

Procedimientos en Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades
Infecciosas y Microbiología Clínica

Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón

32.

**Recomendaciones para la
implantación de la normativa de
calidad ISO 15189 en el
Laboratorio de Microbiología
Clínica: bacteriología y serología**

2 0 0 9

Coordinador: **María Dolores Rojo Martín**

Autores: **Juan Manuel Aguiar Merino
Emilia Cercenado Mansilla
Fernando de Ory Manchón
María Dolores Rojo Martín
Manuel de la Rosa Fraile**



ISBN-978-84-613-1896-4

ÍNDICE DEL DOCUMENTO CIENTÍFICO

1. Introducción. Normativa aplicable

2. Definición de alcances

2.1. Definición de alcances en bacteriología

2.1.1. Utilización de pruebas adecuadas para el diagnóstico microbiológico

2.1.2. Contenido mínimo de los estudios bacteriológicos

2.1.2.1. Orinas

2.1.2.2. Heces

2.1.2.3. Muestras respiratorias y exudado ótico

2.1.2.4. Muestras genitales de pacientes con infecciones de transmisión sexual o con otras infecciones genitales y detección de gestantes portadoras de *Streptococcus agalactiae*

2.1.2.5. Líquido cefalorraquídeo (LCR)

2.1.2.6. Hemocultivos

2.1.2.7. Puntas de catéteres intravasculares

2.1.2.8. Líquidos biológicos normalmente estériles (ascítico, peritoneal, pleural, articular, etc.)

2.1.2.9. Exudado conjuntival

2.1.2.10. Miscelánea: abscesos, colecciones purulentas, úlceras, exudados de heridas superficiales y profundas, exudados umbilicales, otros exudados

2.2. Definición de alcances en serología

2.2.1. Analito objeto del ensayo

2.2.2. Tipo de muestra sobre la que se van a realizar las determinaciones

2.2.3. Metodología empleada

3. Elaboración y control de la documentación

3.1. Manual de calidad

3.2. Manual de extracción y transporte de muestras

3.3. Cartera de servicios

3.4. Procedimientos de gestión o procedimientos generales

3.5. Procedimientos normalizados de trabajo (PNT)

3.6. Registros

3.7. Formularios

3.8. Listado de documentos en vigor

4. Requisitos del ensayo o análisis microbiológico

4.1. Fase preanalítica

4.1.1. Hoja de petición

4.1.2. Obtención de muestras

4.1.3. Transporte de muestras

4.1.4. Recepción de muestras. Criterios de aceptación/rechazo

4.1.5. Preparación de las muestras

4.1.6. Conservación de las muestras tras su procesamiento

4.2. Fase analítica

4.2.1. Procedimientos normalizados de trabajo: PNT

4.2.2. Validación de métodos

4.2.2.1. Bacteriología

4.2.2.2. Serología

4.3. Fase postanalítica

4.3.1. Revisión y validación de los resultados

4.3.2. Informes

4.3.3. Información telefónica

4.3.4. Informes modificados

4.3.5. Distribución y archivo de informes

4.3.6. Almacenamiento de muestras y gestión de residuos

5. Aseguramiento de la calidad: control de calidad interno

5.1. Bacteriología

5.1.1. Medios de cultivo

5.1.1.1. Medios de cultivo comerciales

5.1.1.2. Medios de cultivo preparados en el laboratorio

5.1.2. Reactivos

5.1.3. Cepas de referencia

5.1.3.1. Obtención de las cepas de referencia

5.1.3.2. Mantenimiento y utilización de las cepas de referencia

5.1.4. Antibiograma

5.1.5. Sistemas automatizados: sistemas de identificación y antibiograma

5.1.6. Sistemas automatizados: hemocultivos

5.2. Serología

6. Aseguramiento de la calidad. Control de calidad externo: intercomparaciones

7. Equipos

- 7.1. Conceptos
- 7.2. Control de equipos
 - 7.2.1. Recepción, validación y puesta en uso de los equipos
 - 7.2.2. Expediente e inventario de equipos
 - 7.2.3. Revisión de equipos
 - 7.2.3.1. Validación (caracterización, calibración) y verificación
 - 7.2.3.2. Mantenimiento

8. Personal: requisitos

- 8.1. Formación inicial
- 8.2. Cualificación y competencia
- 8.3. Formación continuada

9. Sistemas de información

- 9.1. Confidencialidad
- 9.2. Trazabilidad
- 9.3. Manual de procedimientos
- 9.4. Validación del sistema informático

10. Servicios externos: suministros

- 10.1. Gestión de pedidos
- 10.2. Evaluación de proveedores

11. Análisis realizados por laboratorios externos

12. Mejora continua: sistemas de evaluación

- 12.1. Tratamiento de desviaciones
- 12.2. Auditorías internas
 - 12.2.1. Programa de auditoría
 - 12.2.2. Desarrollo de la auditoría: informe de auditoría
- 12.3. Revisión por dirección
- 12.4. Indicadores

13. Bibliografía

ÍNDICE DE LOS DOCUMENTOS TÉCNICOS

- 1. PNT-ACR-01. Determinación de la incertidumbre de medida en termómetros

Procedimientos en Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades
Infecciosas y Microbiología Clínica

Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón

32. RECOMENDACIONES PARA LA IMPLANTACIÓN DE LA NORMATIVA DE CALIDAD ISO 15189 EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA: BACTERIOLOGÍA Y SEROLOGÍA. 2009

Coordinador: María Dolores Rojo Martín

**Autores: Juan Manuel Aguiar Merino
Emilia Cercenado Mansilla
Fernando de Ory Manchón
María Dolores Rojo Martín
Manuel de la Rosa Fraile**

1. INTRODUCCIÓN. NORMATIVA APLICABLE

La **acreditación** es el procedimiento por el cual un organismo autorizado reconoce formalmente que una entidad o persona es competente para llevar a cabo unas tareas específicas. Es un mecanismo transparente para que cualquier organización pueda demostrar su competencia con respecto a normas y guías internacionalmente reconocidas y aceptadas. Es una manera segura de identificar a aquellos que ofrecen sus servicios con una fiabilidad máxima.

En el marco de la asistencia sanitaria existe una apuesta clara por alcanzar y demostrar la calidad en los servicios prestados. Según la Comisión Europea es una prioridad garantizar unos servicios de salud de alta calidad a los ciudadanos europeos. En nuestro país desde el Ministerio de Sanidad y Consumo y los órganos competentes de las Comunidades Autónomas se fomenta la evaluación periódica y externa de la calidad y la seguridad de los centros mediante auditorías por parte de las instituciones públicas o privadas que garanticen una evaluación independiente (Ley 16/2003 de Cohesión y Calidad del Sistema Nacional de Salud).

El reconocimiento formal por una entidad evaluadora, autorizada para ello, de la aptitud de un laboratorio clínico para realizar un ensayo o conjunto de ensayos determinados se denomina **Acreditación de un laboratorio**. A diferencia de la certificación, que no presupone la calidad del producto, la acreditación confirma la competencia técnica y esto lleva implícito haber superado un listón mínimo de calidad.

En España el organismo evaluador autorizado es la Entidad Nacional de Acreditación, ENAC, organización declarada de utilidad pública, independiente y sin ánimo de lucro, auspiciada y tutelada por la Administración, cuya función es establecer y mantener el sistema de acreditación a nivel nacional, de acuerdo a normas internacionales, siguiendo en todo momento las políticas y recomendaciones establecidas por la Unión Europea.

Las acreditaciones de ENAC disponen de reconocimiento internacional, al ser firmante de todos los acuerdos multilaterales de reconocimiento (MLA) en el seno de EA (*European Cooperation for Accreditation*), ILAC (*International Laboratories Accreditation Cooperation*) e IAF (*International Accreditation Forum*).

Actualmente, los laboratorios de Microbiología que deseen acreditarse deben cumplir los requisitos establecidos en la norma **UNE-EN-ISO 15189:2007**. "Laboratorios clínicos. Requisitos particulares para la calidad y la competencia". Esta norma anula y sustituye a la norma UNE-EN ISO 15189:2003; si bien no se han producido cambios significativos entre las dos versiones, la norma de 2007 incluye fundamentalmente modificaciones en la redacción de algunos apartados y correcciones gramaticales, que no afectan a los requisitos técnicos.

La norma ISO 15189 está basada en las normas ISO/IEC 17025:2005. "Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración"

e ISO 9001:2000. "Sistemas de Gestión de la calidad. Requisitos".

La implantación de esta norma en los laboratorios de Microbiología Clínica garantiza que los ensayos acreditados se lleven a cabo con un alto grado de calidad y que se acompañen de una mejora en el servicio ofrecido al paciente así como de una mejora en la sistemática de trabajo, que facilite la labor al personal del laboratorio. La norma incluye los requisitos de gestión exigidos por la norma ISO 9001:2000, y además incluye la evaluación de la competencia técnica del laboratorio, haciendo hincapié en:

- la cualificación, formación, experiencia y competencia del personal y definición de responsabilidades,
- instalaciones y condiciones ambientales,
- métodos de ensayo apoyados científicamente o desarrollados por el laboratorio siempre que sean validados,
- control de datos, equipos y normalización de informes de resultados,
- participación en programas de intercomparaciones (control de calidad externo).

Como cualquier documento de este tipo, tras su lectura resulta difícil incorporar a nuestra práctica diaria conceptos como trazabilidad, incertidumbre, no conformidad, validación, verificación, etc. Se hace necesario, por tanto, para aquellos laboratorios que quieran emprender un proceso de acreditación, un documento o guía que adapte los requisitos de la norma ISO 15189 a la realidad de los laboratorios de Microbiología y que se centre en los requerimientos más importantes y la forma de aplicarlos en el día a día, siendo éste el objeto del presente documento.

Una vez que un laboratorio de Microbiología Clínica decide acreditarse, el primer paso es definir el alcance o conjunto de ensayos para los que se solicita la acreditación y planificar el proceso con cronograma incluido; a continuación, se debe elaborar la documentación necesaria (manual de calidad, procedimientos de gestión, técnicos, etc.), dar la formación necesaria al personal e implantar el sistema de calidad. Una vez implantado, habrá que revisar el sistema mediante una auditoría interna y corregir las desviaciones que se detecten. En este momento, el laboratorio estará preparado para la auditoría de ENAC, que tiene la última palabra para reconocer formalmente que el laboratorio es competente para realizar los ensayos seleccionados.

