
TEMAS TRATADOS

- ✓ Control de sustancias potencialmente peligrosas para la salud
 - ✓ Seguridad en el laboratorio
 - ✓ Oficiales de seguridad
 - ✓ Manual de seguridad
 - ✓ Medidas de seguridad-precauciones universales
 - ✓ Equipos generales de laboratorio
 - ✓ Metrología
 - ✓ Evaluación y uso de coagulómetros
 - ✓ Reactivos
-

Control de sustancias potencialmente peligrosas para la salud: La norma EN ISO 15189 especifica los requisitos de calidad y competencia específicos de los laboratorios de análisis de biología médica. La norma ISO 15189 está pensada para ser utilizada en todas las disciplinas practicadas por los laboratorios médicos. Por lo tanto, su aplicación es fundamental para los laboratorios, ya que sus servicios deben satisfacer las necesidades tanto de los pacientes como de los clínicos responsables de la atención prestada a sus pacientes. Esos servicios incluyen los requisitos de procesamiento, la preparación e identificación de pacientes, y la recolección, transporte, almacenamiento, preprocesamiento y análisis de muestras, seguidos de la validación de los resultados, su interpretación, informes y asesoramiento, al tiempo que garantizan la seguridad del personal y el respeto por la ética.

Seguridad del laboratorio: Los laboratorios que manejan productos químicos y muestras biológicas son lugares potencialmente peligrosos. En los últimos años, se ha apreciado cada vez más la importancia de las prácticas de trabajo seguras en la industria, tanto por razones sanitarias como medioambientales. Esta concienciación ha llevado a un mayor énfasis en temas como la documentación de seguridad, la formación del personal y la evaluación de riesgos. Los empleadores tienen la responsabilidad de proporcionar la ropa y el equipo de protección necesarios, y están obligados a ofrecer capacitación sobre prácticas de trabajo seguras. La implementación de tales prácticas de trabajo seguro debería reducir en gran medida la probabilidad de lesiones graves para usted, sus colegas y miembros del público.

Oficiales de seguridad: Es importante nombrar un oficial u oficiales de seguridad para cada departamento. Estas personas asumirán las responsabilidades de introducir y mantener los procedimientos de seguridad. Sin embargo, la seguridad es responsabilidad de todo el personal del laboratorio.

Manual de seguridad: Debe haber un manual de seguridad integral que cubra todos los aspectos de las prácticas de trabajo seguras para todo el departamento. Todos los miembros del personal deben leer el manual y firmar una declaración para indicar que lo han comprendido. Las copias deben conservarse con los oficiales de seguridad y también estar disponibles en lugares que sean de fácil acceso para todos los miembros del personal, ya sea en forma impresa o, preferiblemente, en formato electrónico, para garantizar que la última versión esté disponible.

Medidas de seguridad-precauciones universales: El sistema de precauciones universales requiere que cualquier peligro de infección de cualquier fuente sea evitado o minimizado por buenas prácticas de trabajo. Se debe considerar que todas las muestras de sangre, los hemoderivados (incluidos los reactivos y kits a base de plasma) y otros materiales del cuerpo humano presentan un posible peligro de infección. Siempre se deben tomar las medidas de protección más completas posibles cuando se trabaja con cualquier material. No se debe hacer ninguna otra clasificación de riesgo. Todos los fluidos corporales

y materiales que no sean sangre, ya sea que se recojan o se introduzcan en la unidad para su análisis o cualquier otro propósito, deben manipularse con el mismo cuidado que se le da a la sangre.

El laboratorio: El laboratorio debe estar siempre limpio y ordenado. La documentación debe mantenerse separada de las áreas de pruebas de laboratorio. Trate de no usar el laboratorio para almacenar artículos a granel. Trate de asegurarse de que todos participen en mantener el laboratorio ordenado.

Vestimenta protectora: Todas las personas que ingresan al laboratorio, incluidos los visitantes, deben usar una bata de laboratorio. Deben reemplazar inmediatamente la bata si se contamina.

Guantes desechables: Aunque a muchas personas no les gusta usar guantes, se recomienda usar guantes desechables de látex o poliacrilamida, ya que cada muestra manipulada en el laboratorio es potencialmente peligrosa. Siempre se deben usar guantes cuando se manipula cualquier material tóxico. Obviamente, los guantes y las batas no protegerán contra un accidente por pinchazo con una aguja, pero evitarán, por ejemplo, que cualquier corte o abrasión en la piel entre en contacto con el suero o plasma VIH positivos. Es obligatorio reemplazar siempre los guantes de inmediato si están rotos o pinchados.

Lavado de ojos: Lávese los ojos inmediatamente con abundante agua corriente fría si pudo haberse producido contacto con un posible material infeccioso, ya que muchas infecciones pueden adquirirse fácilmente por contacto con las membranas mucosas de los ojos.

