

## Variables preanalíticas y su influencia en la calidad de los resultados del laboratorio

Narayanan, S.<sup>1</sup>; Guder, W.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Pathology, New York Medical College, Metropolitan Hospital Center

<sup>2</sup> Institute of Clinical Chemistry, Bogenhausen Hospital, Munich, Alemania

Mientras los standards analíticos han sido desarrollados estableciendo criterios de control de calidad, esto no ha sucedido en el caso del desarrollo de standards para la fase preanalítica. Sólo recientemente se han publicado recomendaciones en relación a la calidad de las muestras, incluyendo la definición del tamaño óptimo de muestra, uso de anticoagulantes y estabilizantes así como el manejo de muestras hemolíticas, lipémicas o ictéricas. Se han elaborado recomendaciones técnicas aplicables a la estabilidad durante el transporte, almacenamiento e identificación. Cada día el laboratorio clínico se enfrenta con datos provenientes de errores preanalíticos. La habilidad de reconocerlos es crítica para mantener la calidad en el laboratorio como se ilustra en los casos siguientes.

**B**ajo la amplia denominación de fase preanalítica se incluyen las variables relacionadas con la recolección de la muestra y manejo de la misma, variables fisiológicas como el efecto de edad, sexo, embarazo, menstruación y variables endógenas como las drogas y anticuerpos circulantes. Algunas variables preanalíticas como recolección o manejo de la muestra pueden ser controladas, pero son aquellas que no pueden controlarse las que deben entenderse para poder separar su efecto, de una enfermedad que afecta realmente el resultado del laboratorio. Sólo en la última década se ha prestado gran atención a la fase preanalítica, lo que llevó al desarrollo de standards y recomendaciones de las organizaciones internacionales de consenso.

### Recomendaciones y standards para la fase preanalítica

En años recientes, muchas recomendaciones y standards han sido desarrollados para la fase preanalítica.

El grupo de trabajo sobre variables preanalíticas de la Sociedad Alemana de Química Clínica (DGKC) propuso recomendaciones para asegurar la calidad de las muestras para diagnóstico y más recientemente sobre el manejo de muestras hemolíticas, ictéricas o lipémicas. Los documentos sobre calidad de muestras para diagnóstico incluyen información sobre la elección del anticoagulante, definición de tamaño óptimo de muestra y estabilidad del analito en la matriz de la muestra. Se indican las ventajas y desventajas del plasma en rela-

ción al suero, así como las condiciones óptimas de recolección, transporte, centrifugación y almacenamiento. El volumen óptimo de muestra necesario para realizar las pruebas se definió como el doble del volumen analítico de suero o plasma requerido para las pruebas, más el volumen muerto del recipiente en el que se recolecta la muestra, considerando la realización de replicados y los tubos secundarios.

En general para 20 analitos en química clínica, se necesitan 3 ó 4 ml de sangre entera, mientras que para obtener suero se necesitan 4 ó 5 ml de sangre sin anticoagulante.

Dos o 3 ml de sangre con EDTA o citratada son suficientes para realizar las pruebas de coagulación y hematología. Un ml de sangre es suficiente para reali-

zar 3 ó 4 inmunoensayos. Para medidas de velocidad de sedimentación globular son adecuados 2 ó 3 ml de sangre citratada. La extracción de sangre capilar para determinación de gases en sangre requiere 50  $\mu$ l de sangre arterial, mientras que para la sangre venosa se recomienda 1 ml de sangre heparinizada. Los documentos acerca de la calidad de la muestra incluyen una lista de analitos y su estabilidad en la matriz de la muestra, y también información acerca del manejo de muestras lipémicas, hemolizadas o ictericas, ampliando información previa incluida en las recomendaciones del NCCLS.

El College of American Pathologists for Laboratory Inspection and Accreditation elaboró también un documento dirigido a las variables preanalíticas relacionadas con la muestra.

Organismos internacionales de standardización tales como ISO han editado standards para concentración de anticoagulantes a utilizar en muestras de sangre venosa (ISO 6710).