A continuación se desarrollarán una serie de puntos intentando seguir esta sucesión de fases del proceso de acreditación, para entender las actividades a desarrollar en cada una de ellas, dándoles un enfoque práctico. No se van a tratar todos los puntos de la norma ISO 15189, sino solamente aquellos que pueden crear más dificultades a la hora de ponerlos en práctica. En este documento se hace una aproximación a la acreditación de ensayos de bacteriología y serología (algunos ensayos de microbiología molecular, como por ejemplo, la determinación de cargas víricas, se podrían equiparar a estos últimos). Los requisitos de

gestión se tratarán de manera general, ya que son los mismos para cualquier laboratorio de Microbiología; los aspectos técnicos específicos relativos a cada tipo de ensayos (bacteriología o serología) se tratarán de manera diferenciada en los apartados donde proceda.

2. DEFINICIÓN DE ALCANCES

Se denomina **alcance de acreditación** al conjunto de ensayos para los que el laboratorio ha demostrado su competencia técnica. Debe describirse de forma que sea posible establecer de manera precisa y sin ambigüedades los tipos de ensayos cubiertos por la acreditación del laboratorio.

2.1. DEFINICIÓN DE ALCANCES EN BACTERIOLOGÍA

2.1.1. Utilización de pruebas adecuadas para el diagnóstico microbiológico. La exactitud y el valor clínico de las pruebas que el laboratorio realiza sobre la muestra clínica y sobre el microorganismo aislado dependen de la calidad de la muestra, del tipo de pruebas realizadas sobre la misma y de las técnicas utilizadas para la realización de las pruebas. Para ello es necesario establecer unas normas que establezcan lo que es una prueba inadecuada y definir las pruebas adecuadas para tipos específicos de muestras. Asimismo, se deben especificar los criterios para realizar una prueba adecuada y proporcionar información para evitar las deficiencias en la solicitud de pruebas. Por ejemplo, hay que tener en cuenta que la piuria es un hallazgo importante para solicitar e interpretar un cultivo de orina; la realización de un urocultivo sin estudiar la piuria en pacientes con sospecha de infección urinaria puede comprometer su interpretación. Otro ejemplo de inadecuada realización de una prueba, debido a su bajo rendimiento, es la solicitud de coprocultivo y de búsqueda de parásitos en heces en pacientes que llevan hospitalizados más de 3 días, así como la no solicitud de toxina de *Clostridium difficile* en pacientes hospitalizados con diarrea. También es inadecuado cultivar más de una muestra del mismo origen y obtenida por el mismo método en el mismo día (con la excepción de hemocultivos, LCR y heces). Tampoco se deben realizar pruebas microbiológicas en muestras que son inherentemente de baja calidad y su examen microbiológico produce una información inútil; tal es el caso de los cultivos de úlceras de decúbito, lesiones periodontales, abscesos perirectales, puntas de sondas de Foley, abscesos pilonidales, loquios, vómitos, placenta (eliminada por vía vaginal) y el cultivo de exudados bucales y de contenido intestinal para investigación de bacterias. En algunas ocasiones se puede almacenar sin procesar una muestra inadecuada hasta que se notifique este hecho al clínico responsable del paciente y se tome un acuerdo.

2.1.2. Contenido mínimo de los estudios bacteriológicos. El alcance de un estudio bacteriológico se refiere al conjunto de requisitos, en cuanto a tipo de muestras, estudios a realizar y

métodos a emplear, que debe tener dicho estudio para que su utilización sea adecuada. A continuación se definen los contenidos mínimos para los estudios bacteriológicos más frecuentes. Algunos son fáciles de delimitar y se consideran obligados, mientras que otros pueden considerarse optativos y podrían ser motivo de opinión entre los profesionales. En este documento siempre que se refiere a un estudio como optativo se debe tener en cuenta que el laboratorio debe tener capacidad para poder realizarlo siempre que sea necesario y que se disponga de datos complementarios o de la información adecuada referente a las características del paciente en la solicitud de la prueba. Es importante aclarar que este documento se centra en los estudios bacteriológicos y no incluye estudios de otras áreas dentro de la Microbiología Clínica (Micología, Parasitología, Virología), del mismo modo que quedan excluidas las técnicas de Micobacteriología. Sin embargo, el estudio microbiológico de ciertas muestras carece de sentido si no se realiza un enfoque de los diferentes patógenos que pueden estar implicados (fúngicos, parasitarios o víricos), en cuyo caso se hacen las correspondientes excepciones.

2.1.2.1. Orinas

a) Estudios obligados:

- Cultivo cuantitativo, identificación y estudio de sensibilidad de gramnegativos (enterobacterias, no fermentadores) y grampositivos (estafilococos, estreptococos, enterococos, corinebacterias).
- Cultivo cuantitativo de levaduras.

Se debe realizar un sedimento de orina (principalmente para la determinación de piuria). Si esta prueba no se realiza en el laboratorio de Microbiología es conveniente indicar al clínico la necesidad de solicitarlo para evaluar correctamente el resultado del urocultivo.

b) Estudios optativos:

- Pruebas de cribado (*screening* de orina) como prueba adicional al urocultivo.
- Observación microscópica directa (examen en fresco o tras tinción).
- Pruebas de sensibilidad de levaduras a antifúngicos.

2.1.2.2. Heces

a) Estudios obligados:

- Cultivo en medios adecuados para el aislamiento, identificación y estudio de sensibilidad de bacterias de los géneros *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Aeromonas*, *Vibrio* (incluyendo *Vibrio cholerae*) y *Campylobacter*. La utilización adicional de medios específicos para el cultivo de *Aeromonas*, *Yersinia* y *Vibrio* solamente se realizará tras valoración previa de su necesidad en cada laboratorio o en situaciones en las que se sospeche una epidemia.
- Serotipificación básica de *Salmonella* y *Shigella* (serogrupo).
- Detección de la(s) toxina(s) de *Clostridium difficile* en heces, o el cultivo de *C. difficile* con demostración de la toxigenicidad de las cepas a partir de muestras de heces de pacientes con gastroenteritis en los que se solicite (principalmente pacientes hospitalizados).

b) Estudios optativos:

- Detección de cepas de *Escherichia coli* diarreagénicas (principalmente de *E. coli* O157:H7).
- Observación microscópica directa de heces (tinción de Gram o azul de metileno para observación de leucocitos).

2.1.2.3. Muestras respiratorias y exudado ótico

Exudado faríngeo

a) Estudios obligados: aislamiento e identificación de *Streptococcus pyogenes*.

b) Estudios optativos: detección de antígeno de *S. pyogenes*, aislamiento e identificación de *Streptococcus* del grupo C y cultivo e identificación de *Corynebacterium diphtheriae* bajo solicitud específica.

Exudado nasofaríngeo

a) Estudios obligados: aislamiento e identificación de *Bordetella pertussis* o detección mediante PCR.

b) Estudios optativos: detección de antígeno de *B. pertussis* mediante inmunofluorescencia directa, estudio de sensibilidad de *B. pertussis* en caso de fracaso terapéutico.

Exudado nasal (estudio de portador de *Staphylococcus aureus*)

a) Estudios obligados: aislamiento e identificación de *S. aureus* y estudio de sensibilidad a la meticilina o detección mediante PCR de *S. aureus* y de *S. aureus* resistente a la meticilina.

b) Estudios optativos: estudio de sensibilidad de *S. aureus* a diferentes antimicrobianos.

Muestras de las vías respiratorias inferiores: esputo, aspirado traqueal, broncoaspirado (BAS), lavado bronco-alveolar (LBA), cepillado bronquial

a) Estudios obligados:

- Examen microscópico tras tinción de Gram (en el caso de los esputos servirá como prueba de cribado para la realización o no realización posterior del cultivo),
- Cultivo semicuantitativo o cuantitativo en medios adecuados para el aislamiento, identificación y estudio de sensibilidad de: *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus* spp., bacilos gramnegativos fermentadores y no fermentadores, y otros grampositivos causantes de neumonía.
- Aislamiento e identificación del género *Legionella* si existe sospecha clínica y epidemiológica (alternativamente se puede realizar la detección de antígeno de *Legionella* en orina).
- Aislamiento e identificación del género *Nocardia*, si existe sospecha clínica y epidemiológica.

b) Estudios optativos:

- Cultivo de hongos y/o micobacterias si hay sospecha clínica.
- Cultivo de anaerobios en las muestras de cepillado bronquial.

Exudado ótico

a) Estudios obligados:

- Cultivo en medios adecuados para aislamiento e identificación de bacterias aerobias y anaerobias facultativas.

- Pruebas de sensibilidad a antimicrobianos siempre que sea clínica y/o microbiológicamente pertinente.

b) Estudios optativos: cultivo de hongos ante sospecha clínica.

2.1.2.4. Muestras genitales de pacientes con infecciones de transmisión sexual (ITS) o con otras infecciones genitales y detección de gestantes portadoras de *Streptococcus agalactiae*

Nota: en todos los pacientes con sospecha de infección de transmisión sexual se debe incluir el estudio de *Treponema pallidum*, tanto mediante pruebas serológicas como por visualización directa en microscopía de campo oscuro si existe sospecha clínica.

Exudado vaginal (incluye patógenos fúngicos y parasitarios)

a) Estudios obligados:

- Examen microscópico directo para valoración celular (*clue cells*), de bacterias y hongos (lactobacilos, levaduras, etc.) y de parásitos (*Trichomonas*).
- Cultivo en medios adecuados para el aislamiento e identificación de levaduras.
- Cultivo en medios adecuados para identificación y estudio de sensibilidad de *Neisseria gonorrhoeae* (en niñas).
- En mujeres gestantes: cultivo en medios adecuados para la detección de portadoras de *S. agalactiae*. El cultivo vaginal se debe complementar con la investigación de *S. agalactiae* en muestras de exudado rectal.

b) Estudios optativos:

- Pruebas de sensibilidad de *S. agalactiae* en casos seleccionados (pacientes alérgicas a los betalactámicos, o en situaciones clínicas especiales).
- Pruebas de sensibilidad de levaduras en casos seleccionados (sospecha de resistencia a antifúngicos).
- Cultivo de *Gardnerella vaginalis* y de otros agentes causales de vaginosis en medios adecuados.

Exudado de cuello uterino (endocervical)

a) Estudios obligados:

- Cultivo en medios adecuados para la identificación y estudio de sensibilidad de *N. gonorrhoeae*.
- Detección de *Chlamydia trachomatis* mediante cultivo o detección de antígeno.

b) Estudios optativos:

- Detección de micoplasmas genitales (*Ureaplasma urealyticum* / *Mycoplasma hominis* cuantificados).
- Detección de *N. gonorrhoeae* y de *C. trachomatis* mediante técnicas de amplificación genómica.

Exudado uretral

a) Estudios obligados:

- Cultivo en medios adecuados para la identificación y estudio de sensibilidad de *N. gonorrhoeae*.
- Detección de *C. trachomatis* mediante cultivo o detección de antígeno.

b) Estudios optativos:

- Detección de micoplasmas genitales (*U. urealyticum* / *M. hominis* cuantificados).
- Detección de *N. gonorrhoeae* y de *C. trachomatis* mediante técnicas de amplificación genómica.