Objetos punzantes: Los objetos punzantes, en forma de agujas y cristales rotos, representan un gran peligro. Utilice un contenedor de seguridad capaz de contener objetos punzocortantes sin ser perforado. Ha habido casos de trabajadores que se han infectado como resultado de lesiones por pinchazos con agujas.

Aerosoles: Evite todas las prácticas en el laboratorio abierto que puedan causar salpicaduras o la diseminación por el aire de gotitas o polvo. Las operaciones que provoquen aerosoles deben realizarse siempre en una campana de gases adecuada, y se deben usar gafas de seguridad. Todos los derrames deben limpiarse de inmediato, usando lejía o un agente neutralizante según sea necesario.

Sustancias tóxicas e inflamables: Los materiales tóxicos o inflamables deben estar siempre contenidos dentro de una campana de gases o una caja fuerte adecuada.

Equipo eléctrico: Tenga especial cuidado con cualquier equipo que utilice líquidos, como tanques de electroforesis y baños de agua. Deje siempre la instalación, el servicio y las reparaciones a personal calificado.

Artículos personales y comportamiento: Nunca lleve artículos personales, como bolígrafos, bolsos y peines, al laboratorio. Evite que sus manos entren en contacto con su cara o mucosas (ojos, nariz y boca) mientras esté en el laboratorio, pero si debe hacerlo, lávese siempre las manos primero. Lávese siempre bien las manos antes de salir del laboratorio. Nunca se lleve una pipeta a la boca. Los alimentos, los cigarrillos y los cosméticos nunca deben introducirse en el laboratorio. Esto implica que se debe evitar comer, beber y fumar en el laboratorio.

Accidentes: Todos los accidentes deben ser reportados inmediatamente y deben ser registrados en una bitácora de accidentes llevada por el Oficial de Seguridad de la unidad. Esto es particularmente importante en relación con las lesiones por pinchazos con agujas. En estas situaciones, siga los sistemas que usan los hospitales locales para registrar e reportar, junto con cualquier acción recomendada u obligatoria localmente.

Control de Sustancias Potencialmente Peligrosas para la Salud: Los laboratorios deben cumplir con la regulación local, que a menudo emite una guía útil para identificar riesgos y peligros, como el Control de Sustancias Peligrosas para la Salud (COSHH) en los laboratorios del Reino Unido.

Peligro y riesgo: El peligro que presenta una sustancia es su potencial para causar daño. El riesgo de esa sustancia es la probabilidad de que dañe a alguien en las condiciones reales de uso.

Identificación de peligros: La identificación de peligros es un requisito previo esencial de la evaluación de riesgos. El tiempo dedicado a identificar los peligros variará según la sustancia.

Evaluación de riesgos: Considere los siguientes hechos:

- Peligros
- Condiciones de uso
- Cantidades a utilizar
- Rutas o sitios probables de exposición (inhalación, ingestión, piel u ojos)

El resultado de la evaluación de riesgos determinará:

- Condiciones de almacenamiento
- Procedimientos de manipulación
- Procedimientos de disposición
- Requisitos de seguimiento y vigilancia de la salud
- Procedimientos de emergencia

La evaluación de riesgos debe revisarse anualmente y actualizarse si es necesario. En la Tabla 1 se muestra un ejemplo de cómo registrar información para las evaluaciones de riesgos, utilizando el procedimiento COSHH que se usa en los laboratorios del Reino Unido. El propósito de dichos formularios es identificar los peligros y las medidas de control asociadas con el equipo utilizado en un procedimiento en particular. Solo el personal registrado como competente debe realizar cualquier procedimiento, y deben realizar ese procedimiento solo después de revisar la documentación de salud y seguridad relacionada con esa prueba en particular.

Tabla 1. Control de sustancias potencialmente peligrosas para la salud (COSHH) para el tiempo de protrombina y los ensayos de factor de coagulación (F) basados en TTPA

Ensayos COSHH No Ref.. 1		Referencia de laboratorio para ensayos de coagulación de una etapa para FII, FV, FVII, FVIII, FIX, FX, FXI y FXII
Título del Procedimiento/Experimento:		
Sustancia	Cantidad aproximada	Peligro identificado
Solución amortiguadora de glioxalina (imidazol), contiene (ver**)	<5 ml	Nocivo si se ingiere.
**Imidazol	3.4 g/l	Corrosivo: provoca quemaduras. Dañino si se inhala, ingiere o absorbe a través de la piel. Irritante para los ojos.
**Cloruro de sodio	5.85 g/l	Irritante para los ojos y los pulmones. Evite el contacto con la piel.
Plasma con deficiencia de factor	1 ml	Riesgo de infección
Tromboplastina	2 ml	Riesgo bajo
Reactivo TTPA	2 ml	Riesgo bajo
Cloruro de calcio 0.025M	5 ml	Riesgo bajo
Solución amortiguadora de Owren	<500 ml	Contiene barbitona. Nocivo si se ingiere. Puede causar sensibilización por contacto con la piel o inhalación.

