMA | 25 |
| Tabla 2. Preparación de las diluciones. | 57 |
| Tabla 3 Resultados de la concentración diluciones respectivas | 59 |
| Tabla 4 Validación del intervalo reportable | 60 |
| Tabla 5 Resultados intradia de los sueros control normal y patológico de colesterol..... | 61 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 2-1 Fuentes y aportes de colesterol y ácidos biliares (AB) en la circulación enterohepática. | 29 |
| Figura 2-2. Ruta de la síntesis de Colesterol..... | 31 |
| Figura 2-3 . Estructura de la molécula de colesterol..... | 32 |
| Figura 2-4. Tasa de mortalidad por enfermedad isquémica del corazón en el año 2006. | 34 |
| Figura 2-5. Tasa de mortalidad por enfermedad cerebrovascular en el año 2006. | 35 |

INDICE GENERAL

| | |
|---|---------------|
| CAPÍTULO I | 12 |
| 1 FUNDAMENTO DE LA INVESTIGACIÓN | 12 |
| 1.1 INTRODUCCION AL PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACION | 13 |
| 1.2 HIPOTESIS | 15 |
| 1.3 OBJETIVOS | 15 |
| 1.3.1 Objetivo general..... | 16 |
| 1.3.2 Objetivos específicos..... | 16 |
| 1.4 VARIABLES | 17 |
| 1.4.1 Variables dependientes | 17 |
| 1.4.2 Variables independientes | 17 |
| 1.5 DELIMITACIÓN DEL TEMA. | 17 |
| CAPÍTULO II | 18 |
| 2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA | 18 |
| 2.1 MARCO HISTORICO | 19 |
| 2.1.1 Antecedentes del colesterol..... | 19 |
| 2.1.2 Surgimiento y desarrollo de los laboratorios clínicos | 20 |
| 2.1.3 Surgimiento del control de calidad..... | 22 |
| 2.1.4 Inicios de la normalización..... | 22 |
| 2.1.5 Antecedentes de la acreditación de laboratorios. | 24 |
| 2.2 MARCO TEORICO. | 28 |
| 2.2.1 ¿Qué es el colesterol?..... | 28 |
| 2.2.2 Incidencia mundial y nacional de las enfermedades relacionadas a altos niveles de colesterol..... | 32 |
| 2.3 DETERMINACION DE COLESTEROL TOTAL EN SANGRE BASADO EN EL SISTEMA DE QUIMICA CLINICA DIMENSION® | 36 |
| 2.4 VALIDACIÓN DE METODOS ANALITICOS | 37 |
| 2.4.1 Objetivo de la validación..... | 37 |
| 2.4.2 ¿Por qué se debe validar? | 37 |
| 2.4.3 ¿Cuándo se valida?..... | 37 |
| 2.4.4 ¿Quién realiza la validación? | 38 |
| 2.4.5 Selección del método. | 39 |

| | | |
|---------------------------|--|-----------|
| 2.4.6 | Técnicas de validación. | 40 |
| 2.4.7 | Tipos de validación. | 41 |
| 2.4.8 | Desarrollo del proceso de validación. | 42 |
| 2.4.9 | Utilización de los datos de la validación para diseñar el control de calidad. | 44 |
| 2.4.10 | Documentación de métodos validados. | 45 |
| 2.5 | MARCO LEGAL. | 46 |
| 2.5.1 | Organismos internacionales de normalización. | 46 |
| 2.5.2 | NORMA ISO 15189:2007. | 50 |
| 2.5.3 | NORMA ISO 17025: Requisitos generales para la competencia técnica de los laboratorios de ensayo y calibración. | 51 |
| CAPITULO III. | | 53 |
| 3 | . METODOLOGIA DE LA VALIDACIÓN. | 53 |
| 3.1 | ASPECTOS GENERALES. | 54 |
| 3.2 | Materiales e instrumentos. | 54 |
| 3.3 | Reactivos. | 54 |
| 3.4 | Metodología. | 55 |
| 3.4.1 | Evaluación de la linealidad. | 55 |
| 3.4.2 | Evaluación de la precisión. | 57 |
| CAPITULO IV. | | 58 |
| 4 | ANÁLISIS Y RESULTADOS DE LA VALIDACION. | 58 |
| 4.1 | LINEALIDAD. | 59 |
| 4.2 | PRESICIÓN. | 61 |
| 4.2.1 | CRITERIO DE ACEPTABILIDAD. | 62 |
| 4.3 | VERACIDAD. | 63 |
| 4.3.1 | Valoración de un material de referencia certificado. | 63 |
| 4.3.2 | Sensibilidad analítica. | 66 |
| 4.4 | LÍMITE DE DETECCIÓN. | 67 |
| 5 | CONCLUSIONES Y TRABAJO A FUTURO. | 69 |
| 5.1 | CONCLUSIONES. | 70 |

| | | |
|------------|-------------------------------|-----------|
| 5.2 | TRABAJO A FUTURO | 71 |
| 6 | ANEXOS..... | 72 |
| 6.1 | ANEXO A..... | 73 |
| 6.2 | ANEXO B..... | 75 |
| 7 | GLOSARIO..... | 77 |
| | Bibliografía | 82 |

RESUMEN

Para cualquier laboratorio es de suma importancia contar con sistemas que demuestren que el resultado final es de calidad. Debido a esto, en los últimos años, ha tomado fuerza el concepto de “aseguramiento de la calidad” cuyo objeto es evidenciar que lo que se dice de “calidad” efectivamente así lo sea. Para desarrollar estos procesos se requiere la validación de los métodos utilizados, que es una herramienta que nos da la certeza de tener procesos más eficientes, por lo tanto, la validación es un procedimiento diseñado para establecer en forma documentada que un sistema, un equipo, un proceso de producción o una metodología analítica cumplen con los parámetros de calidad especificados. En el presente trabajo se describió y desarrolló el proceso de validación del método de determinación de colesterol total utilizado en el laboratorio de análisis clínicos de la facultad de Químico Farmacobiología, cuyo equipo de medición empleado para la cuantificación de las diluciones, es el Dimension® Clinical Chemistry System SIEMENS. Para llevar a cabo el desarrollo experimental de la validación, se determinaron los parámetros establecidos de acuerdo a lo indicado en la Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico emitida por la EMA y el CENAM. Se prepararon y cuantificaron 5 diluciones de calibradores liofilizados de colesterol de concentración alta y de concentración baja al 0%, 25%, 50%, 75% y 100%. Los criterios de aceptabilidad para los parámetros como la linealidad, precisión y veracidad nos indican que los resultados obtenidos para dichos parámetros están dentro de lo establecido, sin embargo los criterios por comparación con los datos del fabricante no se cumplieron ya que no los emite en los insertos.

Palabras clave: **validación, parámetros de validación, colesterol total, control de calidad, normalización.**

ABSTRACT

For any laboratory is of sum importance have systems that show that the final result is of quality. Because of this, in the last years, has taken forces the concept of "aseguramiento of the quality" whose object is evidenciar that what says of "quality" sure enough like this was it. To develop these processes requires the validation of the methods used, that is a tool that gives us the certainty to have processes more efficient, therefore, the validation is a procedure designed to establish in form documented that a system, a team, a process of production or an analytical methodology fulfil with the parameters of quality specified. In the present work described and developed the process of validation of the method of determination of total cholesterol used in the laboratory of clinical analyses of the faculty of Chemical Pharmacobiology, whose team of measurement employed for the cuantificación of the dilutions, is the Dimension® Clinical Chemistry System SIEMENS. To carry out the experimental development of the validation, sand determined the parameters established of agreement to indicates itdo in the Guide for the validation and the verificación of the procedures of examination cuantitativos employees by the clinical laboratory issued by the EMA and the CENAM. They prepared and quantified 5 dilutions of calibradores liofilizados of cholesterol of high concentration and of low concentration to 0%, 25%, 50%, 75% and 100%. The criteria of aceptabilidad for the parameters like the linealidad, accuracy and furthfullness indicate us that the results obtained for said parameters are inside the established, however the criteria by comparison with the data of the manufacturer did not fulfil since it does not issue them in the insertos.

Key words: validation, parameters of validation, total cholesterol, control of quality, normalization.

CAPÍTULO I

1 FUNDAMENTO DE LA INVESTIGACIÓN

*“Lo que sabemos es una gota,
lo que ignoramos un inmenso océano.
La admirable disposición y armonía del universo,
no ha podido sino salir del plan
de un Ser omnisciente y omnipotente”*

Isaac Newton

1.1 INTRODUCCION AL PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACION

En la actualidad, el colesterol es un tema popular de conversación, sin embargo existe poco conocimiento sobre el tema y algunas veces es erróneo. Los mensajes publicitarios han catalogado al colesterol como una sustancia nociva, al rebasar el intervalo biológico, advirtiendo que los niveles deben estar bajos.

El papel del colesterol en el organismo parece contradictorio, desempeña funciones estructurales formando parte de las membranas celulares y también desempeña un papel metabólico como intermediario de hormonas y precursor de la vitamina D vitales para el ser humano. Por otro lado, un incremento del nivel de colesterol en la sangre conlleva a la génesis de arterosclerosis cuya causa es subyacente de patologías como la hipercolesterolemia y enfermedades cardiovasculares (ECV).

Estudios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) coloca a las enfermedades cardiovasculares como la principal causa de muerte en todo el mundo rebasando la mortalidad ocasionada por enfermedades infecciosas y parasitarias.

En América Latina representan el 31% del total de las defunciones en esta región(1).

En México, las ECV han sido de las principales causas de defunciones en los últimos 30 años siendo la arterosclerosis coronaria la causa más frecuente de mortalidad por infarto agudo al miocardio(2).

La determinación de la concentración de colesterol total es una de las mediciones más frecuentemente realizadas en los laboratorios clínicos, por ello, es de suma importancia que los métodos analíticos que utilizan los laboratorios reflejen en el resultado el verdadero estado del paciente y de esta forma comprobar la confiabilidad de dichos resultados demostrando que los datos emitidos por estos métodos son confiables.

El concepto de calidad ha ido evolucionando, desde el deseo de hacer las cosas bien hasta plantearse como meta del laboratorio el cubrir las necesidades del cliente. El avance tecnológico y el desarrollo del concepto de calidad en la sociedad han producido en los laboratorios la obligación de adoptar un sistema que garantice la excelencia de los resultados. Por otro lado, los laboratorios clínicos han desarrollado sus metodologías, desde ser bastante complejas, manuales y con un resultado poco fiable hasta llegar a convertirse en procesos absolutamente automatizados respaldados con un sistema de información que les permite obtener un resultado confiable y en un periodo de tiempo corto lo que lleva a garantizar su competitividad.

El laboratorio de análisis clínicos desempeña un papel fundamental en el área de la salud, los resultados que emite orientan en la detección, pronóstico, confirmación del diagnóstico, control de la evolución, control del tratamiento y prevención de enfermedades en el paciente. Le proporciona al médico datos traducidos y concretos de las manifestaciones clínicas que presenta el paciente.

El implemento de un sistema que asegure el control de calidad es necesario en todos los laboratorios clínicos. Un mínimo error en la metodología puede desencadenar sucesos que concluyan con un resultado bastante alejado del verdadero. Los programas de control de calidad ayudan a detectar y a remediar fallas.

La normalización permite a muchos sectores implementar el sistema de calidad, uno de los parámetros implicados en dicha gestión es la validación de las metodologías, Los laboratorios deben de validar todos los métodos que utilicen, tanto los desarrollados por ellos mismos como los que proceden de fuentes bibliográficas o los desarrollados otros laboratorios esta actividad les permitirá evidenciar que sus resultados obtenidos son fiables(3).

El laboratorio de análisis clínicos de la facultad de Químico Farmacobiología inicio sus labores en el año de 1983, con la finalidad de brindar un servicio público

externo del área de enseñanza. En ese tiempo, el director de la facultad de medicina inicio un programa en el que se realizaba estudios biomédicos a alumnos egresados y de nuevo ingreso, programa en el que se incorporó la Facultad de QFB. Meses después, sin el apoyo de recursos por parte de la rectoría, el laboratorio empezó a dar servicio a alumnos de la Escuela Normal Superior de Morelia y a los alumnos de la UMSNH. Las pruebas que se realizaban eran: examen general de orina, biometría hemática, tipo sanguíneo, exámenes coproparasitoscópicos y pruebas de embarazo en orina, mismas que se realizaban mediante métodos manuales debido a que no contaba con equipo automatizado(4).

Los servicios que se brindaban a alumnos de nuevo ingreso y a los egresados como requisito de titulación aún siguen vigentes. En la actualidad, se pretende garantizar que los servicios brindados están respaldados por normas que avalan el seguimiento de un riguroso control de calidad y resultados fiables

1.2 HIPOTESIS

El método para determinar la concentración sérica y plasmática de colesterol total utilizado en el laboratorio de análisis clínicos de la Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, cumple con los requisitos de control de calidad que se requieren para su validación.

1.3 OBJETIVOS

Los objetivos nos ayudan a establecer una visión ya sea general y particular, son el inicio del camino y la finalidad de cualquier proceso.

1.3.1 Objetivo general

El avance tecnológico y el desarrollo del concepto de calidad en la sociedad han producido en los laboratorios la obligación de adoptar un sistema que garantice la excelencia de los resultados, y para poder evidenciar dicha excelencia, los procesos y métodos empleados tendrán que estar basados en las especificaciones descritas por organismos que verifiquen el control de calidad y que validen, certifiquen y acrediten el trabajo que se realiza.

El objetivo planteado es comprobar por medio de la validación que el método para determinar la concentración de colesterol total cumple con los parámetros necesarios garantizando resultados de absoluta fiabilidad.

1.3.2 Objetivos específicos

- Determinar los parámetros de validación especificados en la Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico emitida por el CENAM.
- Comprobar los parámetros obtenidos con los datos del proveedor.
- Obtener la capacidad técnica del analista para desarrollar el método

1.4 VARIABLES

1.4.1 Variables dependientes

- Calibración de los instrumentos de medición.
- Volumen de la muestra
- Equipo de química clínica
- Puntas para pipeta
- Temperatura
- Volumen del reactivo
- Calibradores

1.4.2 Variables independientes

- Puntas para pipetas
- Copas
- Técnicos

1.5 DELIMITACIÓN DEL TEMA.

El desarrollo del presente trabajo se realizó en el laboratorio de análisis clínicos de la facultad de Químico Farmacobiología, el origen del procedimiento se derivó de la necesidad de acreditar el sistema de calidad implementado, de esta manera, nuestro enfoque será particularmente sobre la validación de los procedimientos siendo un requisito establecido en el punto 5.5.2 de la norma ISO 15189:2007. Nos limitaremos a determinar los parámetros necesarios para validar el método de determinación de colesterol total.