Semen (solamente para diagnóstico de prostatitis y estudio de infertilidad)

a) Estudios obligados:

- Cultivo en medios adecuados para la identificación y estudio de sensibilidad de *N. gonorrhoeae*.
- Detección de *C. trachomatis* mediante cultivo o detección de antígeno.
- Detección de micoplasmas genitales (*U. urealyticum* / *M. hominis* cuantificados).

b) Estudios optativos:

- Cultivo cuantitativo en medios habituales para el aislamiento e identificación de enterobacterias, bacilos gramnegativos no fermentadores y grampositivos (en caso de sospecha clínica de prostatitis).
- Detección de *N. gonorrhoeae* y de *C. trachomatis* mediante técnicas de amplificación genómica.

En el estudio de prostatitis el semen analizado como muestra única no tiene valor, por lo que su cultivo cuantitativo se debe valorar en comparación con el cultivo cuantitativo de dos muestras de orina (pre-masaje prostático y post-masaje prostático).

Exudado rectal

a) Estudios obligados:

- Cultivo en medios adecuados para identificación y estudio de sensibilidad de *N. gonorrhoeae* (si se sospecha ITS).
- Cultivo e identificación de *S. agalactiae* conjuntamente con el estudio en muestra de exudado vaginal en medios adecuados (en mujeres gestantes).

b) Estudios optativos: cultivo en medios adecuados para la detección de portadores de enterobacterias productoras de beta-lactamasas de espectro extendido, de portadores de enterococos resistentes a vancomicina y de portadores de *Acinetobacter baumannii* multirresistente en situaciones de brotes epidémicos.

2.1.2.5. Líquido cefalorraquídeo (LCR)

a) Estudios obligados:

- Examen microscópico directo (tinción de Gram) para observación de celularidad y microorganismos.
- Cultivo en medios adecuados para aislamiento, identificación y estudio de sensibilidad a antimicrobianos de patógenos meníngeos habituales (*Neisseria meningitidis*, *S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, *S. agalactiae*, enterobacterias, *Cryptococcus* y otras levaduras) y de cualquier otro patógeno grampositivo o gramnegativo no incluido en la relación anterior y susceptible de producir meningitis.

b) Estudios optativos:

- Detección de antígenos bacterianos de *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* y *H. influenzae*.
- Tinta china para visualización de la cápsula de *Cryptococcus* spp.
- Realización de pruebas de sensibilidad directa a antimicrobianos en LCR mediante Etest ante una visualización positiva en la tinción de Gram.
- Detección de antígenos víricos mediante PCR ante sospecha clínica.

- Detección de antígenos bacterianos mediante técnicas de amplificación genómica.
- Cultivo de micobacterias si existe sospecha clínica. Es inadecuado en muestras con recuentos celulares, glucosa y proteínas normales.

2.1.2.6. Hemocultivos

La mayoría de los laboratorios de Microbiología utilizan sistemas automatizados para la realización del hemocultivo. Cuando el sistema automatizado alerta sobre la positividad del hemocultivo se realizarán tinciones y subcultivos en medios sólidos que permitan la detección de cualquier microorganismo susceptible de producir bacteriemia.

a) Estudios obligados:

- Examen microscópico del hemocultivo (tinción de Gram).
- Cultivo en medios sólidos para detección de bacterias aerobias, anaerobias y microaerófilas, y cuando proceda, de hongos filamentosos y levaduras.
- Realización de antibiograma directo del hemocultivo en medios adecuados (información preliminar y presuntiva, necesaria su confirmación con método estándar de antibiograma).

b) Estudios optativos:

- Detección de antígenos en el hemocultivo mediante técnicas de aglutinación o de PCR.
- Antibiograma directo de levaduras mediante Etest.
- Pruebas de identificación presuntiva de microorganismos aerobios directamente del hemocultivo mediante pruebas bioquímicas o mediante la utilización de medios cromogénicos.
- Pruebas de determinación de sensibilidad de levaduras a antifúngicos.

2.1.2.7. Puntas de catéteres intravasculares

a) Estudios obligados: cultivo en agar sangre por procedimientos semicuantitativos o cuantitativos. La realización de cultivos sin cuantificar (cultivo del catéter en medio líquido) carece de valor y es una prueba inadecuada.

b) Estudios optativos: tinción de Gram o de naranja de acridina.

2.1.2.8. Líquidos biológicos normalmente estériles (ascítico, peritoneal, pleural, articular, etc.)

a) Estudios obligados:

- Examen microscópico directo (tinción de Gram) para observación de celularidad y microorganismos.
- Cultivo en medios adecuados para aislamiento e identificación de bacterias aerobias y anaerobias.
- Estudio de sensibilidad de bacterias aerobias.

b) Estudios optativos:

- Cultivo de hongos y/o micobacterias si hay sospecha clínica.
- Estudio de sensibilidad de bacterias anaerobias y de levaduras.

2.1.2.9. Exudado conjuntival

a) Estudios obligados:

- Cultivo en medios adecuados para aislamiento e identificación de bacterias aerobias y anaerobias facultativas.
- Pruebas de sensibilidad a antimicrobianos siempre que sea clínica y/o microbiológicamente pertinente.

b) Estudios optativos:

- Cultivo en medios específicos para aislamiento e identificación de *N. gonorrhoeae* y hongos ante sospecha clínica.
- Detección directa de antígeno de *C. trachomatis* y de *N. gonorrhoeae* mediante PCR.

2.1.2.10. Miscelánea: abscesos, colecciones purulentas, úlceras, exudados de heridas superficiales y profundas, exudados umbilicales, otros exudados.

a) Estudios obligados:

- Examen microscópico directo (tinción de Gram) para observación de celularidad y microorganismos en muestras adecuadas.
- Cultivo en medios adecuados para aislamiento e identificación de bacterias aerobias y anaerobias facultativas.
- Según las diferentes situaciones clínicas se realizará cultivo e identificación de bacterias anaerobias estrictas.
- Estudio de sensibilidad de bacterias aerobias y anaerobias facultativas cuando sea clínica y/o microbiológicamente pertinente.

b) Estudios optativos:

- Cultivo de bacterias anaerobias, hongos y/o micobacterias si hay sospecha clínica.
- Estudio de sensibilidad de bacterias anaerobias y de sensibilidad de levaduras.

2.2. DEFINICIÓN DE ALCANCES EN SEROLOGÍA

En relación con los ensayos serológicos, la definición de los alcances debe incluir de forma clara y concisa los siguientes aspectos:

2.2.1. Analito objeto del ensayo. Se debe especificar el analito que se quiere detectar y/o cuantificar. Los ensayos serológicos pueden tener dos objetivos diferentes: el diagnóstico de una infección y el establecimiento del estado inmunitario. En función de cual sea el propósito interesará detectar anticuerpos totales (IgG+IgM+IgA) o IgG, en el caso de pretender establecer el estado inmunitario, o IgM, en el caso de pretender realizar una determinación con fin diagnóstico.

En principio, se puede establecer que las determinaciones realizadas sobre una única dilución, para el *screening* o cribado, generan de forma fiable resultados cualitativos (positivo/negativo), resultados que deben ser considerados suficientes en la mayoría de las ocasiones, tanto para el establecimiento del diagnóstico, en el caso de las determinaciones de IgM, como para el establecimiento del estado inmunitario, en el caso de las determinaciones de IgG o de anticuerpos totales. Las determinaciones cuantitativas basadas en el estudio de una única dilución de la muestra pueden generar resultados cuantitativos, cuyo significado debe ser previamente contrastado por el laboratorio. Este tipo de determinaciones son de aplicación cuando se analizan muestras pareadas de suero, al objeto de demostrar seroconversión o variaciones significativas en el título de anticuerpos.

2.2.2. Tipo de muestra sobre la que se van a realizar las determinaciones. La práctica totalidad

de los ensayos serológicos están diseñados para el estudio de la presencia de anticuerpos en muestras de suero. Algunos ensayos son, además, de aplicación a plasma. También se pueden aplicar a muestras diferentes en la realización de estudios especiales. Tal es el caso del líquido cefalorraquídeo, empleado para el establecimiento de la respuesta local de anticuerpos específicos, como marcador diagnóstico de infecciones del sistema nervioso central. Otra muestra de utilidad es la saliva, empleada para el diagnóstico y/o el establecimiento del estado inmunitario en determinadas situaciones (aquellas en las que se pretendan hacer estudios reduciendo costes en el proceso de toma de muestra, o para evitar los rechazos derivados de la extracción de sangre). Una última muestra es la sangre seca sobre papel de filtro, que permite reducir costes en la extracción, envío y almacenamiento, aunque su reconstitución es laboriosa y de difícil estandarización; resulta de especial utilidad para el diagnóstico retrospectivo de infecciones congénitas en lactantes, empleando la muestra tomada al nacimiento para el cribado rutinario de metabolopatías congénitas.

2.2.3. Metodología empleada. Se deberá hacer constar claramente la metodología que se emplea, ya que en función del analito a detectar se aplicarán técnicas diferentes. En general se puede afirmar que las técnicas en fase sólida, como son las técnicas inmunoenzimáticas o de inmunofluorescencia, se aplican para la detección de anticuerpos específicos de clase IgG, o IgM o IgA, en tanto que las técnicas en fase líquida, como son la neutralización o la fijación del complemento, no identifican el isotipo de la respuesta de los anticuerpos específicos detectados. Se deben nombrar las técnicas con un nivel de detalle suficiente para que permita su perfecta identificación. Por ejemplo, para definir la determinación de anticuerpos frente a citomegalovirus (CMV) mediante la técnica de ELISA se debe diferenciar específicamente si es "ELISA indirecto" o "ELISA de captura", puesto que aunque ambas técnicas están diseñadas para detectar el mismo analito, son aproximaciones diferentes que pueden aportar diferentes valores de sensibilidad.

Las técnicas se deben nombrar con denominaciones inequívocas, aceptadas en la literatura científica en español, y del mismo modo, los acrónimos empleados deben ser de uso universal.

3. ELABORACIÓN Y CONTROL DE LA DOCUMENTACIÓN

El conjunto de documentos de un laboratorio donde se describe la planificación, realización y control de los procesos, ya sean de tipo organizativo y de gestión o técnicos se denomina documentación de calidad. Esta documentación debe adaptarse a las circunstancias de cada laboratorio, ser lo más simple posible y resultar clara y útil para las personas que tengan que manejarla.

