

PROTOCOLO PARA EL MANEJO DEL MATERIAL DE CONTROL INDEPENDIENTE SERACARE PARA PRUEBAS INFECCIOSAS

1. INTRODUCCION

La transfusión de sangre o hemoderivados es una importante alternativa terapéutica, sin embargo esta puede transmitir un gran número de infecciones denominadas ITT (infecciones transmisibles por transfusión), incluyéndose **el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), la hepatitis B y C, Chagas y Sífilis**, entre otras.

Las pruebas de tamizaje para marcadores de ITT cumplen una función muy importante en la selección de la unidad de sangre óptima para transfundir, pero existe un periodo de ventana antes que la prueba sea reactiva, luego de la infección, donde los microorganismos pueden estar presentes sin ser detectados. Con el fin de disminuir o evitar la transmisión y diseminación de estas infecciones a través de la transfusión de productos sanguíneos y la selección de donantes adecuados, los laboratorios y/o bancos de sangre deben al menos trazarse dos objetivos fundamentales:

1. **Obtener un producto terapéutico de la mayor calidad y seguridad posible.**
2. **Incorporar al sistema de atención y salud pública aquellos donantes de riesgo identificados durante el proceso de selección.**

La implementación de un sistema de garantía de calidad permite a los laboratorios y bancos de sangre, monitorear y reducir la frecuencia de errores por procedimientos equivocados, escasa organización de los documentos y/o defectos de reactivos y equipos. Dentro de este sistema, la implementación de un **control de calidad independiente** garantiza:

- **Bioseguridad**, al excluir la manipulación de materiales de pacientes
- Objetividad e **independencia** frente al proveedor de reactivos y equipos.
- **Control de la estabilidad del punto de corte** y del impacto de la medición sobre los resultados positivos cercanos a este con el uso del control positivo débil.
- Control de la **especificidad** y de los “ruidos” del método a través del uso del control negativo.
- Control de la **sensibilidad** con el uso del control positivo.

2. ALCANCE

Este protocolo aplica para las pruebas de **HIV, HTLV, HBsAg, HBc, HVC, Chagas y Sífilis** monitoreadas por medio del **control de calidad interno independiente SERACARE**.

3. OBJETIVO

Establecer los lineamientos técnicos-operativos para el uso del material de control de Seracare y sus diluciones, cuando se requiera, con el fin de obtener un control positivo débil que permita controlar la estabilidad del punto de corte y el impacto de la medición sobre los resultados positivos cercanos a este.

4. DOCUMENTOS ASOCIADOS

- Protocolo de estandarización y manejo del control de calidad interno independiente o de tercera opinión Seracare en los bancos de sangre. Alba Cecilia Garzón.
- Guía CLSI EP 15A
- Guía CLSI EP 14 A2 – Evaluación del efecto de matriz
- Estándares de CLIA
- Insertos técnicos de los controles de calidad independientes de Seracare
- Catálogo del material de dilución de controles Seracon de Seracare

- Catálogo de los Equipos.
- Insertos técnicos de las pruebas.
- Manual de procedimientos de control calidad para los laboratorios de serología de los bancos de sangre de la OPS.
- Documento técnico de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular “Procedimiento para la verificación del punto de corte de los exámenes cualitativos en el laboratorio clínico”

5. TERMINOS Y DEFINICIONES

Materiales de control independiente Seracare: Sueros de control no valorados, diseñados por series, para controlar múltiples métodos e instrumentos, fabricados de manera independiente a cualquier instrumento, reactivo o método.

Características:

- Niveles dirigidos específicamente para ser reactivos en un rango relevante
- Valoración en tiempo real por **grupo par**, entendiendo como *grupo par* o *peer group*, aquel que comparte **iguales** características metrológicas: método, equipo y unidades de medición.
- El mismo lote de control puede ser usado para evaluar múltiples lotes de reactivo.
- Diferentes a los controles y calibradores del kit de reactivo.
- Pueden ser tratados igual que una muestra desconocida.