CAPÍTULO II

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

*“Nunca consideres el estudio como una obligación,
sino como una oportunidad para penetrar
en el bello y maravilloso mundo del saber”.*

Albert Einstein

2.1 MARCO HISTÓRICO

Es importante resaltar el gran avance que han tenido los laboratorios la necesidad de iniciar una gestión de control de calidad clínicos a lo largo de los años en cuanto a sus metodologías desarrollo tecnológico, precisamente a continuación se revisaran algunos antecedentes de los laboratorios clínicos, como fue su evolución y la implementación necesaria de gestión de calidad.

2.1.1 Antecedentes del colesterol.

Era el año 1769 cuando un fisiólogo francés Poulletier de la Salle aisló una sustancia aceitosa de la vesícula biliar de cadáveres, este acontecimiento fue la primera evidencia, que comprobó la existencia del colesterol. Años más tarde, en 1824 el Químico francés Michel Eugene Chevreul, en 1824 redescubrió lo ya observado por de la Salle, separó de la bilis humana una sustancia que identificó como "similar a una grasa" y que llamó "colesterina" e identificó que esta grasa era el principal componente de los cálculos biliares ^{(5) (6)}.

Los químicos alemanes Konrad Emil Bloch y Feodor Lynen estudió se dedicaron a estudiar el proceso de síntesis de colesterol; concluyeron que el ácido acético es el predecesor de una serie de reacciones que conllevan al producto final que es el colesterol. John Cornforth, Químico Australiano, estableció la secuencia que lleva a formar uno de los intermediarios de la síntesis de colesterol: el ácido mevalónico. La comunidad científica aceptó la relación del colesterol con la formación de arteriosclerosis muchos años después. De acuerdo a la interpretación de patólogos e historiadores, en la época de los romanos, griegos y durante la edad media, las muertes que atribuían a envenenamiento resultaron ser por infarto. Sin embargo, esta enfermedad no llamó la atención de los científicos durante muchos años. (7)

Durante el siglo XIX cuando el mundo científico empezó por interesarse en la arteriosclerosis, los enfoques que se propusieron en esa época fueron las siguientes:

- La primera visión proponía que solo era un proceso de la vejez y no una enfermedad,
- En la segunda, Rudolf Virchow propuso que era una enfermedad originada por alguna alteración metabólica de las arterias,
- La tercera proponía que la arteriosclerosis el proceso de la arterioesclerosis crecía partiendo de coágulos adheridos a las arterias se transformándose gradualmente en placas ateroscleróticas típicas.

Estas tres teorías no fueron probadas experimentalmente. Hasta 1904 cuando F. Marchand, patólogo francés-alemán, introdujo la denominación de arteriosclerosis con el convencimiento de que la patología se inicia en el revestimiento interior de la arteria. Marchand diferenció esta lesión de cualquiera que comenzara en otras capas de la arteria. En 1910, un comunicado producido por el patólogo alemán A. Windaus difundía que las lesiones por ateromas contenían 6 veces más colesterol libre que una pared arterial normal y 20 veces más colesterol esterificado. Esta publicación fue la primera indicación de la relación del colesterol con la aterosclerosis.(6)

2.1.2 Surgimiento y desarrollo de los laboratorios clínicos

El surgimiento de los laboratorios clínicos se remonta desde hace más de 200 años principalmente en Francia e Inglaterra.

En el año 1803, el alemán Johann Christian Reil propuso incorporar pequeños laboratorios en los hospitales cuyo encargado sería el boticario donde desempeñaría la función de analizar excreciones y orina de los enfermos con objeto de investigar la naturaleza de las enfermedades(8).

En el siglo XIX se implementaron más métodos de análisis de la composición de fluidos biológicos con fines diagnósticos. El equipo de instrumentos disponible estaba compuesto por microscopios, lámparas, balanzas, etc. y la muestra preferida era la orina. Los reactivos eran sencillos, generalmente las reacciones producían un cambio de color(8).

En 1897 se realizaron las primeras medidas potenciométricas del pH sanguíneo con un electrodo de hidrógeno.

La interpretación de los resultados era una tarea muy difícil debido a que los conocimientos de patología humana y fisiología estaban menos desarrollados que los de química.

A principios del siglo XX se impuso el uso de la aguja hipodérmica para la obtención de muestra sanguínea.

El auge de los laboratorios analítico-clínicos surgió en 1940 con el desarrollo de la enzimología, la descripción de métodos de análisis publicados en revistas especializadas, la fundación de asociaciones de expertos en laboratorio clínico, el gran desarrollo de métodos de separación como la centrifugación, cromatografía y electroforesis.

La evaluación externa de la calidad tuvo origen en 1945 cuando en Philadelphia un grupo de expertos en laboratorio clínico se reunían cada mes para intercambiar muestras y evaluarlas independientemente, los resultados mostrados llamaron la atención de estos expertos y decidieron enviar muestras a todos los

laboratorios de Pennsylvania con el objeto de su análisis y envío de resultados anónimos.

Las gráficas de control de calidad se aplicaron por vez primera en el laboratorio clínico gracias a Levey y Jennings. La década de los años 50 fue de gran evolución y desarrollo para los laboratorios clínicos. Los reactivos utilizados en una metodología empezaron a comercializarse empaquetados, con instructivo y listos para usarse. En 1957 inició la era de la automatización, Leonard Skeggs describió el ensamblaje de varios módulos con tareas específicas que constituyó un sistema de flujo para determinar urea en suero(7).

2.1.3 Surgimiento del control de calidad.

A principio y fin de la segunda guerra mundial el elemento económico más importante del Reino Unido y de Estados Unidos fue el comercio militar. La necesidad de obtener consigo productos adecuados para sus determinados propósitos a un precio económico, tuvo impacto en el interés de los proveedores de entregar productos eficientes y de buena calidad. El control de calidad no se aplicaba al procedimiento sino solo a los productos terminados basándose en las características cualitativas y cuantitativas del producto, y con una posterior comparación de lo que requería el cliente. Años más tarde, la gestión de calidad fue extendida hacia cada una de las etapas de los procesos con el objeto de promover una mejora continua de la producción (9)(10)

2.1.4 Inicios de la normalización

La calidad que requerían los productos militares durante la segunda guerra mundial, provocó el inicio del desarrollo de una serie de normas que regulaban los requerimientos de compra. Dichos requisitos estaban respaldados por una estructura ya diseñada para la gestión de calidad, la meta era que el proceso total

fuera el adecuado y que los errores de producción se minimizaran, a todo esto se le sumaba una la aplicación de auditoria, solo así se aseguraba que las empresas cumplieran con los requisitos solicitados(9).

La estandarización internacional inicio aplicándose al campo de la electrónica a través de la IEC (Comisión Internacional Electronética). Los primeros trabajos realizados en el tema de estandarización en otros campos llevaron la creación de la Federación Internacional de Asociaciones de Estandarización (ISA) que inicio sus funciones en 1926 enfocándose en el campo de la ingeniería eléctrica pero debido a la segunda guerra mundial dejo de funcionar en 1942. Durante una reunión llevada a cabo en Londres en 1946, delegados de 25 países crearon una nueva organización mundial cuyo objetivo era facilitar la coordinación internacional y unificar los estándares industriales, esta nueva organización se fue conocida como *International OrganizationforStandardization(ISO)*. (11)

La ISO, inicio sus funciones el 23 de febrero de 1947 y emitió la primer norma en 1951 con el título de "*StandardReference temperaturefor industrial lenghtmeasurement*"(12).

Los problemas industriales surgidos a principios de los años 70 evidenció la necesidad de adoptar un sistema que normalizara la administración de la calidad. Algunas organizaciones adoptaron enfoques parecidos a las normas creadas por los militares. En 1979, las organizaciones que adoptaron estos tipos de normas se reunieron con la finalidad de revisarlas originando así la creación y publicación de la Norma BS 5750. En los siguientes años, organizaciones de alta importancia del Reino Unido alinearon sus sistemas con la Norma BS 5750, asegurando de esta manera, una base de auditorías y evaluaciones. El significado de este movimiento tuvo un gran impacto a nivel internacional lo que dio a lugar que en el año 1987 surgiera la publicación de las normas internacionales ISO 9000.(13)

2.1.5 Antecedentes de la acreditación de laboratorios.

La ILAC (*International Laboratory Accreditation Cooperation*) Cooperación Internacional para la Acreditación de Laboratorios se fundó en 1978 formalizándose como un organismo en 1996 cuando en Ámsterdam se reunieron representantes de 44 naciones para firmar un Memorandum de Entendimiento (MOU, *Memorandum of Understanding*) proporcionando las bases para ampliar la cooperación y establecer el reconocimiento multilateral entre integrantes de la ILAC. México, como miembro de la ILAC se vio en la necesidad de crear un sistema propio para la evaluación de la conformidad de los laboratorios: el Sistema Nacional para la Acreditación de Laboratorios de Prueba (SINALP), se fundó por decreto presidencial y fue publicado en el Diario Oficial de la Federación el 21 de abril de 1980. Años después, este organismo se reconoció como la única organización de acreditamiento de laboratorios de pruebas mediante la Ley Federal sobre Metrología y Normalización. Tiempo después, se estableció el Sistema Nacional de Calibración (SCN) que junto con el SINALP formaron la base del sistema mexicano de evaluación de la conformidad.(14)

Las reformas aplicadas a la Ley Federal sobre Metrología y Normalización el 20 de mayo de 1997 se creó la Entidad de Acreditación que trabajaría todo lo relacionado a la acreditación. En noviembre de 1998 surge la Entidad Mexicana de Acreditación (EMA) misma que fue evaluada por la Secretaría de Comercio y Fomento Industrial, y finalmente, el 15 de enero de 1999, la Entidad Mexicana de Acreditación quedó completamente autorizada para operar como entidad de acreditación.

En la actualidad, solo 30 laboratorios de la disciplina de química clínica han sido acreditados por esta entidad. (15)

Tabla 1.6.5 laboratorios de análisis clínicos acreditados por la EMA

| Nombre | Razón Social | Rama | Disciplina | Entidad Federativa |
|--|--|-------------|-------------------|---------------------------|
| Alba Guadalupe Cervera Gómez | Alba Guadalupe Cervera Gómez | Clínicos | Química Clínica | Baja California |
| Análisis DBS y Asociados S.C. | Análisis DBS y Asociados S.C. | Clínicos | Química Clínica | Sinaloa |
| Asesores Especializados en Laboratorios S.A. de C.V. | Asesores Especializados en Laboratorios S.A. de C.V. | Clínicos | Química Clínica | Puebla |
| BioDiagnostics Laboratorio Clínico, S.C. | BioDiagnostics Laboratorio Clínico, S.C. | Clínicos | Química clínica | Tlaxcala |
| Bioclínicos Fleming S.A de C.V. | Bioclínicos Fleming S.A de C.V. | Clínicos | Química clínica | Estado de México |
| Biomédica de Referencia, S.A. de C.V. | Biomédica de Referencia, S.A. de C.V. | Clínicos | Química Clínica | Distrito Federal |
| Gabinete de Radiología y Ultrasonido "Castillo", S.A. de C.V. | Gabinete de Radiología y Ultrasonido "Castillo", S.A. de C.V. | Clínicos | Química Clínica | Puebla |
| Gloria del Carmen Álvarez Valdez | Gloria del Carmen Álvarez Valdez | Clínicos | Química Clínica | Baja California |
| Grupo Diagnóstico Médico PROA, S.A. de C.V. | Grupo Diagnóstico Médico PROA, S.A. de C.V. | Clínicos | Química clínica | Distrito Federal |
| Grupo Diagnóstico Médico PROA, S.A de C.V., Carpermor Zona Occidente | Grupo Diagnóstico Médico PROA, S.A de C.V., Carpermor Zona Occidente | Clínicos | Química Clínica | Jalisco |
| Grupo Lambic, S.C., Laboratorio Nova | Grupo Lambic, S.C., Laboratorio Nova | Clínicos | Química Clínica | Baja California |
| Hospital y Clínica Oca, S.A. de C.V. | Hospital y Clínica Oca, S.A. de C.V. | Clínicos | Química clínica | Nuevo León |
| Instituto Nacional de Neurología y | Instituto Nacional de Neurología y | Clínicos | Química Clínica | Distrito Federal |

| | | | | |
|--|---|----------|-----------------|------------------|
| Neurocirugía "Manuel Velasco Suárez" | Neurocirugía "Manuel Velasco Suárez" | | | |
| Laboratorio BIOCLIN, S.A. de C.V. | Laboratorio BIOCLIN, S.A. de C.V. | Clínicos | Química Clínica | Guerrero |
| Laboratorio Clínico Profesional Reforma, S.A. de C.V. | Laboratorio Clínico Profesional Reforma, S.A. de C.V. | Clínicos | Química Clínica | Guanajuato |
| Laboratorio de Análisis Clínicos Florida Satélite, S.A. de C.V. | Laboratorio de Análisis Clínicos Florida Satélite, S.A. de C.V. | Clínicos | Química clínica | Estado de México |
| Laboratorio de Asesoría y Servicio Referido, S.A. de C.V. | Laboratorio de Asesoría y Servicio Referido, S.A. de C.V. | Clínicos | Química Clínica | Distrito Federal |
| Laboratorio Internacional de Análisis Clínicos S.A. de C.V. | Laboratorio Internacional de Análisis Clínicos S.A. de C.V. | Clínicos | Química Clínica | Chihuahua |
| Laboratorio LABSA, S.A. de C.V. | Laboratorio LABSA, S.A. de C.V. | Clínicos | Química clínica | Querétaro |
| Laboratorio Soni, S.A. de C.V. | Laboratorio Soni, S.A. de C.V. | Clínicos | Química Clínica | Veracruz |
| Laboratorio Soni, S.A. de C.V. Matriz Regional II, Tuxpan. | Laboratorio Soni, S.A. de C.V. Matriz Regional II, Tuxpan. | Clínicos | Química Clínica | Veracruz |
| LABSIN, S.C. | LABSIN, S.C. | Clínicos | Química clínica | Sinaloa |
| LANS Laboratorios de Referencia S.A. de C.V. | LANS Laboratorios de Referencia S.A. de C.V. | Clínicos | Química Clínica | Distrito Federal |
| Orthin Referencia Especializada S.A. de C.V. | Orthin Referencia Especializada S.A. de C.V. | Clínicos | Química Clínica | Distrito Federal |
| Salud Digna para Todos I.A.P. | Salud Digna para Todos I.A.P. | Clínicos | Química Clínica | Baja California |
| Unidad de Diagnóstico | Unidad de Diagnóstico | Clínicos | Química clínica | Guanajuato |

| | | | | |
|--|---|----------|-----------------|------------|
| Clínico, S.A. | Clínico, S.A. | | | |
| Unidad de Laboratorio del Centro, S.A. de C.V. | Unidad de Laboratorio del Centro, S.A. de C.V. | Clínicos | Química Clínica | Guanajuato |
| Unidad de Laboratorio del Centro, S.A. de C.V. Sucursal CEMC | Unidad de Laboratorio del Centro, S.A. de C.V. Sucursal CEMC | Clínicos | Química Clínica | Guanajuato |
| Unidad de Laboratorio del Centro S.A de C.V., Sucursal San José | Unidad de Laboratorio del Centro S.A de C.V., Sucursal San José | Clínicos | Química Clínica | Guanajuato |
| Universidad Autónoma de Nuevo León. Laboratorio de Hematología | Universidad Autónoma de Nuevo León. Laboratorio de Hematología | Clínicos | Química Clínica | Nuevo León |

2.2 MARCO TEORICO.

En la siguiente revisión se pretende explicar las características del colesterol, antecedentes, la tarea que juega en nuestro organismo así como también abordaremos en la relación del colesterol elevado con las enfermedades cardiovasculares su incidencia a nivel mundial y nacional. Adentraremos en el tema de validación y los parámetros necesarios para llevar a cabo el proceso.