Según la normativa ISO todo debe realizarse como está escrito y escribir lo que se hace (si no todo, sí lo

que es relevante para permitir la trazabilidad de los procesos). El laboratorio debe establecer una sistemática de control de los documentos para:

- Elaborar, revisar y aprobar los documentos antes de su distribución.
- Asegurarse de que las versiones pertinentes de los documentos aplicables se encuentran disponibles en los puntos de uso.
- Modificar los documentos cuando sea necesario y aprobarlos nuevamente.
- Asegurarse de que se identifican los cambios y el estado de edición actual de los documentos.
- Asegurarse de que los documentos permanecen legibles y fácilmente identificables.
- Prevenir el uso no intencionado de documentos no válidos u obsoletos

La documentación será elaborada, revisada, aprobada y modificada, cuando sea necesario, por personas con conocimientos suficientes respecto al tema desarrollado. Según la naturaleza y contenido del documento, intervendrán en su elaboración, revisión y aprobación distintas personas implicadas en el Sistema de Gestión de Calidad (SGC). Generalmente todos los documentos deben ser aprobados por el Director del laboratorio (el Jefe del Servicio o el cargo de mayor responsabilidad del laboratorio). De la elaboración, revisión y aprobación quedará constancia en los propios documentos mediante firma y fecha.

Es necesario establecer un sistema de identificación, para que cada documento se pueda identificar de manera única, y además del título, sea posible conocer a qué tipo pertenece y su fecha de revisión y/o edición en vigor, por ejemplo: PNT-ORI-01-ed04, corresponderá a la 4ª edición del Procedimiento Normalizado de Trabajo nº 1 de la unidad de orinas; otra forma de identificarlo sería PNT-ORI-01-0308, que correspondería al mismo documento, pero en lugar de indicar el número de edición se hace referencia a la última fecha de revisión, o bien se pueden indicar ambas cosas (edición y fecha de revisión).

Los documentos deben distribuirse para que estén disponibles en las áreas donde vayan a ser aplicados, quedando constancia de las personas a las que se distribuye, ya sea en formato papel o bien mediante registro del correo electrónico enviado para el caso de distribución de documentos en formato electrónico "pdf". Es recomendable hoy en día utilizar las ventajas que ofrece la informática para evitar acumulación innecesaria de papel. El receptor del documento debe eliminar, en caso de que existiera, la copia de la edición anterior del documento que estuviera en su poder.

Se denominan "copias no controladas" de un documento a las que no se distribuyen de manera oficial, y deben estar identificadas como "COPIA NO CONTROLADA" y con la fecha de copia.

Cualquier persona del área afectada puede proponer modificaciones de los documentos al responsable de la elaboración de los mismos. Cuando se estime que una propuesta es lo

suficientemente importante o que el número de propuestas existentes sobre un documento es elevado, se elaborará una nueva edición del mismo; mientras se puede dejar constancia de los cambios pendientes de incorporar de forma manuscrita en las copias del documento.

Las nuevas ediciones de los documentos deben estar revisadas y aprobadas por las mismas personas que lo hicieron inicialmente, a menos que se especifique lo contrario. Siempre que sea posible, en el documento revisado se incluirá una relación o identificación de las modificaciones introducidas en el mismo desde la última edición. Es muy importante que las copias en uso de un determinado documento sean las de la edición en vigor.

Es conveniente que exista un original de cada documento, archivado por la persona que se designe; en el caso del formato papel, serían los documentos firmados, en el caso del formato electrónico es más complicado establecer la categoría de documento original, aunque se puede asumir que fueran los archivos en poder de una persona designada, por ejemplo, el responsable de calidad o el director del laboratorio.

Se deben retirar y archivar los documentos que dejan de estar en vigor (obsoletos) identificándolos como tales para impedir su utilización por error.

La documentación de calidad de cualquier laboratorio de Microbiología que quiera acreditarse debe incluir, además de otros documentos que el laboratorio estime oportunos, los siguientes:

3.1. MANUAL DE CALIDAD

Es el documento donde se define la sistemática que el laboratorio va a seguir para dar respuesta a los requisitos, tanto de gestión como técnicos, de la norma UNE-EN-ISO-15189, siendo de obligada realización en la implantación de esta norma. En él se enuncia la política la calidad y se describe el sistema de gestión de calidad del laboratorio, o lo que es lo mismo, la estructura, responsabilidades, actividades, recursos y procedimientos que se han establecido para llevar a cabo la gestión de calidad. No es necesario definir los procesos de forma precisa ni hacer descripciones técnicas, aunque es conveniente hacer referencia a los documentos donde se desarrollan los procedimientos.

El Manual de calidad puede utilizarse para facilitar una panorámica general o "mapa del SGC" y ha de incluir:

- El alcance del SGC (incluyendo los detalles y la justificación de cualquier exclusión).
- Las actividades de la organización.
- Una definición de los términos que tengan relevancia para la organización.
- Pautas de organización y gestión:
 - La política de calidad y los objetivos a ella asociados, junto con el compromiso de la Dirección.
 - Una descripción de la organización (estructura, organigrama del laboratorio y organigrama general en el que se refleje la posición del

laboratorio en la organización superior a la que pertenece).

- Cómo funciona la documentación.
 - Funciones y responsabilidades de los distintos puestos.
 - Relaciones internas y externas.
 - Formación y cualificación del personal.
 - Revisiones y auditorías del sistema.
 - Compras y homologación de proveedores.
 - Control de no conformidades y acciones de mejora.
 - Elaboración de ofertas y revisión del contrato.
- Pautas de tipo técnico:
- Planificación y control del proceso analítico en Microbiología: fase preanalítica, fase analítica, fase postanalítica.
 - Control de equipos e instalaciones
 - Aseguramiento de la calidad

3.2. MANUAL DE EXTRACCIÓN Y TRANSPORTE DE MUESTRAS

Es un documento básico en cualquier laboratorio, su objetivo es proporcionar, a los profesionales relacionados con la solicitud de estudios microbiológicos y con la toma de muestras, los conocimientos básicos para lograr que la muestra remitida al laboratorio de Microbiología sea idónea y llegue en las mejores condiciones posibles. Este manual deberá estar escrito de forma concisa y clara, y su contenido debe incluir:

- Muestras clínicas y estudios recomendados según síndrome clínico o infeccioso sospechado.
- Instrucciones sobre métodos adecuados para la recogida, transporte y conservación de las muestras.
- Información sobre las pruebas empleadas en el laboratorio, posibles resultados y orientación para la interpretación de los mismos.

Además es aconsejable informar sobre cómo identificar las muestras clínicas y cómo cumplimentar las hojas de petición, así como los criterios de rechazo de muestras que se siguen en el laboratorio.

Debe estar disponible en formato papel o electrónico en los distintos servicios del hospital y en los centros periféricos de toma de muestras.

3.3. CARTERA DE SERVICIOS

La Cartera de Servicios es el conjunto de técnicas, tecnologías o procedimientos mediante los que se hacen efectivas las prestaciones sanitarias de salud pública (definición del Ministerio de Salud y Consumo, Real Decreto 1030/2006). Este documento puede tener un formato simplificado con una simple enumeración de las prestaciones que se ofertan con o sin información adicional como el tiempo de respuesta aproximado, el valor o coste de las determinaciones, etc. Algunos laboratorios prefieren ampliar este contenido incorporando la información anteriormente enunciada para el Manual de extracción y transporte de muestras; en este caso sería suficiente la existencia de un único documento.

3.4. PROCEDIMIENTOS DE GESTIÓN O PROCEDIMIENTOS GENERALES

Describen la sistemática para realizar procedimientos de tipo organizativo, por ejemplo: control de la documentación, gestión de compras, equipos, personal, bioseguridad, eliminación de residuos, etc. Deben basarse en las recomendaciones hechas por la norma, en guías o documentos de consenso o en procedimientos previos de la organización a la que pertenezca el laboratorio.

3.5. PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS DE TRABAJO (PNT)

Son documentos que contienen las instrucciones para la correcta realización de un ensayo o procedimiento técnico. Deben ser conocidos y seguidos por el personal encargado de realizar los ensayos. Incluirán, como mínimo, los siguientes apartados:

- Propósito del análisis.
- Principio del procedimiento de análisis.
- Muestra y su conservación (recipiente, conservantes, temperatura, etc.).
- Equipo, reactivos y material necesario.
- Realización detallada del procedimiento.
- Obtención y expresión de los resultados.
- Intervalos de referencia biológicos (si es necesario).
- Validación del procedimiento.
- Control de calidad.
- Documentos de consulta.
- Limitaciones e interferencias.
- Precauciones de seguridad y bioseguridad.

3.6. REGISTROS

Son documentos que proporcionan evidencias objetivas de las actividades efectuadas o de los resultados obtenidos. La estructura de estos documentos varía en función de la actividad, proceso o datos registrados (temperaturas, control de calidad de medios, actas de reuniones, hojas de trabajo, etc.). Los registros han de ser claros y estar disponibles para su presentación cuando sea necesario. Algunos de los registros que se deben mantener por el laboratorio son:

- Hojas de petición.
- Hojas de trabajo cumplimentadas por el personal u hojas de resultados de sistemas automatizados (sirven para reconstruir el proceso y asegurar la exactitud del informe final).
- Informes de resultados.
- Documentación de los equipos, incluyendo revisiones.
- Control de calidad interno.
- Control de calidad externo.
- Actas de reuniones.
- Personal: cualificación, competencia, actividades de formación.
- Pedidos, albaranes de recepción de productos.
- Actividades de mejora continua: tratamiento de incidencias y no conformidades, informes de

auditorías, seguimiento de indicadores, revisiones del sistema por la dirección del laboratorio.

- Incidentes relacionados con la seguridad.

Los registros deben archivarse físicamente (papel) o informáticamente durante un periodo que puede ser variable; en este aspecto la norma ISO 15189 no especifica el periodo de retención, en varias guías internacionales se recomienda dos años para la mayoría de los registros, excepto:

- Documentación referente a equipos que se mantendrá durante toda la vida del equipo.
- Registros del personal y seguridad, que se mantendrán cinco años.

ENAC en el documento “Criterios generales de acreditación de laboratorios clínicos, Marzo 2008” recomienda archivar durante cinco años los registros de las actividades de aseguramiento de la calidad (control de calidad interno y participación en intercomparaciones) y los informes de laboratorio (no especifica en formato papel o electrónico); para el resto de los registros recomienda un periodo mínimo de tres años.

3.7. FORMULARIOS

Son impresos o fichas en formato electrónico con espacios en blanco para rellenar distintos apartados (por ejemplo, formulario de petición de estudio microbiológico, formulario para registro de temperaturas, etc.). Un formulario adecuadamente relleno se convierte en un registro. Cada formulario debe tener su código de identificación. Al final de este documento se indican algunos ejemplos de formularios.

3.8. LISTADO DE DOCUMENTOS EN VIGOR

Este documento es muy importante para realizar el control de la documentación del laboratorio, ya que en él se enumeran todos los documentos actualmente en uso, indicando el código, nombre del documento, edición en vigor, fecha de aprobación y la dirección en red de dicho documento, en caso de que se distribuya informáticamente. Los documentos que se distribuyan en red estarán en modo “lectura”, de manera que sólo los responsables de su control, tendrán acceso a él en modo “escritura”.