Solución de lavado del analizador de coagulación 1	<50 ml	Provoca quemaduras: perjudiciales para los ojos, la piel, etc. No mezclar con otros desinfectantes. Corrosivo. El contacto con materiales combustibles puede provocar un incendio. El contacto con el ácido libera gases tóxicos. Reacciona violentamente con las sales de amonio; Disolvente orgánico - Riesgo de explosión.
Solución de lavado del analizador de coagulación 2	<50 ml	Contiene 0,16% de ácido clorhídrico y detergente. Irritante: puede dañar los ojos y la piel.
Estándar/control/ plasma del paciente	<1000 μ l	Riesgo de infección.

Equipo general de laboratorio: Cualquier laboratorio involucrado en el diagnóstico y seguimiento del tratamiento de los trastornos hemorrágicos que emplee algunas o todas las técnicas descritas en este manual requerirá un mínimo de equipo básico.

Equipo general: Los requisitos básicos del equipo son:

- 1) Refrigerador a 4°C para almacenamiento de reactivos. Normalmente, los reactivos deben mantenerse a 2-8 °C, a menos que el fabricante indique lo contrario. Una unidad de grado doméstico de buena calidad puede ser adecuada.
- 2) Un arcón congelador capaz de mantener al menos -20 °C (preferiblemente -35 °C). Una temperatura más baja, como -70 °C, es útil para un almacenamiento más prolongado, ya que los factores de coagulación son estables a esta temperatura durante al menos 6 meses. Los congeladores con un ciclo de descongelación automática son completamente inadecuados.
- 3) Baño(s) de agua regulado(s) capaces de mantener temperaturas de 37 \pm 0,5 °C. Normalmente, la temperatura se mantiene mejor en un baño maría que en bloques térmicos secos, que pueden o no ser adecuados, dependiendo de la unidad.
- 4) Un medidor de pH.
- 5) Una fuente de luz.
- 6) Cronómetro(s).
- 7) Pipetas automáticas calibradas capaces de suministrar con exactitud y precisión el volumen de muestra y reactivo en el rango de 0 μ l-200 μ l y hasta 1000 μ l. Es importante comprobar la precisión de estas pipetas con regularidad.
- 8) Una pipeta calibrada para la administración de volúmenes de líquido de hasta 5 ml.
- 9) Una centrífuga capaz de generar al menos 1700 g, y preferiblemente de 2200 a 2500 g. Para la mayoría de los análisis de coagulación, la centrifugación a temperatura ambiente (20-25 °C) es aceptable, aunque se recomienda la centrifugación a 4 °C en algunas técnicas.
- 10) Una báscula/balanza analítica calibrada capaz de medir con precisión gramos con tres decimales.

Se requiere equipo adicional para algunos procedimientos, que incluyen:

- 11) Un analizador de coagulación (coagulómetro).
- 12) Un lector de microplacas para ensayos de inmunoadsorción enzimática (ELISA).
- 13) Un agregador de plaquetas. Equipo especificado en hojas de método particulares.

El aire acondicionado en cada habitación es una gran ventaja en países donde las temperaturas son altas.

Debe haber un suministro adecuado de consumibles. Debe evitarse la reutilización de tubos de ensayo de laboratorio y puntas de pipeta después del lavado, ya que el material residual puede afectar los resultados negativamente, causando desperdicio de reactivos y tiempo. Lo mismo aplica a los tubos de recolección, que están diseñados para un solo uso y no deben reutilizarse incluso después de un lavado prolongado.

Metrología: Para ayudar a la gestión de la calidad, las calibraciones del volumen y la balanza de la pipeta deben comprobarse de forma regular, por ejemplo, cada 3-6 meses. Los aparatos que estén significativamente descalibrados deben retirarse inmediatamente de su uso hasta que se haya realizado la recalibración. Todas las pipetas deben llevar un identificador único.

Método para comprobar la calibración de la pipeta: Las pipetas pueden ser para un solo volumen, para dos o tres volúmenes, o tener un rango continuo de volúmenes.