2.2.1 ¿Qué es el colesterol?

El colesterol (del griego *kole*, “bilis” y *stereos*, “sólido”) es una molécula insípida e inodora que pertenece al grupo de los esteroides cuya clasificación asignada ha sido como lípidos o grasas lo que los hace insolubles en agua y solubles en compuestos orgánicos como éter, acetona y cloroformo. Esta insolubilidad que caracteriza al colesterol le impide distribuirse hacia los órganos, actividad que solo puede realizar asociándose a proteínas transportadoras de colesterol, triglicéridos y fosfolípidos(16).

Las 2 principales lipoproteínas transportadoras de colesterol son las siguientes: (17)

1. Lipoproteínas de baja densidad (LDL). También denominado como “colesterol malo”, tienen la finalidad de transportar el colesterol proveniente de la dieta hacia las células, niveles elevados de esta proteína da lugar a la acumulación de grasa (ateromas) en las paredes de las arterias que es el inicio de un desarrollo aterosclerótico.
2. Lipoproteínas de alta densidad (HDL). También denominado “colesterol bueno”, transportan el colesterol de las células hacia el hígado donde es eliminado del organismo

El colesterol total en la sangre corresponde a la suma del colesterol transportado en partículas de LDL, HDL y otras lipoproteínas.

2.2.1.1 Procedencia del colesterol.

El colesterol que dispone el organismo tiene dos orígenes, uno endógeno es mediante la síntesis de *novo* y el otro es exógeno, procedente de la dieta. De este modo, el colesterol absorbido en el intestino procede de distintas fuentes como la dieta, la bilis y la descamación intestinal. Aproximadamente, un 15 % de colesterol de la dieta se encuentra esterificado con un ácido graso y la enzima éster hidrolasa se encarga de liberarlo de la emulsión formada por triglicéridos y fosfolípidos mediante la digestión, así puede ser transportado mediante micelas formadas por ácidos biliares (AB) y fosfolípidos. Estas micelas han sido vertidas desde el hígado hasta el duodeno con función de detergente para la grasa contenida en la dieta.(18)(19)

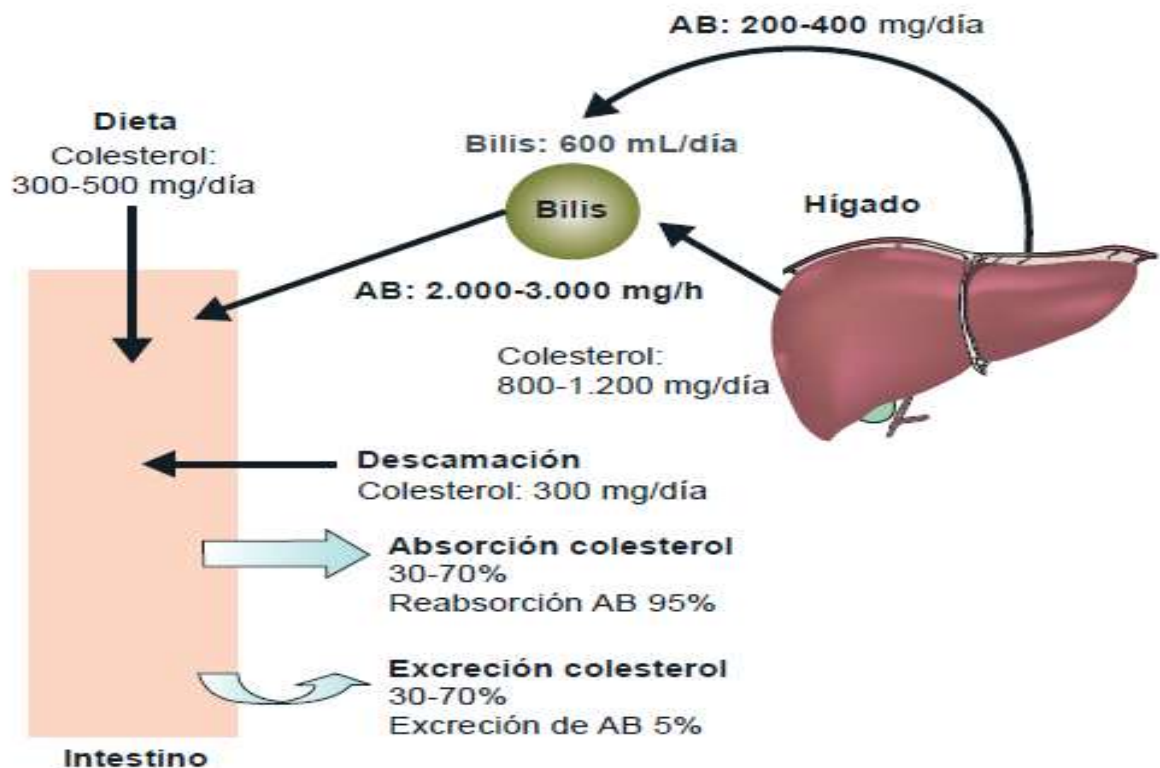


Figura 2-1 Fuentes y aportes de colesterol y ácidos biliares (AB) en la circulación enterohepática. (18)

2.2.1.2 Funciones del colesterol en el organismo.

El papel de esta biomolécula es formar parte de las membranas biológicas de las células eucariotas, es este sitio regula su fluidez y permeabilidad y consecuentemente su función. Más del 90% del colesterol se localiza en las membranas mientras que solo un 7% circula en la sangre.(18)

Otro papel importante del colesterol en el organismo es como intermediario de la síntesis de biomoléculas tales como:

- La vitamina D. El organismo sintetiza esta biomolécula por medio de la luz ultravioleta o irradiación solar sobre el intermediario 7-deshidrocolesterol que está presente en la epidermis.
- Los ácidos biliares.
- Hormonas esteroideas como andrógenos, estrógenos, progestágenos, glucocorticoides. Se sintetizan a partir de la Acetil-CoA, en rutas parecidas a la síntesis de colesterol.(18)(20)

2.2.1.3 Síntesis.

De la biosíntesis del colesterol, un 10% se realiza en el hígado del colesterol, el hígado sintetiza aproximadamente el 10% y aproximadamente un 15% en el intestino. La síntesis se realiza en el citoplasma a partir del grupo acetato de dos carbonos de la Acetil-CoA.

La Acetil-CoA es producto de una oxidación (ácidos grasos o piruvato) en las mitocondrias y es transportada al citoplasma o también puede derivar de una oxidación del etanol producida en el citoplasma. Todas las reacciones de reducción de síntesis del colesterol utilizan NADHP como cofactor.

Los isoprenoides que intermedian la síntesis de colesterol pueden dirigirse a otras rutas de síntesis tal como para el dolicol o la cadena lateral del heme-a.(21)

El proceso de la síntesis de colesterol consta de 5 pasos:

1. La acetil-CoA se convierten en 3 hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA)
2. La HMG-CoA se convierte en mevalonato
3. El mevalonato se convierte en la molécula basada isopreno, el isopentenil pirofosfato (IPP), con la pérdida concomitante de CO₂
4. El IPP se convierte en escualeno
5. El escualeno se convierte en colesterol (22)

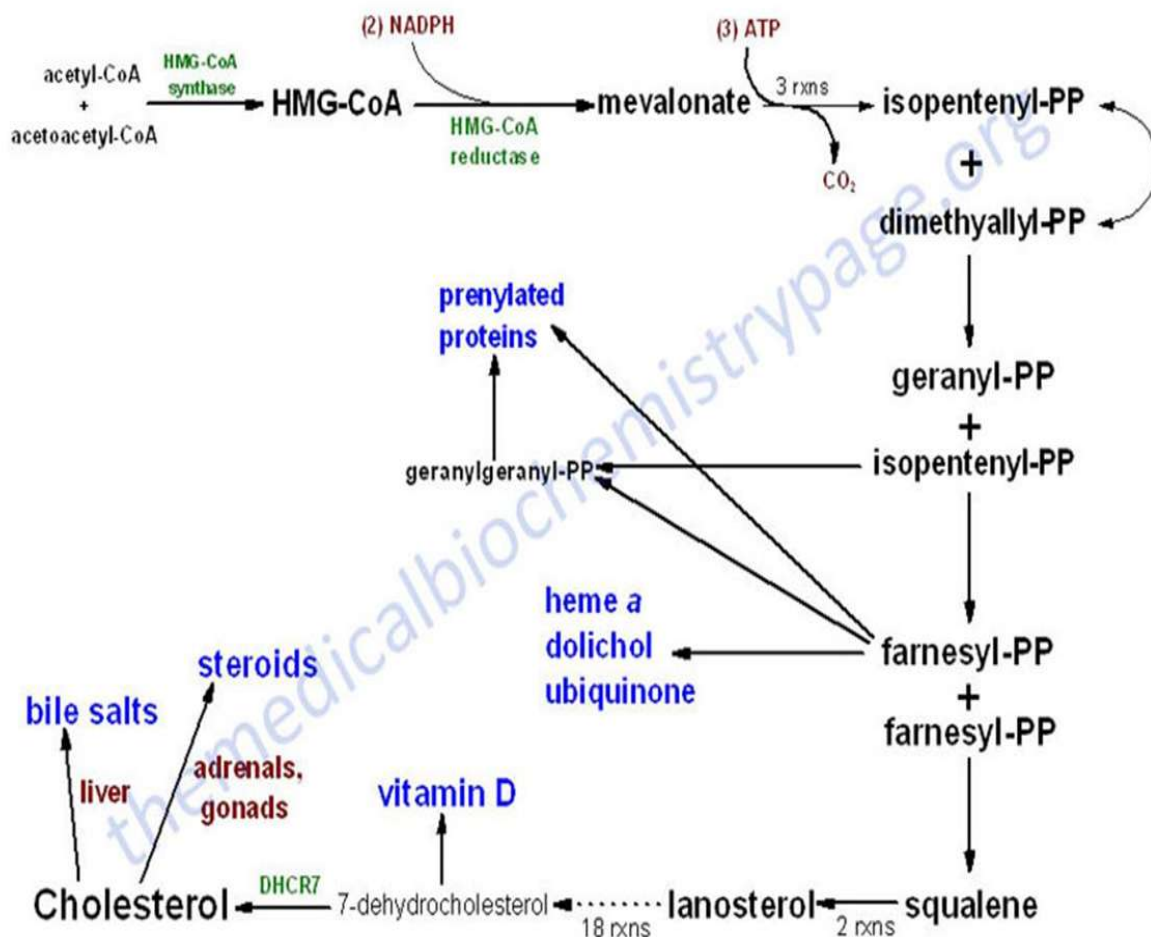


Figura 2-2. Ruta de la síntesis de Colesterol(22)

2.2.1.4 Estructura química.

El colesterol es un esteroide caracterizado por presentar un grupo hidroxilo, un doble enlace entre los carbonos 5 y 6 y una cadena lateral de 8 átomos de carbono unida en el carbono 17. El nombre químico del colesterol es 3 β -hidroxi-5,6-colesteno.

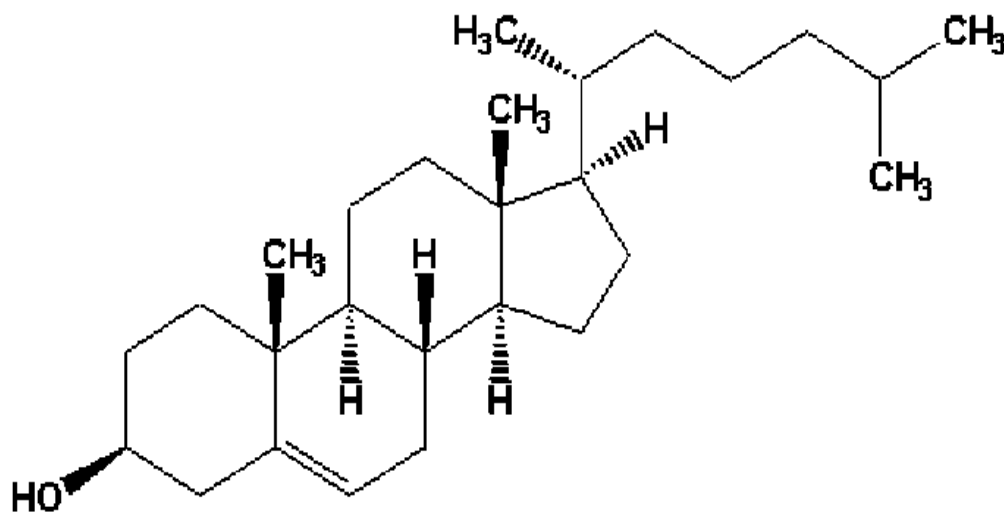


FIGURA 2-3 . Estructura de la molécula de colesterol

2.2.2 Incidencia mundial y nacional de las enfermedades relacionadas a altos niveles de colesterol.

Una elevada concentración de colesterol en la sangre puede tener consecuencias patológicas severas debido a que los niveles altos de colesterol en sangre favorecen la génesis de arteriosclerosis.

Las patologías más importantes vinculadas a niveles elevados de colesterol son las enfermedades cardiovasculares.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) las enfermedades cardiovasculares son(23):

- La cardiopatía coronaria
- Las enfermedades cerebrovasculares
- Las arteriopatías periféricas
- La cardiopatía reumática
- Las cardiopatías congénitas
- Las trombosis venosas profundas y embolias pulmonares.