El National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) en USA constantemente actualiza sus guías en muchos de los aspectos de la fase preanalítica. Una lista actualizada puede obtenerse de los catálogos editados por esta institución.

### Manual de calidad preanalítica

El establecimiento de un manual de calidad dirigido a las variables preanalíticas es un requisito para la implementación de medidas que permitan reconocer y controlar este componente crucial de la calidad de los resultados del laboratorio, que no puede ser detectado por controles de calidad tradicionales.

El manual de calidad preanalítica, debe estar dirigido tanto a las variables dependientes del paciente como a las de la muestra. Por lo tanto debe tener información acerca del volumen de muestra necesario para llevar a cabo las pruebas de laboratorio incluyendo las ecuaciones para calcular el volumen de muestra en función del número de pruebas a realizar. La definición de un volumen óptimo de muestra es crítico a fin de proteger al

paciente de una excesiva extracción. Son importantes también las instrucciones que debe recibir el paciente previo a la extracción, incluyendo por ejemplo horas de ayuno o ejercicio. También deben incluirse instrucciones para recolección de otros fluidos corporales.

La postura durante la extracción de la muestra, la duración en la aplicación del torniquete, el tiempo de recolección para minimizar los efectos diurnos deben estar claramente indicados.

Deben expresarse claramente las condiciones de transporte y almacenamiento. También debe tenerse en cuenta la influencia de otros factores específicos para cada analito, como las drogas que puedan afectar los resultados.

Cada laboratorio debería tener una estrategia para reconocer los errores preanalíticos. Los siguientes casos ilustran la importancia del ejercicio en la detección de estos errores.

### Caso 1

Hombre de 55 años hospitalizado con potasio sérico de 6,9 mmol/l en una muestra no hemolizada obtenida en un laboratorio externo a la clínica. El resto de las pruebas son normales. Durante la hospitalización los valores de potasio sérico varían de 3,9 a 4,5 mmol/l (normal 3,5-5 mmol/l). Se pudo determinar que en la clínica externa la extracción se realizó con aplicación de torniquete y contracción del puño. En el hospital se realizó la extracción por medio de un catéter. La causa de esta pseudo hiperkalemia resultó ser la repetida contracción del puño durante la aplicación del torniquete. La contracción de los músculos del antebrazo causó una liberación de potasio debido a la reducción de la negatividad intracelular durante la depolarización de las fibras musculares, causando un eflujo de potasio. Este efecto puede llevar a un aumento de 1-2 mmol/l de potasio lo que se traduce en un aumento de 2,7 mmol/l.

### Caso 2

Un hombre de 40 años hospitalizado con potasio sérico de 8.0 mmol/l obtenido sobre una muestra no hemolizada. El tratamiento administrado para reducir el

nivel de potasio no resultó aparentemente exitoso, debido a que una nueva determinación sobre muestra no hemolizada dio un resultado de 7,0 mmol/l. Para entonces el paciente se mostraba confuso, desarrolló calambres y vómito. Se pidió entonces una determinación de potasio en sangre total, que dio como resultado 2,7 mmol/l. Inmediatamente se suspendió la terapia para disminuir el potasio. Al examinar los resultados de hematología se vio que el recuento de glóbulos blancos era de 20.000/mm<sup>3</sup> y el recuento de plaquetas de 480.000/mm<sup>3</sup>. En este caso el incremento de potasio en la muestra no hemolizada se debió a la liberación de potasio por lisis de las plaquetas en el proceso de centrifugación. En sangre total, sin embargo las plaquetas estaban intactas y los valores de potasio obtenidos por electrodo ion selectivo reflejaron el valor real. El paciente en realidad tenía un valor de potasio normal en el momento de iniciar la terapia basada en un dato erróneo.

### Caso 3

Una mujer de 75 años aparentemente confusa es hospitalizada. El perfil de electrolitos resulta anormal con sodio de 162 mmol/l (normal 134-145 mmol/l) y cloruro de 125 mmol/l (normal 100-108 mmol/l).