Beneficios:

- Detectan cambios en reactivos, integridad del instrumento y calibración.
- Permiten un monitoreo a largo plazo del desempeño de la prueba.
- Dan seguimiento a la exactitud y precisión del sistema de medición de la prueba.
- Identifican desplazamientos entre diferentes lotes de reactivos.

Matriz: “Todos los componentes de un sistema material, excepto el analito.” [CLSI] Se utiliza para referirse a la naturaleza física y química de la muestra, las sustancias.

Alícuota: Parte de un todo con la misma composición. Término general que se refiere a una parte de una solución, muestra, mezcla, etc.

Conmutabilidad: Característica que tiene una matriz que asociada o en combinación con otro material, no produce cambios numéricos adicionales, ni produce disminución o aumento de la respuesta instrumental del parámetro medido debido a la presencia de otros componentes.

6. PROCEDIMIENTO OPERATIVO DE LAS DILUCIONES DEL CONTROL INDEPENDIENTE SERACARE

6.1 FACTORES A CONSIDERAR

- Leer siempre el inserto del material de control de calidad independiente antes de iniciar su uso.
- Los controles vienen de formato líquido, no se recomienda realizar múltiples ciclos de congelación-descongelación.
- Los controles independientes Seracare se deben titular antes de realizar el proceso de dilución, es decir se debe establecer sus límites de desempeño bajo las condiciones específicas, estandarizadas y propias de operación del laboratorio o banco de sangre.
- **La reactividad deseada de los controles independientes de Seracare debe ser establecida por el laboratorio o banco de sangre de acuerdo a diferentes factores que entre otros pueden incluir: criterios regulatorios, protocolos de control de calidad, política de calidad etc. En la literatura no se define el título de reactividad del control positivo débil para cada marcador infeccioso sin embargo, en el contexto Colombiano, las instituciones de vigilancia y control recomiendan que el control positivo independiente debe tener una reactividad menor a la obtenida con el control positivo suministrado por el fabricante del reactivo. Desde el punto de vista**

estadístico, si el punto de corte ó cutoff de la prueba define su límite de detección, el valor a obtener para el control positivo débil debe estar entre 3 y 5 veces respecto al valor del punto de corte. En aquellos casos donde se evidencie que el valor del lote del control de calidad independiente Seracare no se ajusta a la reactividad deseada por el laboratorio o banco de sangre se pueden realizar diluciones del mismo control con el fin de ajustarlo al criterio establecido.

- Seracare garantiza la estabilidad en la reacción del control y su uso correcto permite identificar los cambios de reactividad que genera el cambio de lote de reactivo.
- Los controles de Seracare NO deben sustituir a los controles positivo y negativo incluidos en el kit de reactivo para análisis de las pruebas que se procesan.
- Los controles independientes de Seracare están fabricados con base en una matriz humana y deben ser considerados como material potencialmente infeccioso y por lo tanto se deben seguir las medidas establecidas en el **manual de bioseguridad** vigente.
- Si va a alicuotar el control, antes de preparar las alícuotas, se recomienda realizar una mezcla homogénea del contenido del vial de control y luego servir las para su posterior medición.
- Se recomienda preparar el número de alícuotas dependiendo del volumen de muestra que tome el equipo de medición para cada marcador teniendo en cuenta siempre el volumen muerto que requiere su sistema de pipeteo.
- Las alícuotas de los controles deben ser enumeradas con el fin de procesarlas en orden y evaluar su estabilidad en las condiciones de almacenamiento propias de cada laboratorio.