La OMS coloca a las enfermedades cardiovasculares como la principal causa de mortalidad en todo el mundo rebasando la mortalidad ocasionada por enfermedades infecciosas y parasitarias.

En 2008 representaron el 30% del total de las muertes registradas en todo el mundo y de este porcentaje, más del 80% afecto a países de bajos y medianos ingresos y se calcula que para el año 2030 habrá aproximadamente 23 millones de decesos.⁽²⁴⁾⁽²⁵⁾

Las enfermedades cardiovasculares ocupan un lugar importante en la mortalidad y morbilidad en el continente americano. Estudios de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), indican que durante los próximos diez años se estima que ocurrirán aproximadamente 20.7 millones de defunciones por enfermedades cardiovasculares en América, de las cuales 2.4 pueden ser atribuidas a la hipertensión arterial, componente importante del riesgo cardiovascular. En el periodo del 2000 al 2007 las enfermedades cardiovasculares tuvieron una gran incidencia de mortalidad en la región de las Américas dominando las enfermedades isquémicas del corazón con un 43% de todas las muertes, seguido de las enfermedades cerebrovasculares y las hipertensivas con un 22% y 9% respectivamente.⁽²⁶⁾

En América Latina y el Caribe las Enfermedades Cardiovasculares ECV representan una tercera parte de todas las defunciones asociadas a enfermedades crónicas no transmisibles. Reconoce que la epidemia de estas

enfermedades avanza rápidamente en países desarrollados y en vías de desarrollo. En América Latina representan el 31% del total de las defunciones. Se pronostica que durante los próximos 10 años ocurrirán 20.7 millones de defunciones por enfermedades cardiovasculares ⁽²⁷⁾.

La mortalidad en el país a causa de estas enfermedades concentra las cifras más altas en los estados del norte y centro del país, en particular, la enfermedad isquémica del corazón registro tasas de 49.1 a 79.8 defunciones por cada 100 mil habitantes particularmente la enfermedad isquémica del corazón que durante 2006 registró tasas de 49.1 a 79.8 defunciones por 100 mil habitantes. (27)



Figura 2-4. Tasa de mortalidad por enfermedad isquémica del corazón en el año 2006. Fuente: INEGI/SS-DGIS. CONAPO, 2002. Proyecciones de la población de México 2000-2050. (16)



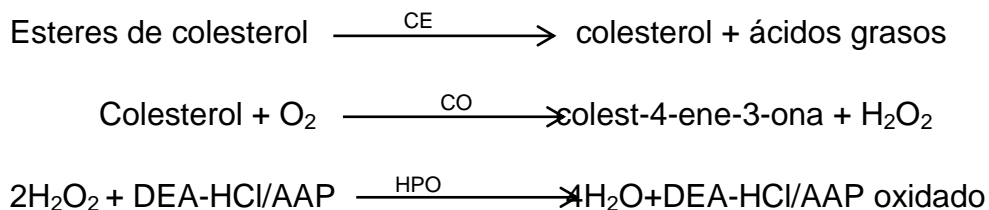
Figura 2-5. Tasa de mortalidad por enfermedad cerebrovascular en el año 2006. . Fuente: INEGI/SS-DGIS. CONAPO, 2002. Proyecciones de la población de México 2000-2050.(16)

Dada la situación epidemiológica del colesterol a nivel mundial, hoy en día, existen numerosas campañas que tienen por objeto el hacer conciencia en la población para controlar sus niveles de colesterol, de ahí, nuestra tarea es entregar resultados fiables, verdaderos, que le permitan al cliente tomar con confianza decisiones posteriores.

2.3 DETERMINACION DE COLESTEROL TOTAL EN SANGRE BASADO EN EL SISTEMA DE QUÍMICA CLÍNICA DIMENSION®.

Tanto el colesterol libre como el esterificado presente en la muestra originan, según las reacciones acopladas descritas a continuación, un complejo coloreado que se cuantifica por espectrofotometría.

El colesterol estearasa (CE) cataliza la hidrólisis de los ésteres de colesterol para producir colesterol libre que junto con el colesterol libre preexistente se oxida en una reacción catalizada por el colesterol oxidasa (CO) para formar colest-4-ene-3-ona y peróxido de hidrógeno. En presencia de la peroxidasa de rábano (HPO), el peróxido de hidrógeno formado se utiliza para oxidar N,Ndietilanilina-HCl/4-aminoantipirina (DEA-HCl/AAP) y producir un cromóforo que se absorbe a 540 nm. La absorbancia debida a la DEA-HCl/AAP oxidada es directamente proporcional a la concentración de colesterol total y se mide utilizando una técnica de punto final policromática (452, 540, 700 nm).



Los valores esperados para esta determinación son los siguientes:

Conveniente: <200 mg/dL

En el límite de nivel elevado: 200-239 mg/dL

Elevado: ≥240mg/dL

2.4 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

2.4.1 Objetivo de la validación

El objeto de validar un método es conocer las características y su error analítico para después compararlo con las especificaciones de calidad y así poder determinar si el método tiene la aptitud y características que se requieren para ser utilizado.

2.4.2 ¿Por qué se debe validar?

- La medición analítica tiene mucha importancia e influye en aspectos como el costo, salud, el ámbito legal etc.
- La norma NMX-EC-15189-IMNC-2008 pide que se validen los métodos.
- Por la tarea profesional del analista. El cliente espera que sus resultados sean fiables, por lo general, el analista es cuestionado cuando existe algún conflicto con el producto emitido; aquí la importancia del profesional en demostrar que la respuesta informada es la correcta. Debe determinarse el resultado correcto y debe haber capacidad para demostrar que es correcto.
- El cliente necesita tomar con confianza las decisiones basándose en los resultados que le fueron proporcionados (28)

2.4.3 ¿Cuándo se valida?

- Cuando se ocupa verificar que los parámetros de aptitud del método son adecuados para su propósito.
- Cuando se implementa o desarrolla un nuevo método.
- Cuando se realizan cambios en el método que pueden mejorarlo o hacerlo más deficiente.

- Cuando el control de calidad especifique que el método está cambiando con el tiempo
- Cuando un método ya establecido se utiliza en un laboratorio diferente, con analista diferente o con equipo instrumental diferente.
- Cuando se desean comparar 2 métodos.

2.4.4 ¿Quién realiza la validación?

El responsable de asegurar que el método ha sido validado adecuadamente es el laboratorio, si este utiliza un método normalizado que ya ha sido validado entonces solo necesitara establecer los datos de desempeño para la apropiada utilización del método.

Otro modo de realizar la validación es mediante un estudio de colaboración. Si el método que se está analizando tendrá un uso amplio. Tendrá que validarse mediante un estudio de colaboración entre varios laboratorios pero muchas veces no se puede ejecutar este tipo de procedimiento ya sea por el desinterés de los demás laboratorios o por la probable competencia de los que si están interesados. La ventaja de esta limitante es que la información de comparabilidad entre laboratorios no siempre es requerida, de lo contrario, se puede hacer el ensayo en otro lugar con materiales de referencia certificados para obtener los datos y así lograr la validación.(3)

La aceptación de los métodos validados por un solo laboratorio va a depender si cumplió con los lineamientos que cubren las recomendaciones del método de referencia. Debe evidenciar que se ha establecido:(3)

1. Los requisitos establecidos para las mediciones realizadas en el método.
2. Las formas del analito que ha sido medido
3. La identificación y cuantificación de las interferencias.
4. Las fuentes de error y los medios para su control.

El laboratorio que usa un método es responsable de asegurar que está adecuadamente validado. Si se usa un método normalizado validado, el usuario solamente necesita establecer los datos de aptitud para el uso propio del método haberse validado y verificar el desempeño acorde a las especificaciones del proceso de validación.

2.4.5 Selección del método.

El laboratorio utilizará los métodos que le sean convenientes de acuerdo a su propósito, estos métodos pueden ser:(29)

a) **Métodos normalizados.**

Aquellos que son desarrollados por una organización de normalización reconocida cuyos métodos son aceptados por el sector técnico correspondiente. Si este tipo de métodos es el que se adopta, entonces el laboratorio deberá asegurarse que sea el de la última edición, además implementará un sistema de evaluación hacia un probable cambio en las nuevas versiones del método, obteniendo datos que nos muestren las diferencias de equipo, formación del personal, y demás parámetros para su ejecución.

b) **Métodos no normalizados:** es un método que ha sido adaptado por el laboratorio a partir de otro que si esta normalizado.

c) **Método desarrollado por el laboratorio:** no se encuentra registrado en normas ni en publicaciones.

2.4.6 Técnicas de validación.

La norma NMX-17025 sugiere las siguientes técnicas para validar un método:(30)

1. Calibración usando patrones de referencia. El mejor punto de partida para llevar a cabo una validación es la utilización de patrones de referencia sin embargo, esta acción no define la validación, pero, si el resultado se compara con un patrón o material de referencia y hay concordancia entonces el objetivo se puede lograr.
2. Comparación de los resultados obtenidos con otros métodos. Si los resultados de dos o más métodos usando patrones de referencia coinciden, se demuestra que el principio teórico y desempeño individual son consistentes entre sí, garantizando la validez de los comparados que se han comparado.
3. Comparaciones entre laboratorios. Si los resultados de varios laboratorios coinciden, y que estos se obtuvieron mediante métodos diferentes utilizando patrones de referencia, se garantiza la validez, pero, si fueron datos de un método en común, la validez puede ser limitada.
4. Evaluación sistemática de los factores que influyen en los resultados. Si el método se desarrolla de manera incorrecta, puede tener errores sistemáticos que tienen consecuencia mayor que los factores de influencia evaluados, en este caso, la técnica limita la validación.
5. Evaluación de la incertidumbre de los resultados basándose en el conocimiento científico de los principios del método y experiencia de la práctica. La validación se respalda mediante esta técnica empleando argumentos científicos ampliamente descritos y desarrollados, análisis de resultados de experimentos, evaluaciones, caracterizaciones y, en general,

datos que permitan determinar la validez del método. La garantía que ofrece esta técnica resulta ser limitada, pues los posibles errores sistemáticos del método pueden no estar considerados en la evaluación de incertidumbre. Esta técnica no es exclusiva de laboratorios nacionales, pero requiere una profunda y exhaustiva documentación.

2.4.7 Tipos de validación.

Así como existen varias técnicas de validación, también veremos que existen 2 tipos de validación: (31)

- 1) **Validación parcial:** también se le conoce como prueba inicial de desempeño o confirmación del método, se realiza con el objeto de verificar que los métodos normalizados cumplen con las características de desempeño con las condiciones del laboratorio también se debe aplicar cuando se requiera hacer cualquier tipo de cambio en el método normalizado. Los parámetros que deben determinarse son los siguientes: Recuperación, Límite de detección, Límite de cuantificación, Intervalo lineal y de trabajo, Reproducibilidad, Repetibilidad, Sesgo, Incertidumbre
- 2) **Validación total:** se aplica cuando se desarrollan métodos no normalizados o que este haya sido modificado, los parámetros que se deben determinar son: recuperación, límite de detección, límite de cuantificación, Intervalo lineal y de trabajo, reproducibilidad, repetibilidad, sesgo, incertidumbre, sensibilidad, selectividad, robustez.

2.4.8 Desarrollo del proceso de validación.

Mediante el proceso del desarrollo de un método puede llegar el punto en el que se requiera adaptar otro existente para adecuarlo a la nueva aplicación. Por otro lado, implicaría al analista empezar desde cero aplicando su conocimiento y experiencia. Esto implica más trabajo y la duda de si el objetivo se va a cumplir.

2.4.8.1 Parámetros de validación.

Los parámetros de validación se consideran como las características que se le deben cuantificar al método, las cuales le indican el grado de calidad que presenta, por lo tanto necesitan evaluarse.(32)

Los parámetros de validación que se deben evaluar a son los siguientes:(32)(33)

- 1) **Linealidad.** Se considera como el tramo de concentraciones del analito en el que el resultado de la medición es una función lineal de la concentración. Se necesita evaluar los resultados máximo y mínimo que se pueden reportar.
- 2) **Precisión.** Al realizar la medición, se deben de obtener réplicas de los resultados para observar el grado de concordancia que tienen entre sí. La precisión se divide en dos parámetros repetitividad y reproducibilidad:
 - **Repetitividad.** Se conoce como la desviación estándar obtenida al analizar una misma muestra varias veces, en un periodo de tiempo corto, sin cambiar de equipo de medida, reactivos o analista.
 - **Reproducibilidad.** se define como la desviación estándar obtenida al analizar varias veces la muestra en días distintos, pudiendo variar

condiciones tales como el equipo, reactivos o analistas. Se habla de reproducibilidad interlaboratorio cuando las medidas se realizan en laboratorios distintos (ensayos de intercomparación). La reproducibilidad intralaboratorio se realiza en un solo laboratorio, preparando los patrones de calibración cada vez, en distintos días y cambiando en la medida de lo posible de equipo y analista. A esta reproducibilidad intralaboratorio se la conoce como precisión intermedia.

- **Veracidad.** Este parámetro se determina contra un valor verdadero o un valor convencional, estos valores son trazables a patrones internacionales.
- **Límite de detección.** Es una característica de las pruebas límite, estas pruebas comprueban si la cantidad del analito se encuentra por encima o por debajo del nivel establecido
- **Selectividad,** se refiere a la capacidad del método de determinar el analito sin la interferencia de impurezas
- **Sensibilidad analítica.** se refiere al cambio en la señal correspondiente a un cambio de concentración de analito. Para el intervalo lineal de un método, la sensibilidad corresponde a la pendiente de la recta de calibración, y es un parámetro objeto de seguimiento cuando se efectúan calibraciones rutinarias.
- **Intervalo de trabajo.** Se debe determinar el intervalo de concentraciones de analito dentro del cual se puede aplicar el método; esto se refiere a las concentraciones efectivamente medidas y no a las muestras originales. En el extremo inferior del intervalo de concentraciones el factor limitante es el valor del límite de detección; en el extremo superior el alcance depende de la respuesta del instrumento o de condiciones analíticas establecidas como óptimas. Dentro del intervalo de trabajo puede existir un rango de respuesta lineal (intervalo lineal); La evaluación del intervalo de trabajo y del intervalo

lineal permiten definir qué grado de calibración se requerirá al usar el método; en el intervalo lineal puede ser suficiente un punto de calibración para establecer la pendiente de la línea de calibración. En el resto del intervalo de trabajo será necesaria la calibración en múltiples puntos.

