



**INSTITUTO
BOLIVIANO DE
BIOLOGIA
DE LA ALTURA**

**ANUARIO
1983 - 1984**

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
MINISTERIO DE PREVISION SOCIAL Y
SALUD PUBLICA
COOPERACION TECNICA DE FRANCIA

EN HOMENAJE AL SESQUICENTENARIO DE LA FACULTAD DE MEDICINA UMSA

Experiencias en la preparación y empleo de Pool de sueros congelados y liofilizados en nuestro medio.

Wilma Tellez C., Rosario Peñaloza I., Nancy Gutierrez V.

Departamento de Bioquímica – I.B.B.A.

SUMMARY

The system of quality control was put into practice utilizing a collection of human serum (serum pool). The sera were frozen and lyophilized with and without sodium azid. The behavior of the sera was followed up by measuring simultaneously glucose and total proteins. In both cases it was concluded that the frozen pool as well as the pool lyophilized with sodium azid can be utilized for precision control because they show stability and the measurements can be reproduced (small standard deviations and insignificant F). It is suggested to utilize this control system here because of its sensitivity for detecting changes in an analytic series, its easy preparation in the laboratory and its low cost.

RESUMEN

Se pone en práctica el sistema de control de calidad a base de recolección de sueros humanos (pool de sueros) congelados y liofilizados con y sin azida de sodio y se sigue el comportamiento de los mismos mediante la dosificación simultánea de glucosa y proteínas totales. En ambos casos se concluye que tanto el pool congelado y el pool liofilizado con azida de sodio pueden ser utilizados para un control de precisión porque muestran estabilidad y reproducibilidad en las determinaciones (desviaciones estándar estrechas y F no significativo). Se sugiere la adopción en nuestro medio de este sistema de control por su sensibilidad para detectar cambios en una serie analítica, su fácil preparación en el laboratorio y el bajo costo económico que ello implica.

PALABRAS CLAVE.- Pool de sueros, estabilidad de análisis, liofilización, control de calidad interno, sistemas de control de calidad.

INTRODUCCION

La primera preocupación del analista debe ser pro-

porcionar datos fiables, o sea, controlar la exactitud y precisión de sus resultados analíticos. Para ello él debe practicar su propio control ó control de calidad interno, sirviéndose de sueros de referencia (ó sueros control) que tengan propiedades físicas y químicas semejantes al suero del paciente y se lleven a cabo los mismos pasos analíticos que se procesan en aquel. En éste sentido existen numerosos sistemas de control como ser control a base de suero humano recolectado, promedio de normales, mezclas de muestras con valores conocidos, sueros de referencia liofilizados y estandarizados comerciales, etc., los cuales lógicamente presentan ventajas y desventajas concernientes a la estabilidad de sus componentes químicos y a su costo económico pero cuyo objetivo principal es el de mantener el desarrollo de un proceso analítico en un nivel aceptable.

El sistema de control debe ser lo suficientemente sensible para detectar rápidamente durante el procedimiento de una serie analítica, cambios reales o potenciales y, para ayudar a identificar la causa ó causas de tales cambios reconociendo sin embargo que la variabilidad es inherente al proceso de medición.

MATERIAL Y METODOS

Efectuamos el sistema de control a base de recolección de sueros humanos (pool de sueros) congelados y liofilizados con y sin azida de sodio. Para su ejecución se siguieron los siguientes pasos:

Fuente.- Sueros humanos libres de ictericia, hemólisis y lipemia, remanentes de aquellos que fueron empleados en los dosages de rutina provenientes de diferentes laboratorios de la ciudad de La Paz.

Recolección.- En un frasco de vidrio con tapa de rosca se colocaron sueros a - 20°C hasta alcanzar un volúmen de 200 ml.

Preparación.- Se descongeló el frasco a temperatura ambiente. Se mezcló bien el suero con agitador magnético 30 minutos sin producir espuma.

Se centrifugó a 4°C media hora a 5000 rpm.

Se decantó, reunió todo el suero y se mezcló en agitador magnético.

División en porciones alicuotas.- Se tomaron 50 ml del sobrenadante para repartir en alicuotas de 1 ml, congelarlos a 20°C y liofilizarlos a - 50°C.

A los 130 ml restantes se añadió 10 mg de azida de sodio y una vez disuelto se repartió en alicuotas de 1 ml y se congeló a - 20°C; de éstos algunos fueron liofilizados a - 50°C.