6.2 PREPARACION Y ALMACENAMIENTO DE SUEROS DE CONTROL SERACARE

- Al recibir los controles por parte del proveedor revisar que estos vienen en las condiciones de almacenamiento adecuadas según el inserto técnico, este lo puede encontrar en la WEB: www.seracare.com.
- Los controles son estables en el vial original sin abrir hasta la fecha de expiración que aparece en la caja, almacenados de 2° a 8°C. No utilice los controles de Seracare después de la fecha de caducidad.
- Con el fin de optimizar el uso de los controles independientes de Seracare, estos se pueden almacenar en alícuotas, para tal efecto se deben seguir los siguientes lineamientos:
 - Utilizar siempre puntas de pipetas nuevas.
 - Utilizar viales nuevos, preferiblemente estériles, ya sean tubos eppendorf (balas) o crioviales.
 - Garantizar que el contenido sea ¾ partes de suero control y ¼ parte de oxígeno.
 - Numerar cada alícuota y escriba la fecha en que se realizó.
 - Disponer los viales de las alícuotas en forma vertical y almacenarlos a una temperatura no mayor a -20°C en una gradilla que permita el flujo de aire alrededor de los viales. NO ALMACENAR EN SOPORTES DE ICOPOR.
 - Cuando vaya a procesar las alícuotas de control, páselas del congelador (-20°C) a refrigeración y manténgalas allí hasta que se descongelen (máximo 20 minutos), retírelas del refrigerador y llévelas a temperatura ambiente durante mínimo 20 minutos antes de usar, este procedimiento minimiza el shock térmico y asegura la estabilidad de los marcadores infecciosos presentes en el control.
 - Mezclar cada alícuota cuidadosamente antes de utilizarla.
 - Una vez usada la alícuota de control no utilice ni vuelva a congelar cualquier posible remanente, descártelo siguiendo los procedimientos establecidos para tal efecto.
- Los controles independientes de Seracare deben procesarse siguiendo exactamente el mismo procedimiento proporcionado por

el fabricante para muestras desconocidas o de pacientes.

- Evite la contaminación de los controles al abrir y cerrar los viales.
- Cuando se procesen los controles sin realizar las alícuotas, se debe esperar que estén a temperatura ambiente y refrigerar inmediatamente después de su uso.

6.3 REALIZACION DE LAS DILUCIONES:

El material de dilución debe tener como característica la conmutabilidad, como lo refiere la **GUIA de IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry)** y la **GUIA del CLSI EP 14A (Evaluation of Matrix Effects)**, ya que por lo generar el efecto de matriz provoca errores sistemáticos proporcionales que pueden influir en los resultados obtenidos en la medición.

Trueness, traceability, and commutability are of current interest, collectively and independently, to help achieve consistent and accurate clinical measurements for patient benefit, regardless of where a measurement procedure is performed. The protocols in EP14 have been suggested as useful for identifying commutable materials.⁴ Although we do see the potential for such use, we are cautious in

Guía EP14 A2

Como material de dilución se emplea los diluyentes SERACON y BASEMATRIX, fabricados y recomendados por Seracare como material base para realizar la dilución de controles y calibradores (**ver catálogo SERACON/BASEMATRIX**).

Applications

- Processed human plasma is an industry proven human serum substitute
- Well suited for diluent as a base matrix in preparing controls and calibrators

Catálogo de SERACON/BASEMATRIX (www.seracare.com)

- Seguir las instrucciones y recomendaciones de uso del control independiente Seracare.
- Mezclar homogéneamente el control sin generar burbujas
- Procesar directamente el control, para determinar la concentración inicial del ensayo.
- Si el valor obtenido se encuentra fuera de la reactividad deseada, realizar diluciones del control con el diluyente SERACON™/BASEMATRIX™ de Seracare, hasta determinar el título de dilución que se ajuste a la reactividad deseada (**revise abajo el punto 6.4: uso y almacenamiento del diluyente seracon**). **Ejemplo:**

Dilución:	1:2	1:3	1:4	1:5	1:10	1:20
Volumen control Accurun Seracare	150 uL	100 uL	75 uL	60 uL	30 uL	15 uL
Volumen diluyente Seracon	150 uL	200 uL	225 uL	240 uL	270 uL	285 uL
Volumen final dilución	300 uL	300 uL	300 uL	300 uL	300 uL	300 uL

- Luego de realizar las diluciones y determinar el título con el resultado deseado, la dilución útil debe ser validada bajo condiciones de reproducibilidad, para lo cual se realizará el procesamiento de los controles diluidos por triplicado durante 5 días de acuerdo al protocolo de la **Guía CLSI EP 15A2**.