- **Especificidad analítica** Es la capacidad del método de evaluar inequívocamente al analito cuando se encuentra compartiendo un medio con factores que pueden intervenir en su medición.
- **Incertidumbre.** Es un parámetro, no negativo asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que pueden atribuirse razonablemente al mensurando.

Si el método ha sido validado bajo las condiciones de operación y pruebas extensivas, entonces se espera que el analista opere satisfactoriamente dentro del nivel existente, de ahí la importancia de verificar el desempeño del operador contra los requisitos de la especificación analítica.

2.4.9 Utilización de los datos de la validación para diseñar el control de calidad.

La validación de los métodos nos da una idea de los parámetros de desempeño y de las limitaciones que se pueden experimentar con el uso rutinario del método. Cuando el laboratorio utiliza el método, es necesario aplicar controles específicos para verificar que el método está actuando en la manera esperada. Durante la validación, el método se aplica a muestras de contenido y valor conocido, pero una vez que el método se aplica de forma rutinaria, este se utiliza para muestras de contenido desconocido permitiendo determinar el valor de la muestra que se está ensayando. Para poder decidir si la variedad de respuestas que se obtienen reflejan cambios inesperados o no deseados en el desempeño del

método, se deben analizar muestras de valor conocido que son las muestras de control de calidad.

2.4.10 Documentación de métodos validados

Una vez completado el proceso de validación, es muy importante documentar los procedimientos para que el método pueda ser claramente e inequívocamente implementado, esto por la razón de que en las diferentes valoraciones del método llevadas a cabo durante el proceso de validación, asumen que el uso del método será utilizado de igual manera cada vez, si esto no se aplica, entonces el verdadero desempeño del método no corresponderá al desempeño real predicho por los resultados de validación. La documentación debe limitar su alcance para que no sean introducidas variaciones accidentales al método. La documentación debe ser apropiada para propósitos de evaluación y auditorías.

Una documentación apropiada del método ayuda a asegurar que la aplicación de este en una ocasión sea consistente con la próxima, además, los métodos documentados forman una parte importante del sistema de gestión de calidad de un laboratorio y deben ser sujetos a los requisitos que se establecen para el control de la documentación del sistema de gestión de calidad del laboratorio, esto con el propósito de asegurar que los métodos y procedimientos que fueron aprobados como apropiados para el uso son utilizados correctamente.

2.5 MARCO LEGAL

La calidad de un producto se tiene que garantizar mediante el control del proceso de este, y asegurando que todos los que intervienen en su elaboración tengan la capacidad técnica prevista.

La normalización es una actividad colectiva que está encaminada a dar soluciones, en situaciones repetitivas provenientes del campo científico o técnico y consiste en la elaboración, difusión y aplicación de normas. La normalización abre el camino a un idioma técnico común entre las organizaciones, permitiendo así la racionalización de la producción, mediante el dominio de las características técnicas de los productos, la satisfacción de los clientes, la validación de los métodos de producción y el aumento de ganancias en torno a un importante rendimiento de los procesos.

Con lo anterior podemos resumir que el control de calidad de un laboratorio es el resultado de aplicar normas y criterios rigurosos, que verifiquen los resultados obtenidos.

2.5.1 Organismos internacionales de normalización.

Las organizaciones internacionales encargadas de la normalización son las siguientes:

2.5.1.1 IEC: (*International Electrotechnical Comisión*), *Comisión Internacional de Electrónica*.

Esta comisión ha publicado más de 500 normas internacionales, además, su “programa de país afiliado” está destinado a alentar a los países que no participan en la organización a adoptar las normas internacionales como normas nacionales también les brinda apoyo para ayudarlos a formar comités nacionales ya una vez que sean miembros de la organización(34).

2.5.1.2 ITU: (*International Telecommunications United*), Unión Internacional de Telecomunicaciones.

Fue fundada con principios de cooperación entre gobiernos y organismos privados. La organización se divide en grupos de estudio que están autorizados para desarrollar “recomendaciones ITU” con el estatus de las normas internacionales. Los sectores dentro de la organización son los siguientes:

- Radiocomunicaciones (ITU-R),
- Normalización de Telecomunicación (ITU-T)
- Desarrollo de Telecomunicación (ITU-D) (34)

2.5.1.3 ISO (*International Organization for Standardization*) Organización Internacional para la Estandarización

Es un organismo que se encarga de promover el desarrollo de normas internacionales de fabricación tanto de productos como de servicios, de comercio y comunicación para todas las áreas industriales excepto de la eléctrica y electrónica. Esta organización agrupa a más de 100 países, y su objetivo es fomentar el desarrollo de actividades de normalización a nivel mundial y facilitar el intercambio de servicios y bienes entre países, también pretende abrir una cooperación entre los campos científico, intelectual, técnico y económico(34):

La estructura de la ISO comprende los siguientes grupos:

- *Miembros Natos*. Son la representación unitaria de cada país
- *Miembros Correspondientes*: representan a los países en vías de desarrollo que no cuentan con un comité nacional de normalización.

- *Miembros Suscritos*: representan a los países cuya economía es reducida.

Estructura interna de la ISO.

- **Consejo Técnico**: Se encarga de la aprobación de proyectos de normas
- **Comités Técnicos ISO**: su tarea es estudiar las bases científicas de la normalización.
- **Subcomités Técnicos**: se conforman por cada uno de los países que son miembros de la organización, el papel de este comité es representar el punto de vista de fabricantes, vendedores, profesionales de la ingeniería, laboratorios de pruebas, gobiernos, servicios públicos, etc.

La creación y revisión de las normas internacionales es la función de los comités técnicos creados por el consejo técnico.(35)

ISO 9000: SISTEMAS DE GESTIÓN DE CALIDAD.

La aplicación de estas normas requiere de un sistema que este bien documentado que permita controlar los procesos utilizados para el desarrollo y fabricación de productos. El fundamento de este sistema se enfoca a los elementos que todo sistema debe tener controlado con la finalidad de garantizar que los productos se fabriquen en la forma y tiempo adecuado. Existen 3 grandes apartados:(36)(35)

- **ISO 9000:2000**, Sistemas de Gestión de Calidad: Principios y vocabulario.
- **ISO 9001:2000**, que trata sobre los requisitos de los Sistemas de Gestión de Calidad, y las
- **ISO 9004:2000**, que se refieren a recomendaciones para llevar a cabo las mejoras de calidad.

NORMAS ISO 14000: GESTIÓN AMBIENTAL.

Este grupo de normas se enfoca a la gestión ambiental de las organizaciones, el objetivo es promover la estandarización de formas de producción que protejan al medio ambiente, haciendo mínimos los daños que le puedan causar las actividades organizacionales.

Los estándares promotores de las ISO 14000 se diseñaron para promover un modelo eficaz de Sistemas de Gestión de Calidad (SGA), facilitar el desarrollo comercial, y económico mediante un lenguaje común de protección al medio ambiente. el SGA cumple y mantiene un gerenciamiento ambiental efectivo, identificando políticas, procedimientos y recursos, conllevando a la evaluación rutinaria de impacto ambiental. Los estándares referentes al tema ambiental está compuesta por las siguientes normas.(37)

1. **ISO 14000:** Guía a la gerencia en los principios ambientales, sistemas y técnicas que se utilizan.
2. **ISO 14001:** Sistema de Gestión Ambiental. Especificaciones para el uso.
3. **ISO 14010:** Principios generales de Auditoría Ambiental.
4. **ISO 14011:** Directrices y procedimientos para las auditorías.
5. **ISO 14012:** Guías de consulta para la protección ambiental. Criterios de calificación para los auditores ambientales.
6. **ISO 14013/15:** Guías de consulta para la revisión ambiental. Programas de revisión, intervención y gravámenes.
7. **ISO 14020/23:** Etiquetado ambiental.

8. **ISO 14024:** Principios, prácticas y procedimientos de etiquetado ambiental.
9. **ISO 14031/32:** Guías de consulta para la evaluación de funcionamiento ambiental.
10. **ISO 14040/4:** Principios y prácticas generales del ciclo de vida del producto
11. **ISO 14050:** Glosario
12. **ISO 14060:** Guía para la inclusión de aspectos ambientales en los estándares de productos.

Las características de este conjunto de las normas es que son estándares voluntarios, sin obligación legal, se trata de documentación de procesos que ayudan a organizaciones privadas y gubernamentales a establecer y evaluar sus SGA, no proporcionan objetivos ambientales cuantitativos ni establecen límites en cuanto a emisión de contaminantes.

2.5.2 NORMA ISO 15189:2007

Esta norma internacional está basada en las normas ISO 9001 e ISO /IEC 17025. Estipula los procedimientos para una correcta gestión de los servicios que ofrece un laboratorio clínico, que abarcan desde la identificación y toma de muestras del paciente, transporte, almacenamiento, hasta el estudio de las muestras, comunicación y asesoramiento. Hace referencia hacia la seguridad y ética del servicio que se ofrece. En el estándar de la ISO 15189 se distinguen dos partes:

- 1) Requisitos de gestión, hace referencia a las necesidades para la certificación del sistema de gestión de calidad.

2) Requisitos técnicos, se refieren a los requisitos necesarios para el personal, procedimientos, equipos e infraestructura.

Esta norma les permite a los laboratorios de análisis clínicos desarrollar su sistema de gestión de calidad y la evaluación de su competencia técnica. Otros beneficios que ofrece esta norma son:

- Compromiso con el servicio que brinda el laboratorio y la confiabilidad de sus resultados.
- mejora de la imagen y la confianza a nivel internacional
- incremento de la productividad por las exigencias del cliente, mejora de las calibraciones y ensayos.

2.5.3 NORMA ISO 17025: Requisitos generales para la competencia técnica de los laboratorios de ensayo y calibración.

- NMX-EC-17025-IMNC:2006 (México).
- UNE-EN ISO/IEC 17025:2005
- IRAM 301:2005 (Argentina).
- NTC-ISO/IEC 17025:2005 (Colombia).
- NCh-ISO 17025 Of 2005 (Chile).

La Norma ISO-17025 Surgió como guía de referencia para los laboratorios que realizan actividades de calibración o ensayo que necesitan demostrar:

- **Que operan un sistema de gestión de la calidad eficaz y en mejora continua.** Laboratorio implementa un sistema de gestión de la calidad que

le permite administrar y utilizar la documentación del laboratorio, tanto de gestión como técnica

- **Que son técnicamente competentes.** Demuestra competencia técnica del personal, instalaciones y condiciones ambientales adecuadas, métodos validados, equipo y patrones confiables con trazabilidad a las unidades del Internacional de Unidades
- **Que son capaces de producir resultados de ensayo o calibración confiables,** implementan programas de aseguramiento de la calidad de sus resultados generar resultados técnicamente válidos.

Esta norma es una guía de referencia de las entidades acreditadoras, se utiliza a nivel mundial con el propósito de acreditación (38). Si se desea normalizar un proceso, es necesario evidenciar que este se realizó de acuerdo a lo establecido en la norma, por ello, se deben cumplir con cada punto especificado en una norma acerca de una validación.

CAPÍTULO III

3 . METODOLOGÍA DE LA VALIDACIÓN

*"Siempre que te pregunten si puedes hacer un trabajo,
contesta que sí y ponte enseñada
a aprender cómo se hace."*

Franklin Delano Roosevelt

3.1 ASPECTOS GENERALES.

Las metodologías son la pieza esencial de toda investigación, son una de las etapas específicas de un trabajo o proyecto que parte de una posición teórica y conlleva a una selección de técnicas concretas (o métodos) acerca del procedimiento para realizar las tareas vinculadas con la investigación, el trabajo o el proyecto.

El diseño experimental de la evaluación de los parámetros para la validación de colesterol fue basado en la guía CENAM/EMA “Guía para la validación y verificación de los Procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico”. En esta etapa se demuestra la efectividad y reproducibilidad del sistema.

3.2 Materiales e instrumentos.

- Equipo Dimension® ClinicalChemistrySystem SIEMENS
- Celdas para medición
- Contenedores para celdas
- 1 micropipeta calibrada de 100 µL
- 1 micropipeta calibrada de 1000 µL
- Puntas de plástico para micropipeta
- Balanza analítica
- Termómetro
- 1 Pipeta volumétrica de 1mL
- 1 Pipeta volumétrica de 5mL
- Microtubos

3.3 Reactivos

- Controles liofilizados DADE® Moni-Trol

- Reactivo para colesterol Flex® reagent cartridge CHOL
- Calibradores DIMENSION® CHOL CAL
- Agua gradoreactivo

El software Microsoft Excel 2010 se para crear la base de datos y realizar los cálculos requeridos.

3.4 Metodología.

El equipo DIMENSION® se utilizó para realizar la medición cuantitativa de las muestras. Antes de proceder con el método, el equipo debe estar calibrado, además, se le debe de aplicar las pruebas de mantenimiento diario que son las de agua y aire junto con la corrida de los sueros control.

Para un funcionamiento óptimo del sistema de química clínica DIMENSION® RxL Max™ se debe manejar bajo las siguientes condiciones:

- Temperatura: 5 °C a 40 °C
- Humedad: máximo 80% a 31 °C a 50% a 40°C
- Altitud: máximo 2000m
- Alimentación de red: 115±10% Vc.a, 50/60 hz
- Categoría de sobretensión: categoría II, conectado a un circuito derivado
- Grado de contaminación: grado 2, normal dentro de un laboratorio, el aire solo contiene contaminantes no conductores, con condensación ocasional

3.4.1 Evaluación de la linealidad.

Para la determinación de este parámetro utilizamos calibradores liofilizados de colesterol DIMENSION® ClinicalChemistrySystem, de concentraciones: baja 78mg/dL y de concentración alta 447mg/dL, con un número de lote: 2MD036.

Es muy importante seguir correctamente las instrucciones para la reconstitución de los calibradores ya que es el punto de partida para lograr resultados correctos. Las instrucciones para este procedimiento están indicadas en el inserto.

3.4.1.1 Reconstitución de los calibradores

1. Sacar los frascos del refrigerador y dejarlos reposar a temperatura ambiente (22-28 °C) durante 15 min.
2. Quitar el tapón y añadir volumétricamente 1.00 ±0.01 ml de agua purificada de dilución o agua de grado reactivo. El agua debe de estar a temperatura ambiente (22-28 °C)
3. Tapar de nuevo y dejar reposar durante 5min. No invertir los frascos.
4. Hacer girar suavemente los frascos durante 30 segundos y entonces invertir suavemente 10 veces.
5. Dejar reposar los frascos durante 10 minutos manteniendo su base plana apoyada sobre la mesa, a continuación, invertir 10 veces y agitar con suavidad.
6. Dejar reposar sobre la mesa durante otros 15 minutos. A continuación, invertir 10 veces y agitar con suavidad.
7. Usar inmediatamente o conservar a 2-8 °C (en este caso invertir 10 veces y agitar con suavidad antes de su empleo.