Uso.- El suero congelado se descongeló a temperatura ambiente (1 tubo cada día) se mezcló por inversión para suprimir los gradientes de concentración y obtener un suero homogéneo. El suero liofilizado se reconstituyó con 1 ml de agua destilada y al cabo de 30 minutos se mezcló por inversión.

En todos los sueros se dosificó simultáneamente proteínas totales (método del Biuret) y glucosa (método de la oxidasa peroxidasa), este último también se dosó

en suero comercial liofilizado con objeto de establecer correlaciones.

La liofilización se realizó en un liofilizador pequeño montado por el personal del Departamento de Electromedicina del IBBA.

Para la interpretación de los resultados se aplicó cálculo estadístico del test de t de Student y F (análisis de varianza con la prueba F) cuyas fórmulas son las siguientes:

$$T = \frac{\bar{X}_a - \bar{X}_b}{\sqrt{\left[\frac{(Na-1) S^2_a + (Nb-1) S^2_b}{Na + Nb - 2} \right] \left[\frac{1}{Na} + \frac{1}{Nb} \right]}}$$

$$S^2 = \frac{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}{n - 1}$$

$$F = \frac{S^2_a}{S^2_b}$$

RESULTADOS

Glucosa.- Haciendo una relación de promedios y desviaciones standard (Tablas 1, 2 y 3) se observa que entre pool congelado y pool liofilizado con azida de sodio, t es significativo y F no significativo.

TABLA 1

GLUCOSA G O D

ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE POOL CONGELADO Y POOL LIOFILIZADO

POOL CONGELADO	POOL LIOFILIZADO SIN AZIDA DE Na	POOL LIOFILIZADO CON AZIDA DE Na
$\bar{X} = 80.9$	$\bar{X} = 56.4$	$\bar{X} = 74.1$
$S = 5.3$	$S = 6.02$	$S = 5.2$
$S^2 = 28.4$	$S^2 = 36.24$	$S^2 = 27.04$
$N = 30$	$N = 17$	$N = 11$

TABLA 2

TEST DE t DE STUDENT

POOL CONGELADO Y POOL LIOF. SIN AZIDA DE Na	POOL CONGELADO Y POOL LIOF. CON AZIDA DE Na	POOL LIOFILIZADO CON Y SIN AZIDA DE Na
$t = 14.8$	$t = 3.6$	$t = 7.99$
$t > 2.02$	$t > 2.02$	$t > 2.05$
Significativo	Significativo	Significativo

TABLA 3

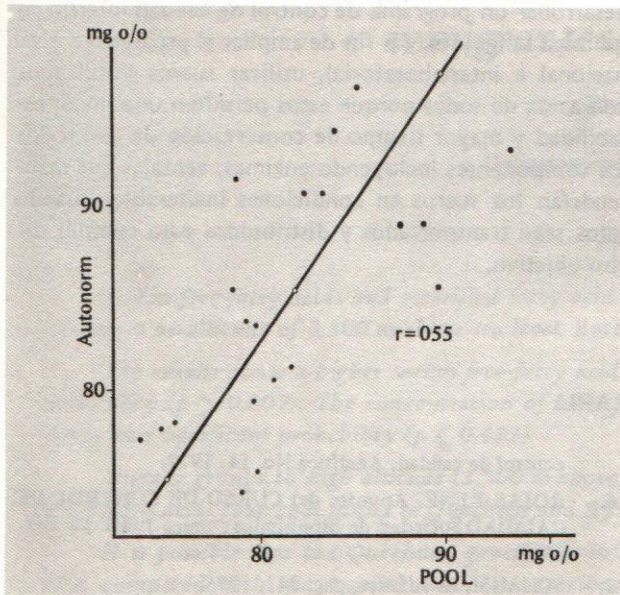
ANALISIS DE VARIANZA

POOL CONGELADO Y POOL LIOFILIZADO, TOTAL	POOL CONGELADO Y POOL LIOF. SIN AZIDA DE Na	POOL CONGELADO Y POOL LIOF. CON AZIDA DE Na	POOL LIOFILIZADO CON Y SIN AZIDA DE Na
F = 9.99	F = 1.28	F = 1.05	F = 1.34
F > 3.2	F < 2.03	F < 2.7	F < 2.84
muy significativo	no significativo	no significativo	no significativo

Entre pool congelado y pool liofilizado sin azida de sodio t es altamente significativo y F no significativo.

Entre pool liofilizado con y sin azida de sodio t es muy significativo y F es no significativo.