- Las pipetas con uno o dos ajustes fijos se comprueban en cada ajuste.
- Las pipetas con tres ajustes fijos se comprueban en el ajuste mínimo y máximo.
- Pipetas con un rango continuo de ajustes de volumen: compruebe el ajuste máximo, así como un volumen de alrededor del 25% del ajuste máximo. Es decir:
 - Pipeta de 10 ml – 10 ml y 2,5 ml
 - Pipeta de 5 ml – 5 ml y 1,25 ml
 - Pipeta de 1 ml – 1 ml (1000 µl) y 0,25 ml (250 µl)
 - Pipeta de 0,2 ml – 0,2 ml (200 µl) y 0,05 ml (50 µl)
 - Pipeta de 0,1 ml – 0,1 ml (100 µl) y 0,025 ml (25 µl)
 - Pipeta de 50 l – 50 l y 15 µl

Verifique la calibración pesando cinco volúmenes repetidos de agua destilada (a temperatura ambiente) en una balanza. Cada peso se registra en gramos (con tres decimales). A efectos prácticos, 1.000 ml de agua destilada pesa 1.000 g.

Se deben registrar los resultados y las medidas adoptadas. Es preferible que las pipetas tengan una precisión significativamente inferior al 10% (consulte los ejemplos a continuación). Cuando se demuestre que una pipeta es inexacta porque el volumen medio pipeteado difiere en más de un 10% del volumen indicado, debe retirarse de uso inmediatamente y no utilizarse hasta que se vuelva a calibrar siguiendo las instrucciones del fabricante.

Nota: Si una pipeta es imprecisa más allá de los siguientes límites (peso medio), debe retirarse de uso inmediatamente.

Pipeta de 10 ml

10 ml: 9.000 – 11.000 g
2.5 ml: 2.250 – 2.750 g

Pipeta de 5 ml

5 ml: 4.500 – 5.500 g
1.25 ml: 1.125 – 1.375 g

Pipeta de 1 ml

1 ml: 0.900 – 1.100 g
0.25 ml: 0.225 – 0.275 g

Pipeta de 0,2 ml

0.2 ml: 0.180 – 0.220 g
0.05 ml: 0.045 – 0.055 g

Pipeta de 0,1 ml

0.1 ml: 0.090 – 0.110 g
0.025 ml: 0.0225 – 0.0275 g

Pipeta de 50 µl

50 µl: 0.045 – 0.055 g
15 µl: 0.013 – 0.0165 g

Para obtener información adicional, consulte el documento ISO 8655-2-2002, disponible en diferentes idiomas.

Método de control de las balanzas: Para garantizar su exactitud, las pesas calibradas se pesan a intervalos de seis meses y se registran los valores.

- 1) Poner la balanza a cero.
- 2) Pesar tres pesas calibradas, uno a la vez. Registre los pesos con tres decimales (por ejemplo, 1,003 g).
- 3) Si alguna pesa está fuera de los límites establecidos (en >2%), retírela de uso hasta que se solucione el problema.

Método para comprobar la temperatura de las cámaras frigoríficas: La temperatura interna de los frigoríficos debe mantenerse a +4 °C (normalmente en el rango de +2 °C a +7 °C) mediante una sonda de temperatura, e idealmente debe registrarse constantemente, ya sea utilizando un disco impreso local o electrónicamente. Lo mismo se aplica a los congeladores, que deben mantenerse a temperaturas de -20 °C, -35 °C o incluso inferiores a -70 °C.

Evaluación y uso de coagulómetros: La automatización en los laboratorios de coagulación es ahora de uso generalizado en la mayor parte del mundo. Ha contribuido a mejorar la normalización y a facilitar la realización de pruebas que exigen una formación específica y unas condiciones de trabajo especiales, para que los laboratorios puedan mejorar su eficiencia y su repertorio. La automatización en hemostasia es relativamente reciente. Los métodos manuales basados en la detección visual del coágulo de fibrina y el uso de incubadoras a 37 °C fueron en el pasado las únicas técnicas para los estudios de coagulación. Luego, en la década de 1970, aparecieron nuevos equipos semiautomáticos basados en principios fotométricos o mecánicos para detectar coágulos de fibrina. Más recientemente, los instrumentos totalmente automatizados se han vuelto comunes en los laboratorios modernos. Los nuevos equipos conectados a los sistemas de información de laboratorio, que suelen incluir sistemas específicos de procesamiento de datos, pueden realizar pruebas de coagulación, cromogénicas e inmunológicas.

En la actualidad existen dos metodologías principales, que se basan en sistemas de detección mecánicos y ópticos. Los sistemas mecánicos solo permiten realizar ensayos de coagulación, mientras que los sistemas ópticos permiten realizar ensayos cronométricos, cromogénicos e inmunológicos basados en principios fotoópticos, nefelométricos, cromogénicos e inmunológicos. Además, se están haciendo cada vez más disponibles en el mercado los analizadores basados en fluorescencia y quimioluminiscencia, lo que permite realizar ensayos específicos con una amplia gama de mediciones.

Principio mecánico: Los métodos electromagnéticos se basan en la detección de un aumento de la viscosidad del plasma cuando se forma la fibrina. Dos variaciones de este principio se aplican a los equipos de laboratorio que existen en la actualidad.