Una vez terminado el paso de la reconstitución de los calibradores, el método partió con la preparación de 5 disoluciones patrón en 5 niveles de concentración como lo marca el punto 7.1.1.2 de la guía emitida por la EMA y el CENAM. Estas diluciones se prepararon al 0%, 25%, 50%, 75% y 100%.

Tabla 2. **Preparación de las diluciones.** Tomado de la guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico

| Numero de dilución | Proporción en volumen de la muestra 1 | Proporción en volumen de la muestra 2 |
|---------------------------|--|--|
| 1 | Usar sin diluir | 0 |
| 2 | 3 | 1 |
| 3 | 2 | 2 |
| 4 | 1 | 3 |
| 5 | 0 | Usar sin diluir |

Nota

Muestra 1. (M1) concentración baja preferentemente cercana a cero

Muestra 2. (M2) concentración alta

El número de mediciones asignadas para cada una de las diluciones fue de 5 réplicas, cuantificadas por equipo DIMENSION® ClinicalChemistrySystem,

3.4.2 Evaluación de la precisión

Para la determinación de la precisión se llevó a cabo la medición de 2 sueros control, uno de nivel normal para cuantificar las concentraciones de colesterol, el tipo de examen fue intradía, en 24 horas se determinaron 20 veces la concentración del analito.

Con los datos obtenidos se creó una base de datos en la hoja de cálculo de Excel, estos datos se analizaron estadísticamente para generar el modelo de la validación del método de colesterol y también nos permitió generar un control de calidad interno para esta determinación

CAPITULO IV

4 ANALISIS Y RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN

*“Nuestra recompensa
se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado.
Un esfuerzo total es una victoria completa”.*

Mahatma Gandhi

4.1 LINEALIDAD

Se realizó una serie de mediciones de las diluciones mencionadas en la parte de la metodología, cada una de las diluciones porcentuales se cuantificó 5 veces y los resultados que determinó el equipo se muestran en la siguiente tabla:

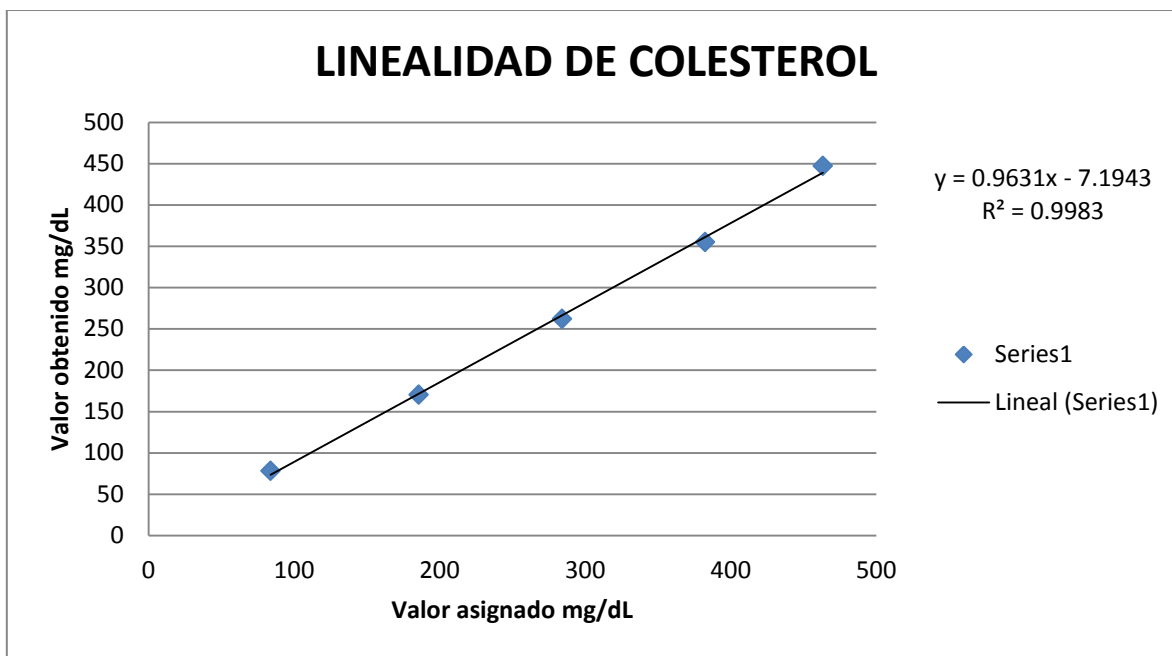
Tabla 3 Resultados de la concentración diluciones respectivas

| Numero de dilución | Resultados de la concentración de colesterol (mg/dL) | | | | | Media |
|--------------------|--|-----|-----|-----|-----|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| 1 | 461 | 462 | 469 | 464 | 461 | 463.4 |
| 2 | 382 | 381 | 381 | 385 | 384 | 382.6 |
| 3 | 286 | 283 | 284 | 284 | 284 | 284.2 |
| 4 | 188 | 186 | 186 | 184 | 184 | 185.6 |
| 5 | 82 | 83 | 84 | 85 | 84 | 83.8 |

Para obtener la recta de la linealidad se graficaron los datos del valor de las medias de los calibradores en el eje de las (Y) y los datos del valor teórico en el eje de las (X).

| VALOR TEORICO ASIGNADO A LOS CALIBRADORES (x) (mg/ dL) | VALOR DE LA MEDIA DE LOS CALIBRADORES (y) (mg/dL) |
|---|--|
| 83.8 | 78 |
| 185.6 | 170.25 |
| 284.2 | 262 |
| 382.6 | 354.75 |
| 463.4 | 447 |

Grafica de linealidad de analito de colesterol.



El valor del coeficiente de determinación fue de $R^2 = 0.9983$ lo que nos indica que en el intervalo evaluado, la función de calibración es lineal, pero este dato no es suficiente por lo cual se requiere obtener el porcentaje de error y la desviación. Estos datos requeridos se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 4 Validación del intervalo reportable

| Número de dilución | Media de los valores de concentración (y) | Valor teórico (x) | Sesgo (desviación) | %Error |
|--------------------|---|-------------------|--------------------|--------|
| 1 | 83.8 | 78 | 5.8 | 7.43 |
| 2 | 185.6 | 170.25 | 15.35 | 9.016 |
| 3 | 284.2 | 262 | 22.2 | 8.47 |
| 4 | 382.6 | 354.75 | 27.85 | 7.85 |
| 5 | 463.4 | 447 | 16.4 | 3.53 |

El fabricante no emite información del % de error, por lo tanto, el criterio de aceptabilidad de acuerdo a la comparación de los resultados obtenidos con los del fabricante se omite para la linealidad.

4.2 PRECISIÓN

Los resultados de las 20 determinaciones de colesterol en suero control durante 24 horas arrojados por el equipo se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 5 Resultados intradía de los sueros control normal y patológico de colesterol

| NUMERO DE LECTURA | CHOL (mg/ dL) BAJO | CHOL (mg/ dL) ALTO |
|-------------------|--------------------|--------------------|
| 1 | 82 | 179 |
| 2 | 81 | 182 |
| 3 | 82 | 181 |
| 4 | 80 | 182 |
| 5 | 81 | 185 |
| 6 | 82 | 182 |
| 7 | 80 | 178 |
| 8 | 79 | 179 |
| 9 | 82 | 181 |
| 10 | 80 | 183 |
| 11 | 80 | 181 |
| 12 | 80 | 181 |
| 13 | 80 | 182 |
| 14 | 79 | 183 |
| 15 | 80 | 182 |
| 16 | 80 | 184 |
| 17 | 81 | 186 |
| 18 | 81 | 184 |
| 19 | 81 | 186 |
| 20 | 81 | 187 |

Para poder aplicar el criterio de aceptabilidad, se determinó el porcentaje de coeficiente

| | CHOL SUERO CONTROL BAJO | CHOL SUERO CONTROL ALTO |
|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| MEDIA | 80.6 | 182.4 |
| DESVIACION ESTANDAR | 0.94 | 2.41 |
| % COEFICIENTE DE VARIACION | 1.16 | 1.32 |

4.2.1 CRITERIO DE ACEPTABILIDAD

4.2.1.1 ACORDE AL FABRICANTE

Según la Guía para la validación y verificación de los Procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico, nos menciona que la precisión obtenida debe de ser igual o menor a la precisión del método que proporciona el fabricante.

Para determinar el criterio de aceptabilidad de la precisión, el fabricante no realizó sus ensayos con los mismos sueros control con que nosotros realizamos el ensayo, por lo que no puede haber comparación debido a la diferencia del porcentaje del coeficiente de variación y de la media

4.2.1.2 ACORDE A CRITERIOS DEL CLIA (ClinicalLaboratoryImprovementAmendments)

El fabricante no reporta un error total permitido por lo tanto no se puede realizar una valoración de nuestros resultados.

4.3 VERACIDAD

Para poder determinar este parámetro, la Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico nos brinda las siguientes opciones:

4.3.1 Valoración de un material de referencia certificado

4.3.1.1 Valoración por el cálculo de error relativo

El cálculo del error relativo se determina con la obtención de la media aritmética, desviación estándar y coeficiente de variación de una muestra utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de error relativo} = \left[\frac{(\text{valor real} - \text{valor de la medición})}{\text{valor real}} \right] \times 100$$

El valor real de los sueros control utilizados en las mediciones son de:

- Control BAJO: 75.3 mg/dL
- Control ALTO: 192 mg/dL

El resultado de la media o valor de las diluciones realizadas fue de:

- Control BAJO: 80.6 mg/dL
- Control ALTO: 182.4

Sustituyendo los valores obtenidos tenemos:

Suero control BAJO

$$\% \text{ de error relativo} = \frac{(75.3 \text{ mg/dl} - 80.6 \text{ mg/dl})}{75.3 \text{ mg/dl}} \times 100$$

$$\% \text{ de error relativo} = -7.0385$$

Suero control ALTO

$$\% \text{ de error relativo} = \frac{(192 \frac{\text{mg}}{\text{dl}} - 182.4 \text{ mg/dl})}{192 \text{ mg/dl}} \times 100$$

$$\% \text{ de error relativo} = 5$$

El criterio de aceptabilidad nos dice que entre menor sea el porcentaje de error relativo, mayor será la veracidad del método, pero igual que en los parámetros anteriores, el fabricante no proporciona datos del porcentaje de error relativo por lo tanto, desconocemos si nuestro porcentaje obtenido es igual o menor que el porcentaje de error relativo establecido por el fabricante.

4.3.1.2 Valoración por el cálculo del porcentaje de recuperación.

La otra opción para verificar la veracidad es mediante la obtención de los valores esperados de los sueros control que se sometieron al ensayo.

Determinación del % de recuperación

$$\% \text{ de recuperacion} = \frac{\text{valor obtenido}}{\text{valor de referencia}} \times 100$$

Valor obtenido:

- Suero control BAJO

valor obtenido: 80.6 mg/dl

valor de referencia: 75.3 mg/dl

- suero control ALTO

Valor obtenido: 182.4mg/dl

Valor de referencia: 192 mg/dl

Sustituyendo los datos en la formula tenemos:

Suero control BAJO

$$\% \text{ de recuperacion} = \frac{80.6 \frac{\text{mg}}{\text{dl}}}{75.3 \frac{\text{mg}}{\text{dl}}} \times 100$$

$$\% \text{ de recuperacion} = \underline{107.038}$$

Suero control ALTO.

$$\% \text{ de recuperacion} = \frac{182.4 \frac{\text{mg}}{\text{dL}}}{192 \frac{\text{mg}}{\text{dL}}} \times 100$$

$$\% \text{ de recuperacion} = \underline{95}$$

El porcentaje obtenido fue cercano a 100 tal y como lo marca los criterios de aceptabilidad para este punto, se desconoce el porcentaje de recuperación del fabricante

4.3.2 Sensibilidad analítica

Para el cálculo de la sensibilidad analítica se requieren los datos de los resultados anteriores. Esta se calcula con la siguiente fórmula:

$$y = \frac{b}{S_m}$$

y = sensibilidad

b = pendiente obtenida desde la regresión lineal del analito.

S_m = desviación estándar de la muestra.

El resultado de la pendiente desde la regresión lineal del analito de colesterol es de: 0.9631

El valor de la desviación estándar fue de: 0.9199

Sustituyendo los datos en la fórmula:

$$y = \frac{0.9631}{0.9199}$$

$$y = \underline{1.046}$$

El valor del parámetro de sensibilidad analítica es de 1.046, lo cual nos indica que el método es sensible de detectar pequeñas variaciones de concentración del analito de colesterol.

4.4 LÍMITE DE DETECCIÓN

El límite de detección y cuantificación se calculó teóricamente utilizando el valor de la ordenada en el origen obtenida para la recta en el ensayo de la linealidad, se llevaron a cabo 5 mediciones de muestras blanco. Los resultados que se obtuvieron se muestran en la siguiente tabla.

| NUMERO DE MEDICION | RESULTADOS DE LAS MEDICIONES DE MUESTRAS BLANCO PARA COLESTEROL |
|---------------------|---|
| 1 | 10 |
| 2 | 10 |
| 3 | 10 |
| 4 | 10 |
| 5 | 10 |
| MEDIA | 10 |
| DESVIACION ESTANDAR | 0 |
| %CV | 0 |

para determinar el límite de detección se emplea la siguiente fórmula:

$$LD = \frac{Y_{bl} + 3 * S_{bl}}{b}$$

Y_{bl}= señal promedio del blanco

S_{bl}= desviación promedio del blanco

b= pendiente obtenida desde la regresión lineal del analito.

Sustituyendo los datos en la fórmula:

$$LD = \frac{10 + 3 * 0}{0}$$

$$LD = 0$$

El resultado para el límite de detección es de 0,

4.5 LIMITE DE CUANTIFICACION

Para determinar el parámetro de límite de cuantificación se utilizaron los mismos datos de las mediciones de los blancos que fueron utilizados para calcular el límite de detección

Fórmula para determinar el límite de cuantificación es:

$$LC = \frac{Y_{bl} + 10 * S_{bl}}{b}$$

Sustituyendo los datos tenemos:

$$LC = \frac{10 + 10 * 0}{0}$$

Por tanto:

$$LC = 0 \text{ mg/dl}$$

Este resultado nos indica la mínima cantidad de analito que puede determinarse en términos de precisión y exactitud, expresada en unidades de concentraciones.