Tres días después de la hospitalización su sodio y cloruro séricos han retornado a lo normal y se la ve más alerta. Al egreso del hospital, la paciente se queja de la calidad de la comida y especialmente de su falta de condimento, luego de lo cual pudo establecerse que dentro de las 10 horas previas a la internación la paciente había ingerido un tipo de comida que había aportado entre 1338 y 1870 mmol/l de sodio, que aún después de la dilución por el agua corporal resultó en las concentraciones de sodio y cloruro encontradas al ingreso. Su estado de confusión se debía a un efecto hiperosmótico del sodio que causó un eflujo de agua de las células, entre ellas las cerebrales.

### Caso 4

Una mujer anémica de 85 años presenta al ingreso de la internación los siguientes

tes resultados hematológicos: hemoglobina 10,3 g/dl (normal 12-16 g/dl), leucocitos 9.200/mm<sup>3</sup> (normal 4500 - 11.000/mm<sup>3</sup>), plaquetas 354.000 (normal 150.000 - 350.000/mm<sup>3</sup>). Unos días después la hemoglobina resultó de 22,9 g/dl, los leucocitos 3.700/mm<sup>3</sup> y las plaquetas 78.000/mm<sup>3</sup>. El ensayo fue repetido obteniéndose los mismos resultados, pero al realizarlos una vez más, se obtuvieron resultados bastante similares a los del ingreso.

La razón de estas discrepancias fue que el tubo que contenía la muestra para el hemograma estaba lleno hasta el tapón de goma, no dejando espacio de aire para que se produjera la homogeneización de la muestra en el agitador mecánico. Cuando se llevó a cabo el último ensayo, ya había sido retirada del tubo gran cantidad de muestra como para que la burbuja de aire debajo del tapón de goma se deslizara permitiendo la homogeneización de la muestra en el agitador.

### Caso 5

Una mujer de 38 años, bioquímica, maneja animales en un laboratorio de investigación. Su concentración de tiroxina en suero es de 180 nmol/l (normal entre 58-140 nmol/l), la T4 libre es de 19,3 pmol/l (normal 9-24 pmol/l) y la TSH 15 U/l (normal 0,5-5 U/l). La repetición de la TSH en otro laboratorio y por otro método resultó en un valor normal (4,0 U/l) El incremento de TSH observado en primer término se debió a la presencia de anticuerpos humanos anti-ratón que pueden interferir en algunos ensayos inmunológicos. El mecanismo de la interferencia puede ser por captura del anticuerpo indicador, dando una reacción falsamente positiva, o en caso de que los anticuerpos anti-ratón se encuentren en exceso, impidiendo al anticuerpo marcado formar la unión con el de captura unido al analito, dando una reacción falsamente negativa. Aparentemente el ensayo que sobrestimó la TSH, no tenía suficiente cantidad de inmunoglobulinas de ratón en el medio de ensayo como para absorber los anticuerpos anti-ratón.

### Caso 6

Una mujer de 59 años tratada con inhibidor de la colinesterasa tiene el siguiente perfil de electrolitos: sodio 240 mmol/l, potasio 4,2 mmol/l, cloruro 114 mmol/l y bicarbonato 34 mmol/l (normal 22 - 26 mmol/l). El "anion-gap" es negativo, lo que teóricamente sería imposible. En una investigación posterior se vio que el inhibidor de la colinesterasa administrado a la paciente es bromuro de piridostigmina. Dado que el electrodo ion selectivo utilizado para efectuar la determinación de cloruro es igualmente sensible para bromuro, el cloruro de la muestra fue sobrestimado, resultando en un "anion gap" negativo.

### Caso 7

Un hombre de 60 años con debilitamiento de cabello esta tomando un medicamento para este problema. Antes del tratamiento con este medicamento, la determinación de su antígeno prostático específico (PSA) había dado un resultado de 10 ug/l, (normal 0-4 ug/l). Más tarde, su PSA dio como resultado 4,5 ug/l. El resto de sus pruebas fueron normales. La droga de su tratamiento era finasteride que interfiere la conversión de testosterona a dihidrotestosterona, y en los hombres mayores con hiperplasia prostática benigna se ha informado una caída del 50% en la PSA.