4. REQUISITOS DEL ENSAYO O ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.

El proceso de realización de un análisis microbiológico se puede dividir en tres fases: **preanalítica** (petición de la prueba, procesamiento de la petición, recogida y transporte de la muestra y recepción y registro de la muestra en el laboratorio), **analítica** (preparación y realización de la prueba y obtención de los resultados) y **postanalítica** (informe de los resultados, interpretación de los mismos, autorización para entrega y transmisión de los resultados). El proceso no se considera cerrado hasta que el médico petionario recibe el resultado del análisis que solicitó.

4.1. FASE PREANALÍTICA

La fase preanalítica de un análisis microbiológico incluye algunos aspectos que generalmente no están bajo el control directo del laboratorio de Microbiología y otros que sí lo están. Entre los primeros se incluyen los relacionados con la recogida de las muestras clínicas, la cumplimentación del volante u hoja de petición y el transporte de las muestras al laboratorio de Microbiología. Entre los que están bajo el control directo del laboratorio de Microbiología se incluyen la recepción de las muestras, los criterios de aceptación o rechazo, el registro de solicitudes, la preparación de las muestras y la conservación de las mismas.

Cuando el laboratorio decide no asumir la responsabilidad de la parte de la fase preanalítica que no controla directamente debe reflejarlo en los informes de resultados.

En la realización de todo el proceso debe existir una actuación coordinada entre todos los profesionales sanitarios y no sanitarios que participan en el mismo, tanto en la asistencia primaria como en la especializada. Por otra parte, es fundamental que exista un nivel adecuado de intercambio de información entre los facultativos que solicitan la realización de pruebas microbiológicas y el microbiólogo. El laboratorio de Microbiología debe informar a los facultativos peticionarios sobre las muestras recomendadas según el síndrome clínico o infección sospechada, métodos de extracción, transporte, cartera de servicios, etc. Igualmente, la información clínica al laboratorio de Microbiología es la que permite a éste aplicar las técnicas diagnósticas disponibles de manera más eficiente.

La obtención de las muestras se debe realizar por personal facultativo y de enfermería siguiendo las normas recogidas en el “Manual de extracción y transporte de muestras” elaborado por los microbiólogos y que debe entregarse en todos los puntos donde se realicen tomas de muestras para Microbiología. Es responsabilidad de los microbiólogos mantener un programa de entrenamiento activo que describa estas normas y las actualice. La calidad de la recogida de las muestras se debe vigilar continuamente para identificar oportunidades de mejora.

4.1.1. Hoja de petición. El volante de petición de la prueba debe ser sencillo y fácil de cumplimentar y único para cada muestra. Se pueden solicitar varias pruebas en la misma muestra y con el mismo volante, pero para ello es necesario que en el laboratorio de Microbiología se puedan emitir tantas hojas de trabajo como pruebas solicitadas en la misma muestra. El volante debe permitir la identificación inequívoca del paciente, muestra y pruebas solicitadas. Para ello, en este volante se deberán especificar de forma legible todos los datos de identificación del paciente con el número de historia clínica, el tipo de muestra, su método de obtención y la fecha y hora de recogida, información clínica, el motivo de la petición, si el paciente tiene antibioterapia previa y precisar el estudio o prueba

solicitada. También en la hoja de petición se debe identificar el médico que solicita el estudio y el servicio o unidad al que pertenece. Es conveniente que se incluya un teléfono con el objeto de informar resultados preliminares precozmente o para solicitar información adicional en su caso. Las pruebas solicitadas deben estar incluidas en la cartera de servicios del laboratorio de Microbiología.

4.1.2. Obtención de muestras. La obtención de una muestra clínica adecuada y representativa del proceso infeccioso que se pretende diagnosticar es fundamental para obtener resultados fiables y con utilidad clínica.

Los profesionales encargados de la extracción y toma de muestras deben disponer del Manual de extracción y transporte de muestras elaborado por el Servicio de Microbiología, deben conocer las normas de seguridad biológica y deben demostrar su competencia para la realización de esta tarea. Asimismo, deben disponer de los recipientes adecuados para el transporte de la muestra y de los contenedores adecuados para eliminación de elementos potencialmente peligrosos. Las muestras deben presentar un volumen y una calidad adecuados.

Antes de la extracción o toma de muestra se comprobará la correspondencia entre la solicitud y la identidad del paciente, se verificará que el documento de solicitud contiene todos los datos de identificación y se rechazarán aquellas solicitudes que no estén debidamente cumplimentadas y que no puedan ser subsanadas en el momento de la extracción. Posteriormente se registrarán los datos de identificación de la persona que realiza la extracción de la muestra, la hora y la fecha de la misma, así como los incidentes que se hayan producido y se identificarán los recipientes en el momento de la obtención de la muestra, siguiendo las normas establecidas en el Manual. Asimismo, el Manual debe establecer el número de muestras adecuadas para las pruebas solicitadas.

En el caso de que la extracción de muestras se realice en el laboratorio de Microbiología, éste debe disponer de un área o consulta destinada a este fin, una sala de espera para los pacientes y los servicios de higiene correspondientes.

4.1.3. Transporte de muestras. Es recomendable que exista un sistema unificado de transporte de muestras entre los puntos de extracción y el laboratorio de Microbiología. El transporte debe ser lo más rápido posible y si no fuera así, se deben mantener las condiciones adecuadas de conservación de las muestras según lo indicado en la cartera de servicios y en el Manual de extracción y transporte de muestras. En el caso de que el transporte lo realice un celador, un familiar o el propio paciente, se les indicarán las normas a seguir durante el mismo.

Hay que tener en cuenta que toda muestra de origen humano es potencialmente infecciosa y el transporte debe efectuarse de acuerdo a las normas de bioseguridad establecidas, bien en contenedores herméticos a temperatura ambiente o en neveras

termostatizadas con control de temperatura con termómetro de máxima y mínima. Es necesario establecer las normas de actuación en caso de accidente o avería en el transporte.

Si el transporte de muestras se realiza entre laboratorios se deben seguir las normas del laboratorio de "destino" y es responsabilidad del laboratorio de "origen" el cumplimiento de las normas necesarias para garantizar que la muestra llegue en perfectas condiciones para su estudio. Si el transporte es del domicilio al centro, del punto de extracción periférico al laboratorio o si es intrahospitalario, se deberá controlar la temperatura y el tiempo de transporte, según se indique en la cartera de servicios. Si se utiliza un tubo neumático es recomendable llenar los tubos al máximo y evitar los sistemas con paradas intermedias.

4.1.4. Recepción de muestras. Criterios de aceptación/rechazo. El laboratorio debe disponer de un documento donde refleje su sistemática de trabajo en el área de recepción de muestras y su normativa sobre aceptación y rechazo de muestras. La revisión de muestras y volantes de petición en su recepción en el laboratorio la debe realizar exclusivamente el personal que haya superado el adecuado proceso de cualificación para realizar esta tarea.

Es aconsejable que diariamente se elabore, en los puntos de extracción, un registro (hoja de ruta) en el que estén relacionados los recipientes remitidos por cada solicitud, así como el nombre de la persona que ha preparado el envío, la hora en que se recoge y quién realiza el transporte. El transportista debe entregar las muestras y los volantes de petición en el laboratorio, firmar en la hoja de ruta (en la que debe constar cualquier incidencia durante el transporte) y anotar la hora de entrega. Asimismo, deberá obtener una copia de la hoja de ruta firmada por el responsable de la recepción, en la que se especificará si se rechaza alguna muestra y la causa. El responsable de la recepción debe comprobar la entrega de las muestras y sus correspondientes volantes de solicitud y recoger las incidencias comunicadas por el transportista. Si la recepción es de muestras obtenidas en el hospital o entregadas directamente por el paciente/familiar también se debe comprobar la correspondencia entre la muestra y la solicitud.

El personal del área de recepción de muestras, debe comprobar además que la muestra se recibe en condiciones adecuadas de transporte y conservación, correctamente identificada y que es idónea para la realización completa de las pruebas solicitadas.

En el documento sobre recepción y aceptación de muestras deben establecerse los criterios aplicables y las actuaciones que se llevarán a cabo para resolver las incidencias que se puedan presentar. En general, si la muestra se recibe con errores de identificación se debe contactar con el servicio peticionario; si se recibe derramada o si el transporte o la conservación son inadecuados se debe solicitar una nueva muestra. El laboratorio tiene la capacidad

de rechazar una muestra o una solicitud que no cumpla los requisitos de calidad preanalítica establecidos en su procedimiento de recepción y aceptación de muestras. En las muestras no aceptables no procede realizar estudios microbiológicos, excepto en circunstancias excepcionales como cuando no pueda ser recogida una nueva muestra. En estos casos, si se procesan, se hará constar en el informe que la muestra es inadecuada y por qué, y que los resultados deben ser interpretados con precaución o que pueden no ser válidos.

Las incidencias relacionadas con la recepción de muestras deben registrarse; en el registro debe figurar la persona del laboratorio que detecta la incidencia, la muestra implicada, el tipo de incidencia, la persona con la que se contacta del servicio solicitante y la resolución de la incidencia.

Ante una solicitud verbal de ampliación de estudios siempre debe existir la autorización de un facultativo especialista en microbiología del laboratorio y registrarse la prueba solicitada en la petición previa, indicando la fecha de la ampliación, así como el nombre del médico que la solicita.

4.1.5. Preparación de las muestras. Las muestras y hojas de petición, en primer lugar, se identificarán con el sistema de numeración disponible en el laboratorio y a continuación se deben clasificar en función de la unidad o sección del laboratorio de destino. A continuación serán sometidas a los procedimientos de preparación previos a su procesamiento, según la naturaleza de la muestra y estudios solicitados, siguiendo los procedimientos normalizados de trabajo (PNT) específicos.

4.1.6. Conservación de las muestras tras su procesamiento. Las muestras, una vez procesadas, se almacenarán durante un tiempo que garantice que un problema en el procesamiento o en la interpretación de los resultados obtenidos pueda ser solucionado recuperando la muestra para un nuevo procesamiento. También para poder dar respuesta a una posible solicitud de ampliación de estudios.

4.2. FASE ANALÍTICA

El laboratorio debe utilizar procedimientos apropiados con eficacia demostrada para realizar los ensayos. Deben existir unos procedimientos documentados o Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNT) con las instrucciones para la correcta realización de un ensayo o procedimiento técnico, permitiendo que el personal encargado pueda realizarlo con la mínima variabilidad posible. Su contenido debe estar basado en la literatura científica más reciente y en manuales o guías de reconocido prestigio. Los PNT deben estar disponibles en el puesto de trabajo, y si se considera necesario, pueden estar también disponibles instrucciones resumidas, que deben formar parte del PNT. Los procedimientos descritos en los PNT deben ser revisados por el responsable técnico de la unidad periódicamente y cuando sea necesario porque se haya producido algún cambio en la metodología, equipamiento, etc. Si se producen

cambios en un procedimiento analítico de forma que los resultados o interpretación sean diferentes este cambio será comunicado por escrito a los usuarios.