El primero utiliza un campo electromagnético aplicado a las cubetas de prueba que detectan el movimiento dentro de una esfera de acero inoxidable colocada en la muestra de plasma. La esfera de acero sigue un movimiento de péndulo, oscilando de un lado al otro en una solución de reactivo de plasma con un movimiento constante. A medida que la fibrina comienza a formarse, la viscosidad aumenta y el movimiento de la esfera se ralentiza. Cuando el movimiento de oscilación de la esfera alcanza un nivel predeterminado, el cronómetro se detiene, indicando el tiempo de coagulación del plasma.

Un segundo método de detección mecánica también utiliza una esfera de acero inoxidable, ubicada esta vez en una ranura de un solo punto. Un sensor magnético detecta la posición de la esfera y, a medida que gira, la esfera mantiene su inclinación mientras que la muestra líquida permanece fluida. Cuando se forma la fibrina, el coágulo atrapa la esfera, moviéndola de su posición original. A medida que se mueve fuera del alcance del sensor, el circuito se interrumpe y el cronómetro se detiene.

Principios ópticos o espectrofotométricos:

Principio fotoóptico: Los sistemas ópticos se basan en el concepto de que la formación de coágulos induce un cambio en la densidad óptica del plasma. A medida que se forma el coágulo, se producen cambios en las características ópticas desde la lectura inicial del plasma/reactivos. Estos cambios se supervisan y se utilizan para derivar el tiempo necesario para que se produzca un grado determinado de cambio.

Principio nefelométrico: El principio nefelométrico es empleado por algunos sistemas. En los ensayos de coagulación, una fuente de luz láser monocromática es transmitida, por ejemplo, por una fibra óptica. Las lecturas de dispersión de la luz son posibles gracias a un sensor que puede instalarse a 90 o 180 grados de la trayectoria de la luz, dependiendo del sistema, que luego mide la luz dispersa en un ángulo o registra el

cambio en la transmisión de la luz. Cuando la luz alcanza complejos insolubles como las fibras de fibrina, se esparce en ángulos dispersos hacia adelante (180 grados) y ángulos dispersos laterales (90 grados). El cronómetro se detiene cuando la cantidad de luz dispersa o transmitida alcanza un nivel predeterminado específico. La diferencia entre la luz dispersada o transmitida antes y después de la formación del coágulo es normalmente proporcional a la cantidad de fibrina formada.

Principio cromogénico: Se basa en el uso de una sustancia generadora específica del color conocida como cromóforo, de la cual la para-nitroanilina (pNA) es la más común. Tiene una absorbancia máxima de 405 nm. El principio de las pruebas cromogénicas reside en la adherencia del pNA a los sustratos sintéticos. El pNA se une a una serie de aminoácidos que imitan la secuencia diana del factor de coagulación activado que queremos determinar. La proteína de coagulación escinde el sustrato cromogénico en un sitio específico entre una secuencia de aminoácidos definida y libera el pNA. La intensidad del color amarillo es proporcional a la cantidad de pNA liberada. Esto se mide mediante fotodetección a una longitud de onda de 405 nm. A medida que se escinde y libera más pNA, la capacidad de absorción de la muestra aumenta, lo que conduce a un mayor cambio en la densidad óptica de la solución. Los primeros equipos de coagulación solamente tenían un único parámetro de definición, tal como uno mecánico o fotoóptico. Las herramientas fotoópticas se diseñaron inicialmente para leer a una sola longitud de onda (por ejemplo, 500 nm o 600 nm) que solo podía usarse para la detección de la formación de coágulos. Más recientemente, algunos coagulómetros pueden leer a dos o más longitudes de onda, que a menudo incluye 405 nm, aumentando así la capacidad para nuevas reacciones (métodos de sustrato cromogénico). En la década de 1990, varios fabricantes incluyeron con éxito múltiples métodos de cribado que ahora le permite a un solo laboratorio la posibilidad de utilizar el mismo equipo para diferentes metodologías.

Principio inmunológico: Las micropartículas de látex recubiertas con un anticuerpo específico se utilizan generalmente contra el analito (antígeno) que se está midiendo. Un haz de luz monocromática atraviesa una suspensión de micropartículas de látex. Cuando la longitud de onda es mayor que el diámetro de la partícula en suspensión, las partículas absorben una pequeña cantidad de luz. Sin embargo, cuando las micropartículas de látex recubiertas de antígeno específicas entran en contacto con el antígeno presente en la solución, se adhieren al anticuerpo, formando enlaces entre las partículas, lo que produce aglutinación. Cuando el diámetro de las partículas se acerca a la longitud de onda del haz de luz monocromático, se absorbe una mayor cantidad de luz. Este aumento de la absorbancia de luz es proporcional a la aglutinación, que, a su vez, es proporcional a la cantidad de antígeno presente en la muestra. Este tipo de tecnología está disponible en los analizadores de coagulación más sofisticados introducidos en el mercado en la década de 1990. Por lo general, los ensayos inmunológicos estándar que requieren mucho tiempo se pueden realizar en minutos cuando se utiliza cualquiera de estas herramientas automatizadas.