CAPITULO V

5 CONCLUSIONES Y TRABAJO A FUTURO

*“La conclusión es que sabemos muy poco
y sin embargo es asombroso lo mucho que conocemos.
Y más asombroso todavía que un conocimiento tan pequeño
Pueda dar tanto poder”.*

Bertrand Arthur William Russell

5.1 CONCLUSIONES

La validación de un sistema analítico está centrada en controlar el funcionamiento combinado del método y el equipo en los procedimientos de análisis en los laboratorios clínicos. En el proceso de una validación analítica, son indispensables los datos que nos proporciona el fabricante, ya que sin ellos no se podría llevar a cabo un criterio de aceptación. Estos datos permiten comprobar que tan certeros y verídicos son los resultados emitidos por el equipo, así como también es importante el implemento de una guía de validación como es la “Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico” la cual nos indica los criterios de aceptabilidad que deben de manejarse.

Se llevó a cabo en el equipo SIEMENS Dimensión® RxL Max™ una serie de exámenes para ciertos parámetros de validación basados en la guía de validación, otorgando una serie de resultados que lamentablemente no pueden ser corroborados con los datos proporcionados por fabricante, no hay una correlación con datos ya establecidos ya que no se encuentra registro alguno, por tal motivo, no hay una sustentabilidad en los resultados, es recomendable implementar en el laboratorio de análisis clínico de la Facultad de químico Farmacobiología un nuevo equipo y que el fabricante proporcione información completa, verídica fundamentada, asegurando sus que los parámetros establecidos por el sean lo más completos posible.

5.2 TRABAJO A FUTURO

El objeto de este apartado es presentar algunas sugerencias sobre las tareas que de este trabajo pudieran derivar o complementar, para tener una investigación más completa y profundizada que beneficie en este sentido el trabajo de las validaciones de métodos analíticos en el laboratorio de análisis clínicos de la Facultad de Químico Farmacobiología.

A continuación se puntualizan algunas de estas sugerencias:

- Capacitarse en el área de la metrología y del control de calidad.
- Realizar la validación de métodos mediante las comparaciones interlaboratorios.
- Llevar a cabo la validación de este método pero bajo las condiciones de medición controladas de temperatura y humedad relativa, para verificar que tanto influyen estos factores en las mediciones.
- Llevar a cabo la validación de los demás métodos utilizados en el laboratorio, por ejemplo el método de uroanálisis.
- Contar con material y equipo debidamente calibrado.

6 ANEXOS

CARTAS CONTROL

Las cartas control son gráficos que nos permiten la evaluación rápida del comportamiento de cada uno de los componentes. Cualquier cambio en la disposición de los valores alrededor de la media (dispersión, tendencias, desplazamientos) será detectado fácilmente, de esta forma, se tomarán las medidas correspondientes para encontrar la causa de tal variación.

En cualquier proceso productivo resulta conveniente conocer en todo momento hasta qué punto los resultados cumplen con las especificaciones pre-establecidas. Podemos decir que la calidad de un producto tiene dos grandes “enemigos”:

1. Las desviaciones con respecto al objetivo especificado (falta de exactitud) y,
2. una excesiva variabilidad respecto a los valores deseables (falta de precisión).

La idea consiste en extraer muestras de un proceso productivo que se encuentra activo y, a partir de las mismas, generar gráficos que nos permitan tanto estudiar la variabilidad del mismo como comprobar si los resultados obtenidos cumplen o no con las especificaciones pre-establecidas. En caso de apreciar en tales gráficos tendencias no aleatorias o bien muestras que se sitúen más allá de los límites de control consideraremos que el proceso está fuera de control. Si así ocurre, estaremos interesados en averiguar las causas especiales que afectan al proceso.

En un gráfico de control se representa gráficamente una característica de calidad, medida o calculada a partir de muestras del producto, en función de las diferentes muestras. La gráfica tiene una línea central que simboliza el valor medio de la característica de calidad. Finalmente, otras dos líneas (los límites superior e

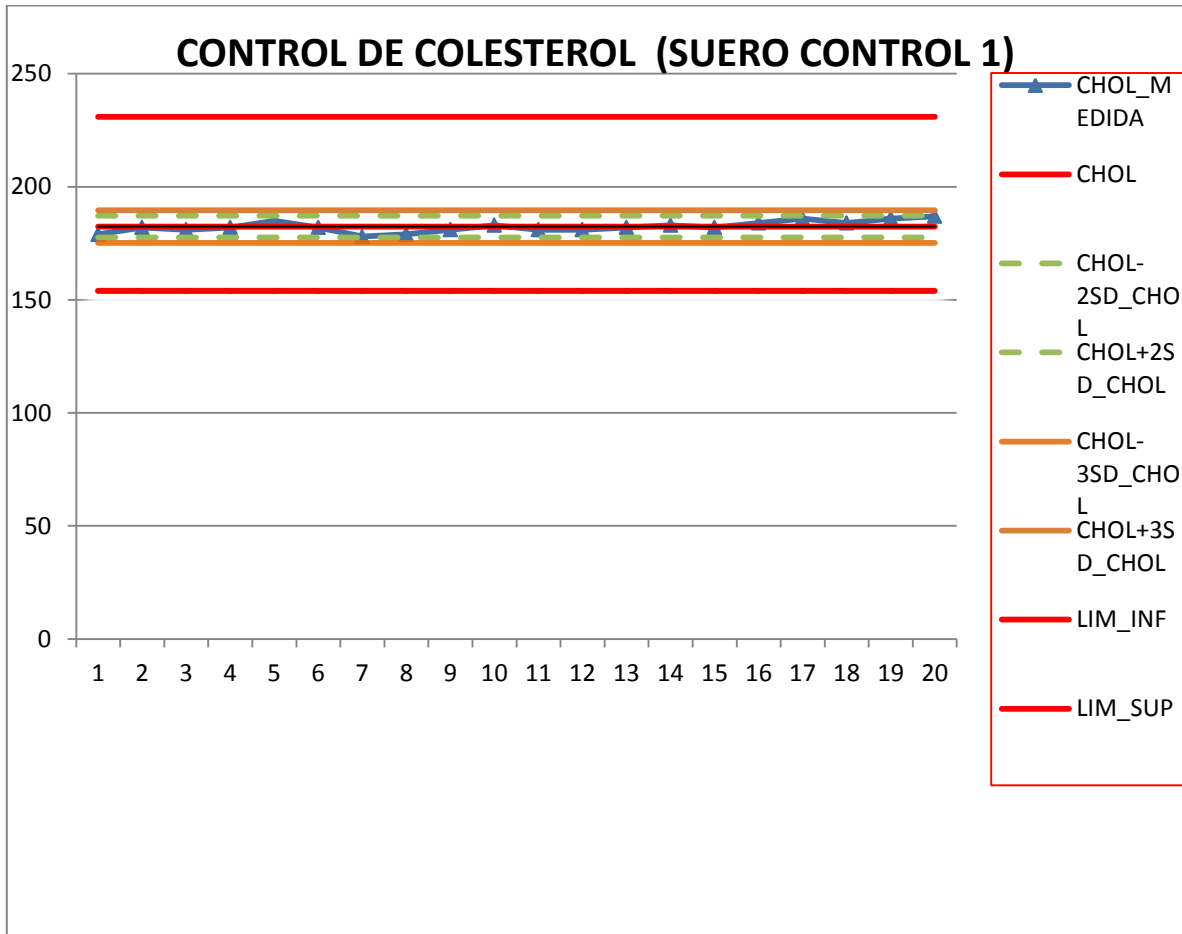
inferior de control) flanquean a la anterior a una distancia determinada. Estos límites son escogidos de manera que si el proceso está bajo control, casi la totalidad de los puntos muestrales se halle entre ellos. Así, un punto que se encuentra fuera de los límites de control se interpreta como una evidencia de que el proceso está fuera de control. Además, incluso si todos los puntos se hallan comprendidos entre los límites de control, pero se comportan de manera sistemática o no aleatoria, también tendríamos un proceso fuera de control.

6.1 ANEXO A

CARTA CONTROL DE COLESTEROL (SUERO CONTROL ALTO)

| CHOL_ME DIDA | CHOL | CHOL- 2SD_C HOL | CHOL+2SD_ CHOL | CHOL- 3SD_C HOL | CHOL+3SD_ CHOL | LIM_IN F | LIM_S UP |
|-----------------|-------|-----------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|-------------|-------------|
| 179 | 182.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 154 | 231 |
| 182 | 182.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 154 | 231 |
| 181 | 182.4 | 177.570 268 | 0 | 0 | 0 | 154 | 231 |
| 182 | 182.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 154 | 231 |
| 185 | 182.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 154 | 231 |
| 182 | 182.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 154 | 231 |
| 178 | 182.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 154 | 231 |
| 179 | 182.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 154 | 231 |
| 181 | 182.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 154 | 231 |
| 183 | 182.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 154 | 231 |
| 181 | 182.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 154 | 231 |
| 181 | 182.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 154 | 231 |
| 182 | 182.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 154 | 231 |
| 183 | 182.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 154 | 231 |
| 182 | 182.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 154 | 231 |
| 184 | 182.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 154 | 231 |

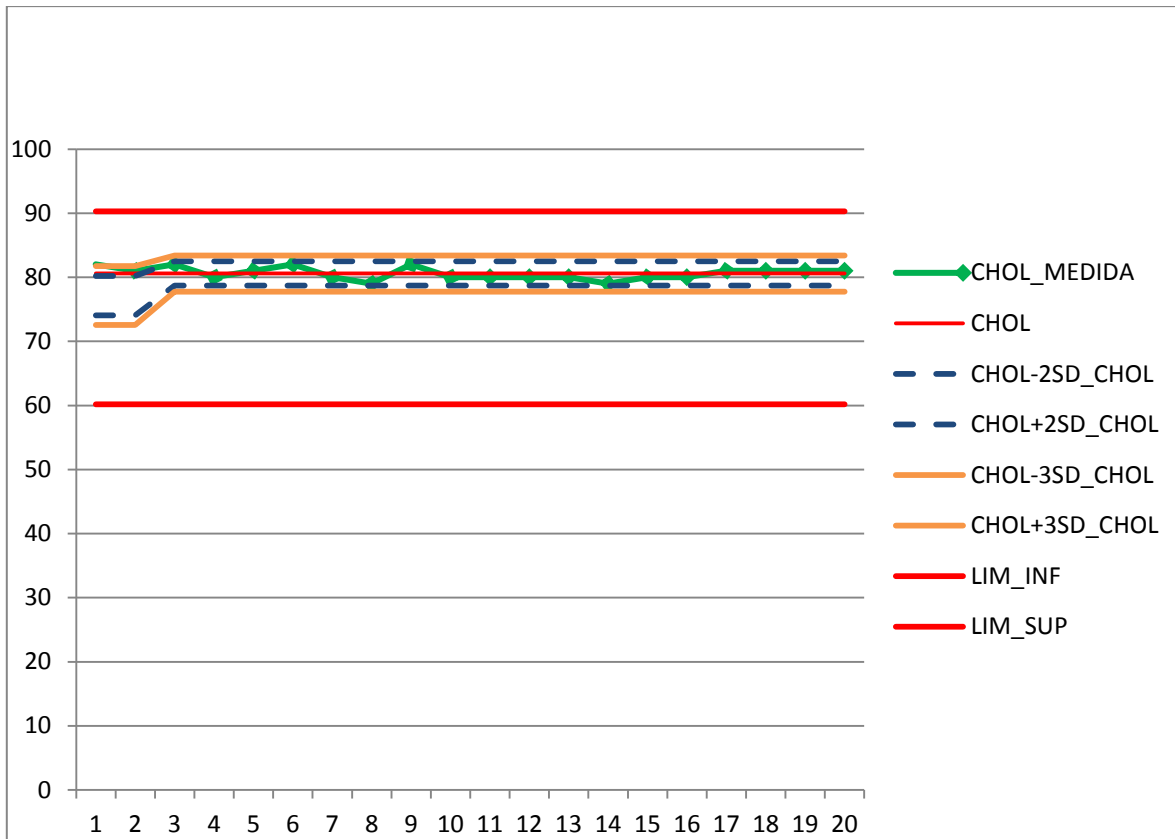
| | | | | | | | |
|-----|-------|---|---|---|---|-----|-----|
| 186 | 182.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 154 | 231 |
| 184 | 182.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 154 | 231 |
| 186 | 182.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 154 | 231 |
| 187 | 182.4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 154 | 231 |



6.2 ANEXO B

CARTA CONTROL DE COLESTEROL (SUERO CONTROL BAJO)

| NUMERO DE MEDICION | CHOL_ME DIDA | CHOL | CHOL-2SD_CH OL | CHOL+2SD_ CHOL | CHOL-3SD_CH OL | CHOL+3SD_ CHOL | LIM_INF | LIM_SUP |
|--------------------|--------------|------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------|---------|
| 1 | 82 | 80.6 | 74.0874933 | 80.2125067 | 72.5562399 | 81.7437601 | 60.2 | 90.3 |
| 2 | 81 | 80.6 | 74.0874933 | 80.2125067 | 72.5562399 | 81.7437601 | 60.2 | 90.3 |
| 3 | 82 | 80.6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60.2 | 90.3 |
| 4 | 80 | 80.6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60.2 | 90.3 |
| 5 | 81 | 80.6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60.2 | 90.3 |
| 6 | 82 | 80.6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60.2 | 90.3 |
| 7 | 80 | 80.6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60.2 | 90.3 |
| 8 | 79 | 80.6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60.2 | 90.3 |
| 9 | 82 | 80.6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60.2 | 90.3 |
| 10 | 80 | 80.6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60.2 | 90.3 |
| 11 | 80 | 80.6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60.2 | 90.3 |
| 12 | 80 | 80.6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60.2 | 90.3 |
| 13 | 80 | 80.6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60.2 | 90.3 |
| 14 | 79 | 80.6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60.2 | 90.3 |
| 15 | 80 | 80.6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60.2 | 90.3 |
| 16 | 80 | 80.6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60.2 | 90.3 |
| 17 | 81 | 80.6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60.2 | 90.3 |
| 18 | 81 | 80.6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60.2 | 90.3 |
| 19 | 81 | 80.6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60.2 | 90.3 |
| 20 | 81 | 80.6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60.2 | 90.3 |



7 GLOSARIO

Acreditación. Acto que da la seguridad y avala que los laboratorios de calibración y/o ensayo, y/o ensayo, unidades de verificación (organismos de inspección) y organismos de certificación ejecutan las regulaciones, normas o estándares correspondientes con precisión para que comprueben, verifiquen o certifiquen los productos y servicios que consume la sociedad

Adecuado para el propósito. Grado en el que los datos resultantes de un proceso de medición le permiten al usuario tomar decisiones técnica y administrativamente correctas para el propósito establecido

Analito. Especie de interés a determinar en un análisis

Arteriopatías periféricas. Enfermedades de los vasos sanguíneos que irrigan los miembros superiores e inferiores;

Cardiopatía periférica. Enfermedad de los vasos sanguíneos que irrigan el músculo cardíaco

Arteriosclerosis enfermedad que consiste en la acumulación de placa en las arterias. Esta placa está compuesta principalmente de grasa, colesterol y calcio. A medida que pasa el tiempo, las arterias se estrechan y disminuye el flujo de sangre y oxígeno a los órganos vitales del cuerpo. Esto puede producir problemas severos como infartos, embolias cerebrales (conocidos como accidentes cerebrovasculares) y hasta la muerte.