Volume 25	EP15-A2
8.2 Specific Procedures	
(1) Analyze one run per day with three replicate samples at each of two concentrations daily for five days.	

Guía CLSI EP15A2

- Prepare el material de control diluido de acuerdo a sus necesidades.

7. El material de control diluido es estable 60 días almacenado de 2° a 8°C, libre de contaminación. NO LO CONGELE.

6.4 USO Y ALMACENAMIENTO DEL DILUYENTE

- Usted recibirá el material de dilución SERACON en presentación de 1 vial x 2.0 ml, ó el BASEMATRIX en presentación de 1 vial x 3.5 ml congelado; al recibirlo, manténgalo congelado a -20°C hasta el momento de usarlo.
- Para realizar las diluciones retire el SERACON/BASEMATRIX del congelador y llévelo a temperatura ambiente antes de usarlo.
- Prepare las diluciones de acuerdo al procedimiento establecido más arriba.
- Una vez establecido el título de la dilución, utilice el material SERACON/BASEMATRIX para preparar la cantidad necesaria de control diluido con el fin de utilizarlo en sus procedimientos rutinarios de control de calidad.
- Mantenga refrigerado el remanente de SERACON/BASEMATRIX para uso futuro, este es estable durante 60 días entre 2°-8°C, libre de contaminación. NO VUELVA A CONGELARLO.

7. BIBLIOGRAFIA

1. *Protocolo para la estandarización y manejo del control de calidad interno independiente o de tercera opinión en los bancos de sangre.* Alba Cecilia Garzón. Bacterióloga UCMC.
2. *Calidad analítica en el laboratorio clínico gestión y control versión II* Alba C. Garzón G. Bacterióloga UCMC.
3. *Manual de procedimientos y control de calidad en inmuno-serología para centros de hemoterapia y bancos de sangre.*
4. *Guía EP23-A control de calidad del laboratorio basado en administración de riesgo, estándares del laboratorio clínico.*
5. *Guía EP12-A2 User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; approved Guideline - Second Edition.*
6. *Guía EP 15 – A2: Verificación del Desempeño del Método para Precisión y Veracidad.*
7. *Insertos técnicos de los controles de calidad independientes de Seracare: Accurun.* www.seracare.com.
8. *Catálogo del material de dilución Seracon de Seracare.* www.seracare.com.
9. *ISO 15189:2007 Laboratorios Clínicos. Requisitos Particulares para la Calidad y la Competencia.*
10. *CLSI/NCCLS C24a2 Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions; Approved Guideline.*
11. *CLSI/NCCLS. Ep5-A2 Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline, 2ndEd.*
12. *NTC 2194 Vocabulario y términos básicos y generales en metrología.*
13. *Mazziotta Daniel, Gestión de la Calidad en el Laboratorio Clínico, 244 – 247*
14. *Clinical Laboratory Improvement Act; Federal Register, Feb 28, 1992, vol. 57 (40): 7149-7184 and Federal Register, Jan 19, 1993, vol. 58(11): 5230-5232.*
15. *Fraser, CG. Analytical Goals are Applicable to All. J Int Fed Clin Chem. 1990; 2(2): 84-86.*

Este documento ha sido preparado por los departamentos científicos y técnicos de Seracare Life Sciences, ACG Ltda y Labcare de Colombia Ltda, su uso, distribución y aplicación se limita exclusivamente a los productos, marcas y procedimientos aquí descritos. Para cualquier inquietud contacte a Labcare de Colombia Ltda autopista Medellín km 2.5 centro empresarial portos sabana 80 bodega 97 Cota Cundinamarca Colombia tel: + 57 1 8985201 email: resultados@labcarecolombia.com www.labcarecolombia.com