GRAFICA DE CORRELACION Y DISPERSION ENTRE CONTROL COMERCIAL Y POOL



En lo que respecta a la correlación entre pool y suero comercial obtuvimos un coeficiente de correlación $r = 0.55$ y la gráfica muestra valores dispersos con una línea de regresión próxima a estos valores y ligeramente desviada del origen lo que significa una correlación directa. (Gráfica 1).

Proteínas totales.- Haciendo una relación de promedios y desviaciones standard (Tablas 4, 5 y 6) se observa que

TABLA 4

PROTEINAS TOTALES/ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE POOL CONGELADO Y POOL LIOFILIZADO

POOL CONGELADO	POOL LIOFILIZADO SIN AZIDA DE Na	POOL LIOFILIZADO CON AZIDA DE Na
$\bar{X} = 7.2$	$\bar{X} = 6.6$	$\bar{X} = 7.1$
S = 0.236	S = 0.97	S = 0.17
S ² = 0.056	S ² = 0.9409	S ² = 0.0289
N = 30	N = 19	N = 11

TABLA 5

TEST DE t DE STUDENT

POOL CONGELADO Y POOL LIOF. SIN AZIDA DE Na	POOL CONGELADO Y POOL LIOF. CON AZIDA DE Na	POOL LIOFILIZADO CON Y SIN AZIDA DE Na
t = 3.3	t = 1.28	t = 1.68
t > 2.02	t < 2.02	t < 2.05
significativo	no significativo	no significativo

TABLA 6

ANALISIS DE VARIANZA

POOL CONGELADO Y POOL LIOF. TOTAL	POOL CONGELADO Y POOL LIOF. SIN AZIDA DE Na	POOL CONGELADO Y POOL LIOF. CON AZIDA DE Na	POOL LIOFILIZADO CON Y SIN AZIDA DE Na
F = 5.8	F = 16.89	F = 1.94	F = 32.55
F > 4	F > 1.94	F < 2.7	F > 2.77
significativo	significativo	no significativo	significativo

entre pool congelado y pool liofilizado con azida de sodio t es no significativo y F es no significativo.

Entre pool congelado y pool liofilizado sin azida de sodio t es significativo y F muy significativo.

Entre liofilizado con y sin azida de sodio t es no significativo y F es muy significativo.

DISCUSION

La manipulación y los diferentes cálculos estadísticos realizados en el pool de sueros nos permiten hacer las siguientes consideraciones:

El pool congelado y el pool liofilizado con azida de sodio pueden ser utilizados para un control de calidad de precisión en glucosa y proteínas totales, porque ambos analitos muestran estabilidad y reproducibilidad, en las determinaciones (desviaciones standard estrechas y F no significativo).

En el pool liofilizado sin azida de sodio se observa una marcada disminución de la concentración de glucosa

con relación al pool congelado y al liofilizado con azida de sodio; lo que nos muestra la importancia de utilizar este conservador en el proceso de liofilización ó añadir glucosa pura al pool (proceso de recuperación) antes de congelar y liofilizar para mantener y asegurar la concentración de glucosa en un nivel que permita llevar adelante un sistema de control.

COMENTARIOS

La facilidad de la preparación del pool de sueros, la estabilidad de varios componentes y el bajo costo que implica todo el proceso nos hacen pensar que este sistema de control puede adaptarse en nuestro medio para desarrollar un programa de control de calidad interno en química sanguínea y a fin de ampliar el programa a nivel nacional e interlaboratorial, utilizar sueros liofilizados con azida de sodio porque estos permiten una mejor estabilidad y mayor tiempo de conservación de casi todos los componentes incluyendo enzimas; ventajas que mantendrán los sueros en condiciones inalterables cuando estos sean transportados y distribuidos para cumplir dicho objetivo.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- BRADLEY E., COPELAND M.D. Recursos estadísticos en el Laboratorio Clínico. Todd y Sanford, diagnóstico clínico por el laboratorio Salvat pag. 19-27, 1977.
- 2.- FERNANDEZ H., HERRERA, J., CANDAU., Práctica del control de calidad interno de bioquímica clínica. Tomo V, No. 18 pag. 21.24.
- 3.- MERINO N. Revisión actualizada de conceptos básicos de control de calidad. Analítica No. 14, 1977.
- 4.- ROJAS RENE. Apuntes del CURSO DE CONTROL DE CALIDAD Sociedad de Bioquímica Clínica Filial La Paz, 1982.
- 5.- SCHAUM. Estadística, pag. 241, 1975.
- 6.- TIETZ. Química Clínica Moderna, Editorial Interamericana, 1972.