Calibración. Conjunto de operaciones que establecen, en condiciones especificadas, la relación entre los valores de las magnitudes indicadas por un instrumento de medición o un sistema de medición, o los valores representados por una medida materializada o un material de referencia, y los valores correspondientes de la magnitud realizada por los patrones.

Cardiopatía congénita malformaciones del corazón presentes desde el nacimiento;

Cardiopatía coronaria enfermedad de los vasos sanguíneos que irrigan el músculo cardíaco (miocardio);

Cardiopatía reumática lesiones del miocardio y de las válvulas cardíacas debidas a la fiebre reumática,

Colesterol. Esterol (lípidos) que se encuentra en los tejidos corporales y en el plasma sanguíneo de los vertebrados. Se presenta en altas concentraciones en el hígado, médula espinal, páncreas y cerebro. Pese a tener consecuencias perjudiciales en altas concentraciones, es esencial para crear la membrana plasmática que regula la entrada y salida de sustancias que atraviesan la célula.

Control de calidad. Sistema diseñado para incrementar la probabilidad de que cada resultado reportado por el laboratorio sea válido y pueda ser utilizado con confianza por el médico para tomar una decisión diagnóstica o terapéutica.

Corrida: Conjunto de muestras analizadas en forma continua, bajo las mismas condiciones experimentales

Parámetros de Desempeño. Características de validación que necesitan ser evaluadas y que típicamente corresponden a la siguiente lista: exactitud, precisión, especificidad, límite de detección, límite de Cuantificación, linealidad, intervalo de linealidad y robustez

Enfermedad cerebrovascular Enfermedad de los vasos sanguíneos que irrigan el cerebro;

Enfermedades cardiovasculares Término usado para referirse a todo tipo de enfermedades relacionadas con el corazón o los vasos sanguíneos, (arterias y venas). Este término describe cualquier enfermedad que afecte al sistema cardiovascular, es utilizado comúnmente para referirse a aquellos

relacionados con la arteriosclerosis(enfermedades en las arterias). Estas condiciones tienen causas, mecanismos, y tratamientos similares

Ensayos/prueba: Determinación de una o más características de acuerdo con un procedimiento

Hipercolesterolemia. Presencia de niveles elevados de colesterol en la sangre. No puede considerarse una patología sino un desajuste metabólico que puede ser secundario a muchas enfermedades y puede contribuir a muchas formas de enfermedad, especialmente cardiovascular. Está estrechamente vinculado a los términos hiperlipidemia (los niveles elevados de lípidos) y hiperlipoproteinemia (los niveles elevados de lipoproteínas).

Intervalo lineal Es la parte de la función de calibración en la que la señal obtenida para el analito responde “linealmente” a la concentración. Se verifica mediante la obtención de un coeficiente de correlación mayor o igual a 0,995.

Lipoproteínas. Partículas formadas por una fracción proteica denominada apolipoproteínas y una fracción lipídica, cuya función es la de solubilizar y transportar lípidos en el plasma.

Metodología Secuencia lógica de las operaciones, descritas de manera genérica, utilizada en la ejecución de las mediciones.

Medición: Conjunto de operaciones que tienen por finalidad determinar el valor de una muestra

Muestra blanco: Material que es similar en matriz y estado físico de preparación a las muestras que están siendo analizadas como muestras problema, pero que no contiene el analito nativo y que es usado con el propósito de dar seguimiento a diferentes aspectos del proceso analítico.

Muestra de control: Material de composición conocida usado con el propósito de dar seguimiento al proceso analítico, que debe ser similar a las muestras que están siendo analizadas como muestras problema, en cuanto a la matriz, y al estado físico de preparación y el intervalo de concentración del analito

Normalización. Proceso de elaborar, aplicar y mejorar las normas que se aplican a distintas actividades científicas, industriales o económicas con el fin de ordenarlas y mejorarla

Patrón de referencia. Patrón que posee la más alta calidad metrológica disponible a partir del cual se realizan las mediciones. Solo se puede hacer un análisis (y conocer la concentración real de un componente determinado) usando un estándar de referencia con una trazabilidad establecida. Los niveles más altos de estándares de referencia provienen de las agencias de estandarización

Recuperación La recuperación es el cociente entre la cantidad de analito medida y el contenido en la muestra. En el caso ideal, se obtiene un 100%. En mediciones experimentales puede perderse analito especialmente en el caso de tratamientos complejos de muestras con analito en cantidades traza, dando lugar a porcentajes de recuperación menores

Robustez. Capacidad de un procedimiento analítico de no ser afectado por pequeñas pero deliberadas variaciones en los parámetros del método, provee una indicación de su confiabilidad en condiciones de uso normales.

Sesgo/desviación: Error sistemático de un proceso de medición

Trombosis venosa. Coágulos de sangre (trombos) en las venas de las piernas, que pueden desprenderse (émbolos) y alojarse en los vasos del corazón y los pulmones.

Validación Confirmación mediante el suministro de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos del método para una utilización o aplicación específica prevista.

Verificación Confirmación mediante la aportación de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos especificados para un método. La verificación consiste en evaluar el desempeño del método para demostrar que cumple con los requisitos para el uso previsto, que fueron especificados como resultado de su validación.

Bibliografía

1. **Secretaría de Salud.** *Programa de acción: enfermedades cardiovasculares e hipertensión arterial.* [Documento] México, D.F. : s.n., 2001. ISBN 970-721-002-8.
2. *Comparación de niveles de colesterol en dos poblaciones: Arriaga, Chiapas y Chahuítes oaxaca.* **Ana Yancy Cruz- Zavala, Manuel de Jesús Oseki-Ramos, Paola Ramos- Aguilar, Yolanda Guadalupe Sosa-**. México : redalyc.org, 2007, Vol. 32. ISSN (Versión impresa): 0185-5751.
3. **Centro Nacional De Metrología.** *Guía de Laboratorio para la Validación de Métodos y Temas Relacionados.* ISBN: 0-948926-12-0.
4. **Gutiérrez, QFB Serafín Aguado.** *Laboratorio de análisis clínicos de servicio extrauniversitario.* Morelia, Mich., 28 de Junio de 2013.
5. *BREVE HISTORIA DE LA RELACIÓN ENTRE EL COLESTEROL Y LAS ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES. REVISTA CHILENA DE NUTRICION.* 2, SANTIAGO, CHILE : s.n., 2006, Vol. 33.
6. **Galvan, Edgardo Romero.** Desarrollo histórico de la arteriosclerosis hasta el ateroma. [En línea] [Citado el: 23 de Noviembre de 2013.] http://www.searteriosclerosis.org/resources/archivosbd/clinica_investigacion/71c1266e4c81236cf870ff833c8b5d48.pdf.
7. **Maria Alejandra Capeletti.** Sistema de garantía de calidad. [En línea] 8 de Junio de 2005. [Citado el: 16 de NOVIEMBRE de 2013.] http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/2798/mod_resource/content/0/8_Sistema_de_Garantia_de_Calidad_protegido_.pdf.
8. **QC Laboratory.** *Gestión de sistemas de calidad en el laboratorio de análisis clínicos.* [En línea] 5 de Abril de 2009. [Citado el: 23 de Noviembre de 2013.] http://deidaniagomez.blogspot.mx/2009_04_01_archive.html.
9. SECRETARÍA DE COMUNICACIONES Y TRANSPORTES. *SISTEMAS DE CALIDAD Y ACREDITACION APLICADOS A SERVICIOS DE PRUEBA.* [documento] Sanfadila Qro. : s.n., 2001. ISSN 0188-7297.
10. **Ramírez, José Cruz.** *Historia de la calidad.*
11. **ISO9001 Calidad para todos.com.** *Origen y fundación de la iso.* [En línea] 5 de Agosto de 2012. [Citado el: 23 de noviembre de 2013.] <http://iso9001calidadparatodos.com/origen-y-fundacion-de-la-iso.html>.
12. **Normas de cableado estructurado. ISO (International Standards Organization).** [En línea] [Citado el: 23 de Noviembre de 2013.] <http://redes-utp-007.blogspot.mx/2012/04/iso-international-standards.html>.

13. EVOLUCIÓN DE LAS ISO 9000. [En línea] [Citado el: 23 de Noviembre de 2013.] <http://johnnavas.galeon.com/productos907222.html>.
14. Andrés Hernández Guzmán, Manuel de Jesús Fabela Gallegos, Miguel Martínez Madrid. *SISTEMAS DE CALIDAD Y ACREDITACION APLICADOS A LABORATORIOS DE PRUEBA*. Sanfadila Qro. : s.n. ISSN 0188-7297.
15. Entidad Mexicana de Acreditación. Entidad Mexicana de Acreditación. [En línea] [Citado el: 26 de Noviembre de 2013.] http://200.57.73.228:75/Directorio_CL/Principal.aspx.
16. Octavio Maldonado Saavedra, José Arnold González Garrido, Guillermo Manuel Ceballos Reyes, Enrique Méndez Bolaina. *REVISTA DE DIVULGACION CIENTIFICA Y TECNOLOGICA DE LA UNIVERSIDAD VERACRUZANA. EL CONTROVERSIAL Y CONTRADICTORIO COLESTEROL*. [En línea] SEPTIEMBRE de 2011. [Citado el: 05 de NOVIEMBRE de 2013.] <http://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol24num3/articulos/colesterol/>.
17. TEXAS HEART INSTITUTE. CHOLESTEROL. [En línea] SEPTIEMBRE de 2013. [Citado el: 12 de NOVIEMBRE de 2013.] <http://texasheart.org/HIC/Topics/HSmart/choleste.cfm>.
18. *METABOLISMO DEL COLESTEROL: BASES ACTUALIZADAS*. Revista Española de obesidad. 6, España : s.n., 2009, Vol. 7.
19. Juárez-Muñoz, Irina Elizabeth, Anaya Flores, María Salomé y Mejía Arangure, Juan Manuel. *Niveles séricos de colesterol y lipoproteínas y frecuencia de hipercolesterolemia en un grupo de adolescentes de la ciudad de México*. México D.F. : s.n., 2006.
20. *Colesterol: Función biológica e implicaciones médicas*. Maldonado Saavedra, Octavio, y otros. 2, Distrito Federal, México : Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, 2012, Vol. 43. ISSN (Versión impresa): 1870-0195.
21. RENDÓN MARÍN, JULIANA MARCELA y OROZCO PINEDA, LINA MARCELA. *ESTANDARIZACIÓN Y VERIFICACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DE COLESTEROL EN*. [TESIS] PEREIRA, COLOMBIA : s.n., 2010.
22. W. King, Michael. the medical biochemistry page. *Metabolismo del colesterol*. [En línea] 13 de Febrero de 2013. [Citado el: 16 de Noviembre de 2013.] <http://themedicalbiochemistrypage.org/es/cholesterol-sp.php>.
23. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. *ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES*. [En línea] Marzo de 2013. [Citado el: 16 de noviembre de 2013.] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/index.html>.
24. WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Global status report on noncommunicable diseases 2010*. [documento] 2011. 978 92 4 068645 8.

25. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. *Global Atlas on cardiovascular disease prevention and control*. 2011.
26. Pan American Health Organization. *Día mundial de la salud 2013*. [En línea] [Citado el: 19 de NOVIEMBRE de 2013.] http://www.paho.org/hipertension/?page_id=298.
27. —. [En línea]
http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=13815&Itemid=
28. Brambila, Eduardo. *Validación y Verificación de Sistemas de Medición en el laboratorio clínico*. Puebla, Mexico : s.n.
29. Oficina de acreditación Guatemala C.A. *política de selección y validación de métodos de ensayo*. [En línea] 29 de Enero de 2007. [Citado el: 22 de noviembre de 2013.] oga.org.gt/images/files//File/OGA-GEC-016.pdf.
30. *PROPUESTA DE DOCUMENTACIÓN DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS PARA CUMPLIR CON LA NORMA ISO/IEC 17025:1999*. [En línea] <https://www.cenam.mx/dme/pdf/EXT-Propuesta%20de%20Documentaci%C3%B3n%20de%20Validaci%C3%B3n%20de%20M%C3%A9todos.pdf>.
31. ACREDITACIÓN, ENTIDAD MEXICANA DE. VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE MEDICIÓN. [En línea] <http://www.itescam.edu.mx/principal/sylabus/fpdb/recursos/r54791.PDF>.
32. Ente Costarricense de acreditación. *Política de validación de métodos*. 2012.
33. CENAM, EMA. *Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico*. MEXICO : s.n., 2008.
34. DEPOSITO DE DOCUMENTOS DE LA FAO. *Manual de Capacitación - Certificación de Calidad de los Alimentos Orientada a Sellos de Atributos de Valor en Países de América Latina*. [En línea] OFICINA REGIONAL PARA AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE, 2002. [Citado el: 23 de NOVIEMBRE de 2013.] <http://www.fao.org/docrep/004/ad094s/ad094s03.htm>.
35. ISO. ISO. [En línea] [Citado el: 27 de NOVIEMBRE de 2013.] <http://www.iso.org/iso/home/standards.htm>.
36. International Laboratory Accreditation Cooperation. *¿Acreditación de laboratorios o certificación ISO 9001?* 2011.
37. Monterroso, Elda. Normas ISO. [En línea] [Citado el: 21 de Noviembre de 2013.] <http://www.unlu.edu.ar/~ope20156/normasiso.htm>.
38. Ureña, Erick René Alvarado. *PRESENTACIÓN DE LA NORMA ISO-IEC 17025 (NMX-EC-17025)*. Mexico D.F. : s.n.

39. Pan American Health Organization. *Programa de accion especifico 2007-2012 riesgo vascular.*

[En línea]

[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=13815&Itemid](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=13815&Itemid=)
=.

40. Organizacion de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial. *Organismos Nacionales de Normalizacion en Paises de Desarrollo.* Ginebra, Suiza : s.n., 2010. ISBN 978-92-67-30477-9.