Tabla 2. Ventajas y desventajas de los métodos de detección en la definición de parámetros

Método	Ventajas	Desventajas
Mecánico	Sin interferencias debidas a características físicas como lipemia o ictericia. Puede utilizar volúmenes de muestra pequeños	Gráficos imposibles de observar de la formación de coágulos. Puede presentar problemas de detección de puntos finales en algunas muestras con fibrinógeno bajo
Foto-óptico	Posibilidad de gráficos sobre la formación de coágulos Comprobaciones ópticas de hemólisis/lipemia/ictericia en algunos sistemas ópticos Puede utilizar pequeños volúmenes de muestra	Interferencia debida a lipemia, hemólisis, hiperbilirrubinemia o aumento de proteínas en algunos sistemas Algunos sistemas pueden presentar dificultades con la detección de coágulos cuando se utilizan algunos reactivos completamente transparentes Los períodos de coagulación muy cortos pueden pasar desapercibidos debido a la demora antes del inicio de la monitorización
Nefelométrico	Puede medir las reacciones antígeno-anticuerpo en proteínas presentes en cantidades muy pequeñas	Limita el número de pruebas disponibles Costo de los reactivos
Cromogénico	Los ensayos completamente específicos pueden ser más sencillos. Es posible que existan parámetros adicionales que no sean adecuados para la medición mediante la detección de coágulos Aumenta el repertorio de posibles pruebas. Posibles mejoras en la precisión en comparación con los análisis basados en coágulos	Limitado por la longitud de onda del instrumento. Requiere grandes volúmenes de prueba para una relación costo-beneficio positiva. Costo de los instrumentos y reactivos.
Inmunológico	Puede automatizar métodos manuales que consumen mucho tiempo Aumenta el número de pruebas posibles	Número limitado de pruebas disponibles. Costo de los instrumentos. Costo de los reactivos.

Ventajas de la automatización en el laboratorio de coagulación:

- 1) Mejora la capacidad y flexibilidad del tiempo profesional empleado (Kodak, 1995).
- 2) Mejora el rendimiento de las pruebas. En el pasado, las pruebas de coagulación manual eran inexactas, con coeficientes de variación superiores al 20%; El equipo semiautomático proporcionó una mayor precisión en las pruebas de coagulación. Sin embargo, con el envío manual de muestras y reactivos, las pruebas debían realizarse por duplicado. Con equipos totalmente automatizados, la precisión mejoró, alcanzando coeficientes de variación de menos del 5 % e incluso del 1 % para algunas pruebas. Esto ha llevado a los autores a introducir la noción de pruebas únicas y la posibilidad de reducir a la mitad los costes de reactivos y cubetas.
- 3) Reduce el costo en muestras y reactivos, al permitir el uso de volúmenes más bajos de plasma y reactivos (al menos la mitad).
- 4) Facilita el almacenamiento y los sistemas de recuperación de datos mediante programas informáticos.
- 5) Permite la reproducción automática de los resultados cuando se cometen errores en la primera corrida.
- 6) Ofrece la posibilidad de realizar diferentes pruebas utilizando una sola muestra.
- 7) Permite la toma de muestras de un tubo cerrado (el llamado "cap-piercing" o perforación de la tapa), lo que mejora la seguridad y la eficiencia en las pruebas de coagulación. Esto reduce,

- en gran medida, la posibilidad de exponer al operador a aerosoles o derrames de muestras de pacientes, o errores en el etiquetado. Como anécdota, un fabricante ofreció un sistema de cribado patentado que separa automáticamente el plasma de los eritrocitos antes de las pruebas sin centrifugación previa.
- 8) Provee la capacidad para diluir muestras, calibradores y controles. El equipo puede programarse para diluciones adicionales si los resultados iniciales escapan a la linealidad del método. También puede realizar automáticamente otras pruebas sin la intervención del operador si está clínicamente indicado o debido a los resultados de la corrida inicial.
 - 9) La mayoría de los analizadores incluyen sistemas de alarma que advierten al operador de lecturas que superan los límites preestablecidos, lo que puede identificar problemas del equipo (por ejemplo, pequeña cantidad de reactivo, fallo de temperatura, volumen de muestra demasiado pequeño y errores de control de calidad), así como errores preanalíticos (tubos con llenado insuficiente, hemólisis, ictericia, lipemia y presencia de coágulos).