4.2.1. Procedimientos normalizados de trabajo: PNT. La información que debe aportar un PNT sobre cualquier ensayo microbiológico debe incluir:

- Propósito y alcance. Especificaciones sobre el estudio que se va a realizar (por ejemplo, cultivo cuantitativo), a partir de qué muestras (orinas) y con qué objetivo (diagnóstico de infección urinaria producida por microorganismos aerobios/facultativos de crecimiento rápido).

- Principio del procedimiento. Información acerca del fundamento científico de la metodología empleada, que debe ser la recomendada para realizar la técnica según la mejor evidencia científica disponible. En el caso de técnicas comerciales, como las empleadas en gran medida en los ensayos serológicos habitualmente disponibles en los laboratorios, se deberán emplear métodos cuyas características de funcionamiento hayan sido objeto de evaluación, y recogidas en trabajos científicos. Esta información debe ser aportada por el fabricante a través de los manuales de uso correspondientes que serán considerados documentos de consulta en el PNT. En determinaciones cualitativas es de especial interés conocer los valores de sensibilidad y de especificidad, entendidas como la capacidad del ensayo para identificar adecuadamente las muestras positivas y negativas, respectivamente. El límite de detección deberá igualmente estar definido, y, siempre que sea posible, referido a patrones internacionales de referencia.

- Documentos de consulta. Relación de manuales y guías que sirven de apoyo al procedimiento.

- Muestra. Es necesario definir para los tipos de muestra que es aplicable el procedimiento, el método de obtención aconsejado, volumen necesario, envase o contenedor adecuado, condiciones de conservación hasta su procesamiento y criterios de rechazo aplicables, etc. También hay que definir el tiempo que se van a conservar las muestras y en qué condiciones, tras su procesamiento. En los ensayos serológicos, que en ocasiones requieren el estudio simultáneo de muestras para confirmar el diagnóstico, se considerará especificar el período de tiempo durante el que va a ser conservada la muestra, a efectos de reensayos, para pruebas confirmatorias o para ensayos pareados.

- Equipo y reactivos necesarios. Especificar medios de cultivo, reactivos, material fungible, material volumétrico, estufas, microscopios, analizadores y cualquier equipo necesario para la realización de la técnica. En el caso de que el uso y el mantenimiento de alguno de estos equipos sea objeto de un PNT se debe aludir al procedimiento específico; esto puede ser aplicable al uso de equipamiento volumétrico (pipetas automáticas y dispensadores automáticos), de estaciones de lavado y de lectores de placas de ELISA, de procesadores de laboratorio, de microscopios, etc.

En el caso de emplear *kits* o equipos comerciales se hará constar el reactivo empleado, así como

todos los reactivos no incluidos en el *kit* y el material general del laboratorio a emplear. Deberán constar expresamente las condiciones y lugar de almacenamiento de los reactivos.

- Desarrollo del ensayo. Se debe disponer de un protocolo pormenorizado, y asequible al entendimiento de todo el personal del laboratorio. En el caso de tratarse de ensayos comerciales podría ser suficiente disponer del procedimiento del ensayo proporcionado por el fabricante, adaptado, si fuera necesario, a las peculiaridades del laboratorio.

- Obtención de resultados. En Bacteriología deben quedar definidos los criterios para interpretar y obtener resultados de las diferentes técnicas: tinciones, cultivos, técnicas de detección de antígeno, estudios de sensibilidad a antimicrobianos, etc. Hay que especificar cómo se van a expresar los resultados, haciendo una relación de los posibles resultados cualitativos; en el caso de técnicas cuantitativas o semicuantitativas se describirán los cálculos necesarios para obtener los resultados y se especificarán las unidades de medida.

En las determinaciones serológicas debe quedar claramente definido el criterio a emplear para el cálculo de resultados, siendo de especial interés la definición del valor de corte, así como la definición de la zona gris.

- Interpretación de resultados. Es necesario predefinir los comentarios que pueden acompañar a los informes para contribuir a la interpretación de los mismos.

- Control de calidad. En bacteriología, como parte del programa de control de calidad interno del laboratorio, cuando sea posible, se podrían incluir controles internos para las técnicas acreditadas con una periodicidad establecida, por ejemplo, trabajando por duplicado una misma muestra y comparando la reproducibilidad de los resultados. En el caso de técnicas comerciales, es conveniente utilizar de manera reglada los controles que proporcione el *kit*.

En los ensayos serológicos, los *kits* comerciales deben incluir controles suficientes para asegurar su correcto funcionamiento, así como para el establecimiento del valor de corte o límite de detección, y/o para el cálculo de resultados. Además, se puede considerar la inclusión de controles propios del laboratorio, que permitan valorar la precisión interensayo e intraensayo del método.

- Limitaciones y fuentes de interferencias. En los estudios bacteriológicos, pueden alterar los resultados del cultivo los microorganismos saprofitos (piel, tracto respiratorio superior, tracto gastrointestinal) que pueden estar presentes en las muestras clínicas y multiplicarse antes del cultivo produciendo resultados erróneos o impidiendo el desarrollo de los verdaderos patógenos. También el contacto con antisépticos o desinfectantes y el tratamiento antimicrobiano previo a la obtención de la muestra puede arruinar cualquier estudio microbiológico.

Las principales fuentes de interferencias a tener en cuenta en las determinaciones serológicas son la

contaminación, la lipemia o la hemólisis de la muestra. En lo posible deben descartarse las muestras que tengan presencia de cualquiera de estos factores de interferencia. En cualquier caso, y bajo la responsabilidad del responsable técnico, podrán emitirse los resultados obtenidos sobre este tipo de muestra en el informe del resultado, haciéndose mención expresa de las peculiaridades que concurren.

En las determinaciones de IgM realizadas con técnicas indirectas, la presencia simultánea de IgG específica y de factor reumatoide puede originar resultados positivos falsos. Se deben emplear ensayos que eviten esta interferencia, mediante la eliminación de la IgG de la muestra.

Otra fuente importante de interferencias son las reacciones cruzadas que existen entre diferentes patógenos; a modo de ejemplo, se pueden citar las reacciones de *Legionella* con *Campylobacter*, y con otras bacterias; entre *Chlamydomphila* y *Chlamydia*; entre los miembros del género *Flavivirus* (West Nile, dengue, fiebre amarilla, y encefalitis transmitida por garrapatas), así como las bien conocidas entre los miembros de la familia *Herpesviridae*, que afectan a los virus Epstein-Barr (EBV), CMV y virus herpes 6 por una parte, y a herpes simple (HSV) 1 y 2 y varicela zóster (VZV), por otra, así como las producidas entre los miembros del género *Enterovirus*.

Las reacciones cruzadas adquieren especial importancia cuando los analitos que muestran reacción cruzada son indicadores de infección aguda en cuadros clínicos similares, como ejemplos se pueden citar el caso de la IgM frente a EBV y CMV, en los síndromes mononucleósicos, o las determinaciones de IgG frente a HSV y VZV en muestras de LCR, en casos de infección del sistema nervioso central. En aquellos casos en que se conozca la existencia de reacciones cruzadas se harán constar las posibles limitaciones para el ensayo, haciendo alusión específica a la existencia de procedimientos confirmatorios, si existen, que permitan la correcta caracterización del caso.

- Posibles fuentes de variabilidad. La calidad y cantidad adecuadas de las muestras microbiológicas son variables fundamentales a la hora de obtener resultados fiables. El laboratorio debe decidir la política que seguirá en cuanto a muestras inadecuadas e informar al peticionario sobre las características (enviada en contenedor inadecuado, volumen insuficiente, muestra derramada, etc.), que la hacen no apta para su procesamiento o que pueden influir en los resultados. Esta información se debe incluir en el PNT como anotaciones al procedimiento.

También el control de la temperatura en el laboratorio de Microbiología es de gran importancia ya que se emplean medios de cultivo, reactivos, discos de antibióticos y *kits* comerciales que requieren conservación entre 2 y 8°C, o antiseros, algunas tiras de Etest y otros reactivos que se deben conservar a temperaturas por debajo de -20°C, o, excepcionalmente, de -40°C. Además los distintos

estudios se deben realizar a temperaturas específicas, por ejemplo, un antibiograma se debe incubar a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y en el caso de las técnicas serológicas, pueden incluir fases de la reacción a diferentes temperaturas, a temperatura ambiente, o en estufas o baños, generalmente a 37°C . Por estos motivos, el laboratorio debe optimizar el control de las condiciones de temperatura, tanto ambientales como de los diferentes equipos que se emplean bien para la conservación de reactivos o para el desarrollo de ensayos, pudiendo ser objeto de un PNT específico.

Otra fuente de variabilidad se encuentra en los estudios cuya lectura es visual (tinciones, técnicas de inmunofluorescencia) en los que puede influir la experiencia y pericia del observador.

En los ensayos que tienen una fase de lavado (tinciones, técnicas serológicas en fase sólida), un lavado insuficiente puede proporcionar resultados erróneos, difícilmente interpretables. Algo similar ocurre con el material volumétrico, fundamentalmente el empleado para dispensar pequeños volúmenes de muestras, siendo necesarios sistemas pipeteadores precisos al máximo.

Todos los procesos del ensayo que puedan originar resultados no reproducibles, o los equipos que puedan estar implicados en su obtención, deben ser objeto de PNT específicos.

- Responsabilidades. Es necesario definir el grado de responsabilidad en el desarrollo del procedimiento del personal que participa en el mismo.

- Precauciones de seguridad. Por último, pero no menos importante, es obvia la importancia que tiene el uso de buenas prácticas de laboratorio, especialmente teniendo en cuenta el carácter potencialmente infeccioso de las muestras clínicas, y de algunos de los reactivos empleados para su caracterización. Cada laboratorio debe disponer de un manual de prevención de riesgos, en el que se recojan las recomendaciones sobre buenas prácticas de laboratorio y la actuación en caso de incidente relacionado con la seguridad.

- Bibliografía. Todo PNT debe incluir las referencias bibliográficas actualizadas que sirven de fundamento al procedimiento concreto.

4.2.2. Validación de métodos. Se define como la confirmación mediante aporte de pruebas objetivas de que se han cumplido los requisitos para el uso pretendido o una aplicación específica (ISO 9000:2005), o lo que es lo mismo, comprobar que el método es adecuado para el uso específico previsto.