### Caso 8

El perfil de electrolitos de un paciente con exceso de glucosa, 55,5 mmol/l (normal 3,9-6,1 mmol/l) fue el siguiente: sodio 81 mmol/l, potasio 2,3 mmol/l, cloruro 48 mmol/l y bicarbonato 18 mmol/l. Se determinó que el paciente estaba recibiendo solución de glucosa y la muestra había sido recolectada del mismo brazo en que se estaba recibiendo la infusión, causando un efecto de dilución en la concentración de electrolitos.

### Caso 9

Resultados de laboratorio anormales en un hombre de 43 años: fosfatasa alcalina 5 U/l (normal 45-115 U/l), calcio 0,5 mg/l (nor-

mal 2,1-2,6 mmol/l) y potasio 22 mmol/l en una muestra no hemolizada. En una investigación posterior se encontró que el plasma había sido obtenido de sangre recolectada con EDTA tripotásico. El EDTA produjo un quelato con el magnesio y el zinc requeridos para la actividad de la fosfatasa alcalina, por lo que el resultado de la fosfatasa alcalina fue bajo. El EDTA también es complejante del calcio lo que condujo a su grosera subestimación. El potasio en el EDTA, fue responsable de la elevación de la concentración de este ion a un nivel fisiológicamente imposible.

### Conclusión

La fase preanalítica es crucial en la calidad del resultado del laboratorio. Los esfuerzos para la standardización de los factores que afectan esta fase han aumentado en la actualidad gracias a la conciencia de que los mismos pueden ser críticos en el resultado. Esto, sumado a la introducción de estrategias para reconocer estos errores, con el objetivo de lograr una calidad total en el laboratorio parece más cercana.

### Referencias

- Narayanan S. - Am J Clin Pathol 2000; 113:429-52.
- Young DS. - AACC Press, 2<sup>nd</sup>ed, 1997.
- Guder WG. - Scand J Clin Lab Invest 1999; 59:545-50.
- Recommendations of the working group on preanalytical variables of the German Society for Clinical Chemistry and the German Society for Laboratory Medicine. Darmstadt, Germany: GIT, 2000.
- NCCLS. - Document SC2-L, 1999.
- Don BR, et al. - N Engl J Med 1990; 322:1290-92.
- Skinner SL, et al. - Lancet 1961; 1:478-80.
- Fujiwara P, et al. - N Engl J Med 1985; 313:1161-2. Letter to the editor.
- Pewarchuk W, et al. - Arch Pathol Lab Med 1992; 116:90-2.
- Rothenberg DM, et al. - JAMA 1990; 263:1121-2.
- Oesterling JE, et al. - Urology 1998; 51 (suppl 4-A):58-63.



## Homocisteína, ácido fólico y enfermedad cardiovascular

Comunicación de la  
*American Heart Association*

**L**a homocisteína es un aminoácido de la sangre. Estudios epidemiológicos han mostrado que niveles elevados de homocisteína en plasma se relacionan con un aumento en el riesgo de desarrollar enfermedad cardíaca coronaria, infarto o enfermedad vascular periférica (depósitos de grasas en las arterias periféricas).

Otras evidencias sugieren que la homocisteína puede tener un efecto sobre la aterosclerosis por daño de las paredes interiores de las arterias favoreciendo la formación de coágulos. Los niveles anormales de homocisteína parecen contribuir al proceso aterogénico en por lo menos tres formas: un efecto tóxico directo que daña las células de las paredes arteriales, interferencias con los factores de coagulación y oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL).