Los diferentes tipos metodológicos disponibles tienen ventajas y desventajas que deben conocerse y entenderse para garantizar la precisión y validez de los resultados de las pruebas. Es importante tener en cuenta que los laboratorios son responsables de obtener resultados confiables. La principal preocupación de un laboratorio es seleccionar el equipo de coagulación que generará resultados apropiados a pesar de las restricciones presupuestarias. Dichos instrumentos exigen un mantenimiento técnico regular, conocimiento permanente y control del sistema, ya que un error o falla puede influir decisivamente en una serie de resultados. Por lo tanto, son obligatorios los sistemas de control que garanticen la confianza analítica.

Muchos laboratorios pueden tener la suerte de poder evaluar el equipo antes de comprarlo. Si esto no es posible, es muy importante obtener información y asesoramiento adecuados de un laboratorio de referencia, además de la revisión de la literatura.

Al evaluar un nuevo equipo antes de comprarlo, primero compare los analizadores de acuerdo con criterios como:

- Costos de equipo y mantenimiento
- Periodo de inactividad y fiabilidad
- Tiempo de respuesta de reparación
- Facilidad de uso
- Disponibilidad de un mantenimiento adecuado en un plazo adecuado
- Proceso de validación y rendimiento
- Costo de los elementos descartables
- Flexibilidad en el uso de reactivos de otros fabricantes
- Posibilidad de añadir nuevos protocolos de pruebas
- Capacidad y costo de la conexión con el sistema de información del laboratorio
- Cursos de formación y apoyo a la formación continua

La sensibilidad de los diferentes tipos de equipos a múltiples parámetros variará según cómo se calibren las máquinas y cómo se detecten los puntos finales. Los laboratorios tienen diferentes necesidades, y es recomendable clasificar las prioridades. Por ejemplo, consulte la Tabla 3.

Tabla 3. Características de los equipos especializados (adaptado de Rodak, 1995)

Características	Descripción
Acceso aleatorio	Con la muestra de los pacientes, son posibles varias pruebas diferentes en cualquier orden y al mismo tiempo.
Tubo primario de muestra	La muestra de plasma se toma directamente por aspiración en un tubo de recolección abierto colocado en el analizador.
Tapón penetrante y tubo de muestreo cerrado	El analizador aspira la muestra de plasma dentro del tubo de recolección con el tapón de goma colocado.
Código de barras	Permite la identificación de reactivos, muestras de pacientes o ambos mediante un código de barras. Esto reduce la entrada manual de datos.
Interfase bidireccional	El analizador consulta a un equipo centralizado para determinar el número solicitado de pruebas. El operador no necesita programar manualmente la información en el equipo.
Indicador de muestra	Advierte al operador de problemas con la integridad de la muestra.
Sensor de nivel de líquido	Advierte al operador de un volumen insuficiente de muestra o reactivo para una prueba adecuada, o si el equipo no aspiró lo suficiente de la muestra para realizar la prueba solicitada.
Programas integrados de control de calidad	El programa informático del instrumento almacena y organiza los datos de control de calidad. Puede incluir la aplicación completa de las reglas de Westgard para indicar los resultados fuera de límite.
Capacidades STAT	Permite al operador cancelar la secuencia de verificación de prueba para colocar una nueva muestra STAT en la isla de verificación.
Capacidad de refrigeración de las muestras integradas	Preserva la integridad de las muestras, el reactivo o ambos durante el proceso de verificación.
Capacidad de almacenamiento de muestras integradas	Indica la cantidad de muestra de paciente que se puede cargar en el analizador en un momento dado.
Capacidad de prueba confirmatorias	Permite programar el equipo para repetir o agregar pruebas bajo parámetros específicos establecidos por el operador para fines confirmatorios.
Almacenamiento de datos de pacientes	Capacidad del analizador para almacenar resultados de pruebas que pueden ser recuperados en cualquier momento. Puede almacenar curvas de formación de coágulos.
Monitorización del volumen de reactivos	Advierte al operador de que el reactivo es insuficiente para las pruebas programadas.
Procesamiento	Número de pruebas que se pueden procesar en un período determinado (generalmente clasificado como número de pruebas por hora).
Curva de formación de coágulos	Permita que el operador visualice la formación de coágulos dentro de la cubeta. Ayuda a detectar ciertas condiciones rebeldes o estados mórbidos, o la ubicación y solución de fallas desviadas en los resultados de las pruebas.
Controles preanalíticos	Detección de tubos con llenado insuficientes, hemólisis, ictericia, lipemia, coágulo.

La tecnología está en auge y las crecientes demandas diarias generan la necesidad de instrumentos de esta naturaleza en el laboratorio. Constituirán un gran avance en el campo del laboratorio, dada la posibilidad de realizar pruebas de manera fiable, exacta y precisa, y entregar resultados más rápidamente (menor tiempo de respuesta) y bajo un mejor control. Las ventajas de la automatización son numerosas. La tecnología avanza continuamente para satisfacer los nuevos desarrollos en el campo y reducir los tiempos de respuesta, lo que permite que las pruebas sean confiables, exactas y precisas, manteniendo la calidad.