4.2.2.1. Bacteriología. Los procedimientos empleados en bacteriología deben estar basados en manuales reconocidos, publicaciones de prestigio, recomendaciones de expertos o protocolos nacionales o internacionales, no siendo necesario realizar la validación de estos métodos. En el caso de procedimientos desarrollados en el laboratorio si es necesario realizar una validación del método:

- en métodos cualitativos, cuando sea aplicable, habría que determinar la exactitud, sensibilidad,

especificidad, valor predictivo positivo y negativo, reproducibilidad y límite de detección.

- en métodos cuantitativos: exactitud, sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo, reproducibilidad y linealidad (determinación del rango lineal de cuantificación).

4.2.2.2. Serología. Las condiciones para la validación de ensayos para la determinación de anticuerpos han sido recientemente revisadas. En las técnicas comerciales con marcado CE el fabricante es el responsable de la validación, no obstante, cuando un ensayo se incorpora a la rutina, o cuando se produzca un cambio en el mismo, es recomendable realizar una verificación *in situ* que comprenderá la determinación de la exactitud (o fidelidad, en la nomenclatura actual), definida como la conformidad de una cantidad medida de acuerdo con su valor verdadero y de la precisión intraensayo e interensayo, definidas como el nivel de concordancia de los resultados individuales obtenidos con una muestra en un mismo ensayo o en ensayos diferentes, respectivamente. En el caso de los ensayos cuantitativos, además debe establecerse la linealidad.

Cuando se utilicen métodos desarrollados en el laboratorio o modificaciones sobre métodos comerciales con marca CE es necesario hacer una validación en el propio laboratorio. La validación de los ensayos debe contemplar exactitud, precisión, sensibilidad y especificidad (capacidad de identificar adecuadamente las muestras positivas y negativas, respectivamente), y en ensayos cuantitativos, además debe establecerse la linealidad.

En todos los casos el laboratorio debe conservar los registros de los resultados obtenidos.

4.3. FASE POSTANALÍTICA

Una vez obtenidos los resultados del análisis, se inicia la fase postanalítica que abarca desde la validación técnica y facultativa de los resultados hasta la gestión de los residuos pasando por la distribución de informes y el almacenamiento de los datos. Las tareas que hay que contemplar en esta fase son las siguientes:

- Revisión sistemática de los resultados.
- Validación e interpretación de los resultados.
- Los informes de resultados.
- Información telefónica.
- Modificación de informes.
- Distribución de informes.
- Almacenamiento de las muestras, cuando proceda, y gestión de los residuos.

Otros aspectos de la fase postanalítica son:

- La gestión de los archivos de las hojas de trabajo (datos primarios) y de los informes de modo que estén fácilmente disponibles para permitir una verificación adecuada de la trazabilidad.
- Asesoramiento postanalítico.

4.3.1. Revisión y validación de los resultados. El sistema de calidad debe contemplar los dos aspectos siguientes:

- Verificación de datos primarios. Una vez introducidos los resultados en la aplicación

informática es necesario revisar los datos primarios u hojas de trabajo con objeto de garantizar la transcripción correcta de los datos introducidos. Si la estructura del laboratorio lo permite, es preferible que esta revisión la efectúe otro técnico o bien el facultativo en el momento de la validación.

- Validación de los resultados. El facultativo responsable de la unidad o sección debe revisar en primer lugar la transcripción de los datos primarios si no ha sido revisada previamente por un técnico. En segundo lugar, se deben revisar los resultados de los análisis, teniendo en cuenta la información clínica. Es en este momento cuando el facultativo puede realizar una interpretación de los datos.

El ejemplo más evidente de interpretación de los datos es la lectura interpretada del antibiograma que permite inferir valores de sensibilidad a antibióticos no incluidos en el antibiograma o modificar el resultado del antibiograma en relación con el mecanismo de resistencia deducido.

La interpretación de los datos puede ir acompañada de los comentarios que se consideren oportunos para hacer más comprensibles los resultados al médico peticionario. Es necesario que estos comentarios estén predefinidos con objeto de que puedan ser evaluados por el auditor. Asimismo, sólo pueden ser realizados por las personas autorizadas y cualificadas para ello.

Por otro lado, el programa informático de gestión del laboratorio debe permitir trazar el curso que ha seguido la muestra desde su recepción en el laboratorio hasta la emisión del informe. Por ello, debe quedar constancia en la aplicación no solo de quien ha introducido los datos primarios sino también de quién ha verificado y ha validado los informes.

Una vez validados los resultados, se genera el informe para ser distribuido en formato papel o electrónico.

4.3.2. Informes. La emisión de un informe claro y veraz es la finalidad última del laboratorio. Pueden ser emitidos en papel o en formato electrónico, siempre que el laboratorio cumpla los requisitos legales y garantice la confidencialidad de los resultados.

El laboratorio debe preparar un procedimiento que describa las diferentes modalidades que utiliza para informar de los resultados.

Se debe establecer un consenso con los médicos peticionarios respecto a los plazos de entrega, que reflejarán las necesidades clínicas. Estos plazos de entrega deben ser revisados por la dirección del laboratorio. Si se produjeran retrasos, habrá que comunicarlo al personal clínico, cuando puedan repercutir en la asistencia sanitaria y deberán tomarse las correspondientes acciones correctivas.

Los informes deben incluir toda la información necesaria para la correcta interpretación de los resultados. Los contenidos básicos que deben incluir son los siguientes:

- Identificación completa del laboratorio: deberá figurar la denominación completa del laboratorio, incluyendo la institución a la que está adscrito, y es aconsejable incluir la dirección postal.

- Identificación inequívoca del paciente: nombre, que debería ir acompañado de un código de identificación único (por ejemplo, número de historia clínica), fecha de nacimiento, sexo y localización (habitación, cama, consulta) o destino del informe.

- Identificación única del informe (número de informe, código, etc.) con su número de páginas.

- Identificación del médico solicitante.

- Identificación inequívoca de la muestra, el análisis y cuando sea apropiado el método empleado.

- Fecha de la toma de muestras (y la hora, si resultara posible y fuera de utilidad).

- Fecha de recepción de la muestra.

- Resultados obtenidos. Se expresarán según lo establecido en el PNT seguido para realizar la determinación. En los ensayos serológicos en primer término tiene que especificarse el marcador analizado seguido de la metodología empleada. En principio es recomendable que las muestras se informen cualitativamente (positivo/negativo), haciendo constar, cuando se disponga, el valor cuantitativo obtenido. Es importante hacer mención de las unidades en que se expresa el resultado cuantitativo (unidades internacionales, unidades ELISA, título, índice, o cualquier otro), así como el límite de detección, o valor de corte.

- Comentarios. Los resultados podrán ir acompañados de comentarios sobre las características peculiares de la muestra que puedan afectar al resultado, por ejemplo, en muestras de mala calidad (esputos que sean saliva, sueros hemolizados o lipémicos, etc.) se hará constar mediante un mensaje de precaución, con una anotación al efecto. Asimismo, el informe puede contener comentarios sobre las técnicas empleadas (sensibilidad, especificidad, límites de detección) y sobre la interpretación de los resultados; por ejemplo, la indicación de inmunidad ante un hallazgo de positividad de IgG frente a un virus; o la indicación de infección reciente ante un resultado positivo de IgM. Si se obtienen resultados en la zona gris, y en función de lo establecido en el PNT, se considerará la recomendación de repetir el ensayo en una nueva muestra. Cuando alguna parte de la fase preanalítica no se haya realizado bajo la responsabilidad del laboratorio debe indicarse esta circunstancia en el informe.

- Fecha de emisión de los resultados (la trazabilidad del sistema debe permitir conocer fácilmente la hora aunque no aparezca en el informe).

- Nombre, cargo y firma de la persona que valida el informe. También se puede incluir, aunque la norma no lo exige, el horario y teléfonos de contacto, para el asesoramiento sobre la información contenida en el informe.

4.3.3. Información telefónica. Con frecuencia es necesaria una comunicación directa con el médico peticionario para informar verbalmente un resultado urgente. Asimismo, los facultativos peticionarios de pruebas microbiológicas también demandan por teléfono información sobre resultados previos. La

sistemática del laboratorio para gestionar este tipo de información debe estar muy bien definida para evitar cualquier error. Esta sistemática debe estar escrita y recoger aspectos tales como las circunstancias en que se proporciona esta información, las personas que pueden dar la información así como las que la pueden recibir. Se debe implantar un registro en el que queden anotados los aspectos siguientes:

- Nombre del paciente y número de muestra sobre la que se informa.
- Identificación del médico que solicita y recibe la información.
- Identificación de la persona del laboratorio que proporciona la información.
- Información proporcionada.
- Fecha y hora.

Si los resultados se enviaran por fax, se deberá archivar el acuse de recepción del mismo.

4.3.4. Informes modificados. El laboratorio debe escribir un procedimiento donde se detalle la sistemática utilizada para modificar informes ya emitidos. Los puntos que debe contemplar son los siguientes:

- Causas que pueden provocar una modificación de un informe.
- Personas autorizadas a modificar informes.
- Sistemática seguida para realizar la modificación.
- Trazabilidad del sistema que debe permitir saber quién y cuándo realiza las modificaciones.
- Archivo de los informes modificados y originales.

En el informe debe constar claramente que se trata de un informe modificado y que sustituye a uno anterior. Debe incluir asimismo el número del informe modificado y la fecha de su emisión.

4.3.5. Distribución y archivo de informes. Es responsabilidad del laboratorio controlar la distribución de los informes validados ya sea en papel o por vía informática. Deben ser archivados de acuerdo al protocolo diseñado por el laboratorio. En general, se considera aceptable un archivo por un periodo mínimo de 5 años. Todos los archivos informáticos deben estar protegidos convenientemente para asegurar la confidencialidad. El sistema permitirá la verificación de la trazabilidad, debe estar protegido frente a posibles fraudes o falsificaciones y frente a accidentes como incendios o inundaciones.

4.3.6. Almacenamiento de muestras y gestión de residuos. El almacenamiento de las muestras tras el proceso analítico, cuando el laboratorio lo considere necesario, debe estar descrito en un procedimiento donde se detallará en qué condiciones se almacenan las mismas y durante cuanto tiempo. Para ello, deben tenerse en cuenta las opiniones de los médicos peticionarios, las características de las muestras y la normativa vigente.

La eliminación de las muestras y residuos generados en su procesamiento debe efectuarse según regulaciones y normativas locales y nacionales. Este aspecto está ya tratado en el "Procedimiento en Microbiología Clínica nº 10.

Seguridad en el laboratorio de Microbiología Clínica" de la SEIMC.

5. ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD: CONTROL DE CALIDAD INTERNO

El laboratorio debe disponer de un programa de control de calidad interno para verificar que se consigue la calidad prevista en los resultados. Este programa debe reflejarse en un documento donde queden recogidas las actividades que se van a realizar, la frecuencia de las mismas y las responsabilidades del personal en este tema.