La determinación de homocisteína sérica se lleva a cabo sobre muestra obtenida luego de 12 horas de ayuno. Niveles entre 5 y 15  $\mu\text{mol/l}$  son considerados normales. Las concentraciones anormales se clasifican en moderadas, cuando oscilan entre 16 y 30  $\mu\text{mol/l}$ , intermedias entre 31 y 100  $\mu\text{mol/l}$ , y severas cuando superan los 100  $\mu\text{mol/l}$ .

El ácido fólico y otras vitaminas B colaboran en la disminución de la cantidad de homocisteína circulante. El nivel de este aminoácido en sangre está influenciado fuertemente por la dieta y factores genéticos. El ácido fólico de la dieta, así como la vitamina B6 y B12 son los que tienen mayores efectos sobre su concentración. Muchos estudios han encontrado que altos niveles de vitaminas B se relacionan con bajas concentraciones de homocisteína.

Otras evidencias indican que bajos niveles de ácido fólico se relacionan con alto riesgo de enfermedad coronaria fatal e infarto.

No existen evidencias todavía de la utilidad del uso de suplementos vitamínicos o de ácido fólico para reducir el riesgo de aterosclerosis, o que la ingesta de vitaminas afecte el desarrollo o la recurrencia de enfermedad cardiovascular. Los investigadores están tratando de encontrar en qué proporción el ácido fólico, la vitamina B6 o B12 son necesarias para reducir los niveles de homocisteína. La investigación de homocisteína en sangre puede ser útil en pacientes con historia familiar o personal de enfermedad cardiovascular, pero que no tienen otros factores de riesgo asociados (colesterol, tabaco, presión arterial, inactividad física, obesidad, diabetes).

A pesar de la evidencia de los beneficios de disminuir la concentración de homocisteína, los pacientes de alto riesgo deberían ser aconsejados acerca de ingerir una cantidad suficiente de ácido fólico y vitaminas B en la dieta. Idealmente, deberían consumirse 5 porciones de frutas o verduras de hoja diariamente. Este es sólo uno de los posibles factores de riesgo. El médico, por supuesto evaluará el estado nutricional del paciente junto al resto de los factores que afectan su condición.

La American Heart Association, no considera la hiperhomocisteinemia un factor de riesgo mayor. No recomienda una terapia con suplementos de vitaminas o ácido fólico para reducir el riesgo de enfermedad coronaria. Sin embargo aconseja una dieta saludable y balanceada que incluya vegetales y frutas. Para ácido fólico la cantidad diaria recomendada es de 400 microgramos.

En la actualidad se están llevando a cabo al menos 12 trabajos con más de 60.000 individuos, en USA, Canadá y Europa para examinar los efectos de la disminución de homocisteína en la incidencia de enfermedad coronaria e infarto.



### Agenda de Congresos

#### Argentina

- ✓ I Congreso Panamericano de Zoonosis
- V Congreso Argentino de Zoonosis
- II Congreso Bonaerense de Zoonosis

La Plata, 10, 11 y 12 de Mayo, 2006

Informes

[www.zoonosis2006.com](http://www.zoonosis2006.com)

#### Paraguay

- ✓ XVII Congreso Latinoamericano de Bioquímica Clínica
- IV Congreso Nacional de Bioquímica Clínica

Se llevará a cabo del  
4 al 7 de Abril de 2006 en  
Hotel Yacht y Golf Club  
Av. del Yacht n° 11 (Lambaré)  
Asunción

Organizan

Asociación de Bioquímicos  
del Paraguay  
COLABIOCLI

Contacto

Asociación de Bioquímicos  
del Paraguay

Azara 1175 c/Constitución

Asunción, Paraguay

TE: 595-21-223288

Fax: 595-21-207228

[fedqui@conexion.com.py](mailto:fedqui@conexion.com.py)  
[abpcongre2006@yahoo.com](mailto:abpcongre2006@yahoo.com)

Informes

[www.aefa.es](http://www.aefa.es)

#### Estados Unidos

- ✓ AACC 2006 Annual Meeting and Clinical Lab Exposition

Se llevará a cabo en Chicago  
del 23 al 27 de Julio de 2006

[www.aacc.org](http://www.aacc.org)