Reactivos: Además de los reactivos específicos dedicados a ensayos específicos, que se detallarán en los capítulos correspondientes, algunos reactivos son ampliamente utilizados en el laboratorio de hemostasia

(por ejemplo, solución de cloruro de calcio, varios tampones). Pueden comprarse a los fabricantes de reactivos o prepararse localmente a partir de reactivos a granel o soluciones concentradas.

Solución de cloruro de calcio de 25 mM: Por ejemplo, si se compra una solución molar, para obtener una solución de 25 mM, diluir 25 ml de solución 1 M a 1 litro en un matraz aforado con agua destilada.

Solución amortiguadora:

- **Solución amortiguadora de barbitúricos de Owren pH 7,35**

Peso: 5.875 g de dietilbarbitúrico de sodio (barbitona sódica) y 7.335 g de cloruro de sodio.

Colocar en un matraz aforado y disolver en aproximadamente 780 ml de agua destilada.

Añadir 215 ml de ácido clorhídrico 0,1 M.

Ajuste el volumen a 1 litro con agua destilada.

Verifique el pH y ajústelo a pH 7.35, si es necesario.

- **Solución salina tamponada de Owren**

200 ml de solución amortiguadora antibarbitúricos de Owren (ver arriba).

Añadir 800 ml de solución salina normal (cloruro sódico al 0,9%).

- **Solución amortiguadora de imidazol (glioxalina)**

Pesa 2,72 g de imidazol (glioxalina) y 4,68 g de cloruro de sodio.

Colocar en un matraz aforado y disolver en aproximadamente 650 ml de agua destilada.

Añadir 148,8 ml de HCl 0,1 M y ajustar el pH a 7,3.

Ajuste el volumen a 1 litro con agua destilada, si es necesario.

Reactivos para las pruebas de cribado de la coagulación: En las etapas iniciales de la investigación y el diagnóstico de los trastornos hemorrágicos, la selección y aplicación de los reactivos adecuados para las pruebas de cribado, en particular para las pruebas de tiempo de protrombina (TP) y tiempo de trombo-plastina parcial activada (TTPA), son de gran importancia. Hay muchos reactivos diferentes disponibles en todo el mundo. Cuando se dispone de una amplia variedad, la selección debe tener en cuenta la variación de la sensibilidad. En el cribado de un trastorno hemorrágico mediante TP y TTPA, se pueden tener en cuenta las siguientes fuentes de información en relación con el rendimiento probable de un reactivo en particular:

- Datos comparativos en relación con otros reactivos de esquemas de evaluación externa de la calidad (AEC), como el esquema internacional de AEC
- Datos publicados
- Pruebas locales de plasma de pacientes con defectos conocidos
- Fichas técnicas de los fabricantes

La producción local de reactivos TP y TTPA puede ser atractiva desde el punto de vista financiero, pero puede causar dificultades de estandarización y, por lo tanto, debe evitarse. También hay que tener en cuenta que algunos fabricantes ofrecen diferentes reactivos. Además, la composición de los reactivos que llevan el mismo nombre puede modificarse de vez en cuando. Esto significa que no se pueden dar recomendaciones para el uso de una fuente particular de material.

Referencias

Graves S, Holman B, Rossetti M, Estey C, Felder R. Automatización robótica del análisis de la coagulación. *Clínica Chimica Acta* 1998; 278: 269-279.

Kitchen S, Olson JD, Preston FE (eds). Calidad en hemostasia y trombosis de laboratorio 2ª ed. Oxford, Reino Unido: Wiley Blackwell, 2013.

Lippi G, Plebani M, Favaloro EJ. Avances tecnológicos en el laboratorio de hemostasia. *Semin Thromb Hemost* 2014; 40: 178-185.

Qari MH. Revisión de analizadores de coagulación de alto rendimiento. *Criba de alto rendimiento Comb Chem* 2005; 8: 353-360.

Kodak BF (ed). Hematología diagnóstica. Filadelfia: WB Saunders, 1995.

Sasaki M, Kageoka T, Ogura K, Kataoka H, Ueta T, Sugihara S. Automatización total de laboratorio en Japón: pasado, presente y futuro. *Clínica Chimica Acta* 1998; 278: 217-227.

Walenga JM, Fareed J. Automatización y control de calidad en el laboratorio de coagulación. *Clin Lab Med* 1994; 14: 709-728.

Woodhams B, Girardot O, Blanco MJ, Go I esse G, Gourmelin Y. Estabilidad de las proteínas de coagulación en plasma congelado. *Fibrinólisis de coágulos sanguíneos* 2001; 12: 229-236.