Cuando en cualquier procedimiento de control de calidad interno se detecte algún resultado anómalo, habrá que investigar cuál ha sido la causa, examinando retrospectivamente el ensayo, y una vez determinada ésta, hay que llevar a cabo las acciones correctoras pertinentes para eliminar la fuente de error, así como las acciones preventivas para que no vuelva a ocurrir.

Todos los procedimientos y técnicas de control de calidad que se lleven a cabo deben quedar registrados de manera detallada, con los correspondientes resultados e indicando la persona que las ha llevado a cabo; en caso de detectarse alguna incidencia, también quedará registrada, así como las posibles acciones correctivas realizadas.

5.1. BACTERIOLOGÍA

El laboratorio de Microbiología debe asegurarse del adecuado funcionamiento de los medios de cultivo y reactivos antes de usarlos, tanto si son comerciales como preparados en el laboratorio.

5.1.1. Medios de cultivo. Los medios de cultivo deben estar sometidos a un proceso de control de calidad interno que asegure que son estériles, que permiten el crecimiento de microorganismos específicos y/o inhiben el crecimiento de otros y que proporcionan una adecuada respuesta bioquímica.

5.1.1.1. Medios de cultivo comerciales. Es recomendable que sean proporcionados por fabricantes certificados. En cada envío, el fabricante debe aportar información sobre: el nombre del medio, número de lote, cantidad enviada y fecha de caducidad. Además, para cada lote de medio debe facilitar un certificado del control de calidad en el que se especifican las condiciones de conservación, control de esterilidad, criterios de aceptabilidad, control del funcionamiento indicando las cepas utilizadas, fecha de emisión y firma del responsable del laboratorio fabricante.

Antes de introducir un nuevo medio en el laboratorio, debe ser validado con cepas de referencia; este procedimiento debe repetirse siempre que el fabricante indique que las características del medio han cambiado o que se detecte alguna deficiencia en el uso rutinario.

Tras la recepción de los medios en el laboratorio y antes de usarlos, hay que comprobar las características físicas (color, precipitados, placas rotas, excesivo número de burbujas, crecimiento de colonias, etc.) y se debe documentar cualquier anomalía detectada. El control de calidad se completa con el estudio de la esterilidad y la

comprobación del crecimiento de microorganismos específicos y/o inhibición de otros, o bien producción de reacciones bioquímicas o morfologías típicas de los microorganismos ensayados.

Según los requerimientos de control de calidad los medios comerciales se clasifican en:

- Medios exentos: no requieren que el laboratorio controle su esterilidad o su adecuado funcionamiento, siempre que el fabricante aporte las especificaciones de calidad correspondientes.
- Medios no exentos: el usuario debe comprobar su esterilidad y funcionamiento, ya que puede variar en función del lote.

El documento del NCCLS (ahora CLSI) M22-A3 "Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard-Third Edition" proporciona una relación detallada de medios exentos y no exentos (ver Tabla 1B del documento citado).

Algunos de los medios recogidos como exentos son:

- Agar sangre (no selectivo)	- Agar Salmonella- Shigella (SS)
- Agar chocolate	- Caldo Selenito o caldo GN
- Caldo tioglicolato	- Agar CLED
- Caldo BHI o TSB	- Agar Levine o Agar EMB
- Medios de hemocultivo	- Agar MacConkey
- Agar sangre colistina nalidixico	- Agar para Legionella CYE/BCY
- Agar manitol-sal	- Agar Brucella
- Agar alcohol fenil etílico	- Agar yema de huevo
- Agar selectivo para enterococo	- Agar sangre lacada con kanamicina
- Agar TCBS	- Agar Sabouraud dextrosa
- Agar Hektoen	- Agar cornmeal
- Agar XLD	- Lowenstein-Jensen
- Agar CIN	- Agar Middlebrook

Entre los medios no exentos se encuentran el agar Mueller-Hinton, los medios selectivos para cultivo de *Neisseria* spp. y *Campylobacter* spp., entre otros. El laboratorio debe repetir el control de esterilidad y funcionamiento en estos medios y en cualquiera de los relacionados anteriormente que demuestren alguna deficiencia en la recepción o durante su uso, hasta que el problema quede resuelto. El laboratorio puede decidir incluir también en el control del funcionamiento a los medios de cultivo exentos, y según la carga de trabajo, puede realizarlo únicamente en algunos lotes elegidos aleatoriamente.

Si los medios comercializados proceden de empresas no certificadas por la norma ISO o no cumplen con las especificaciones de calidad recomendadas, el usuario debe realizar el control de todos los lotes que se reciben como si se tratase de medios preparados en el laboratorio. En el documento titulado "Recomendaciones generales para el control de calidad interno en Microbiología

Clínica" elaborado por el equipo colaborador del Grupo de Estudio de Gestión en Microbiología Clínica (GEGMIC) (www.seimc.org/grupos/gegmic) se detallan todos los aspectos relacionados con los requisitos y frecuencias del control de calidad interno de medios de cultivo, así como las cepas de referencia que se deben utilizar para el control de los medios de cultivo más utilizados (ver anexo 1 del capítulo 2 de este documento).

Cualquier deficiencia en el aspecto físico, esterilidad, no crecimiento de la cepa deseada, o no inhibición de la cepa no deseada, será documentada y notificada a los fabricantes para que emprendan las medidas correctoras.

5.1.1.2. Medios de cultivo preparados en el laboratorio. Algunos medios de cultivo se preparan en el propio laboratorio, bien porque es necesario que sean recientes para determinados cultivos o porque se debe disponer de ellos inmediatamente y no hay tiempo de solicitarlos a un fabricante. En este caso, hay que controlar el medio deshidratado, los aditivos que se van a utilizar, el procedimiento de la elaboración, el envasado, etiquetado y almacenamiento y por último, comprobar las características físicas, esterilidad y funcionamiento del medio preparado con cepas de referencia. Todas las fases del proceso han de estar documentadas en un manual de procedimiento y debe mantenerse un registro detallado de las mismas.

Los medios deshidratados y aditivos que se utilizan para preparar los medios deben estar etiquetados con las fechas de caducidad, de recepción y la fecha en la que se abrieron por primera vez y se deben almacenar en condiciones adecuadas.

El proceso de elaboración debe quedar registrado, anotando la identidad de los medios, número de lote o fecha de preparación, condiciones de almacenamiento, fecha de caducidad y la identidad de la persona que los ha preparado. Es recomendable que cada placa o tubo individual vaya identificado con el nombre del medio y número de lote o fecha de preparación. Si se van a preparar diferentes medios en el propio laboratorio es conveniente disponer de un sistema automático de etiquetado. Los tubos o placas preparados se deben almacenar en las condiciones adecuadas establecidas.

Para realizar el control de calidad del medio una vez preparado, se seguirá el mismo procedimiento que para los medios comerciales no exentos.

5.1.2. Reactivos. Se consideran como tales, entre otros, los colorantes para tinciones, discos con reactivos o con antimicrobianos, y los *kits* o sistemas comerciales que incorporan una variedad de medios, sustancias bioquímicas y reactivos o cualquier combinación de los mismos.

Para los reactivos preparados en el laboratorio, debe existir una ficha técnica de elaboración que incluya el control de esterilidad y de funcionamiento adecuado y un registro en el que se indique la fecha de preparación, la validación realizada y las personas responsables. En el caso de preparados

comerciales deben solicitarse al fabricante evidencias de que cumplen criterios de calidad.

Todos los reactivos deben estar etiquetados con su contenido, concentración, condiciones de conservación, fecha de preparación o de reconstitución, y fecha de caducidad o periodo recomendado de almacenamiento, y se deben conservar siguiendo las recomendaciones de los fabricantes.

Debe existir un documento o ficha para cada reactivo o *kit* donde se detallen sus componentes y proporción, la indicación (ensayo microbiológico para el que se utiliza), los controles que deben utilizarse y los criterios de aceptabilidad, el plan y frecuencia de control, las condiciones de conservación, limitaciones de su uso o de interpretación, descripción del tipo de lectura de los resultados y método de lectura. En el caso de los *kits* comerciales, solamente se podrán utilizar los componentes de uno con otros si pertenecen al mismo número de lote, salvo especificaciones concretas del fabricante.

Se deben utilizar cepas de referencia (ver apartado 5.1.3 de este documento) para el control de todos los reactivos, colorantes para tinciones y discos. Al menos se debe incluir un microorganismo que produzca una reacción positiva y otra negativa con cada control. En el caso de *kits* comerciales proporcionados por fabricantes que siguen sistemas de calidad se recomienda al menos un control en la validación inicial. Nuevamente, en el documento de la SEIMC anteriormente referido (www.seimc.org/grupos/gegmic) se indican las cepas de referencia que se deben utilizar para el control de los reactivos más utilizados (ver anexo 2 del capítulo 2 de este documento).

La frecuencia de control con cepas de referencia depende del tipo de reactivo, de su estabilidad y de las características intrínsecas de la reacción. En la tabla 1 se resumen las frecuencias de control requeridas para algunos de los reactivos más utilizados.

5.1.3. Cepas de referencia. Las cepas de referencia o cepas patrón se definen como microorganismos procedentes de un cultivo puro, definidos por lo menos al nivel de género y especie, catalogados y descritos según sus características y preferiblemente de origen conocido. El laboratorio de Microbiología debe mantener una colección de microorganismos de referencia para utilizarlos en la verificación y validación de los medios de cultivo, reactivos, colorantes para tinción y otras sustancias bioquímicas y para el control de la exactitud de las pruebas de sensibilidad a antimicrobianos y de los distintos ensayos microbiológicos. El laboratorio debe manejar las cepas de referencia siguiendo procedimientos que aseguren una conservación adecuada, el control de su pureza y que no hayan perdido sus características. Debe existir un procedimiento de trabajo escrito para sistematizar el procesamiento de las cepas de referencia.

5.1.3.1. Obtención de cepas de referencia

Se pueden obtener:

- De una colección nacional o internacional reconocida, como la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT; www.uv.es/cect), la *American Type Culture Collection* (ATCC; www.atcc.org), o la *Nacional Collection of Type Cultures* (NCTC; <http://cphi.phls.org/uk/divisions/cdmssd/nctc>), entre otras. Estos organismos aportan un certificado de calidad de la cepa de referencia, que se debe conservar para mantener la trazabilidad de la misma.
- De las cepas distribuidas por el Programa de Control de Calidad de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC).
- De casas comerciales, siempre que el laboratorio aporte un certificado que garantice la autenticidad de la cepa.

Tabla 1. Frecuencia de control de los reactivos utilizados con mayor frecuencia en Microbiología

Reactivos	Frecuencia
Colorantes de tinción	
Gram	Nuevo lote + semanal
Ácido-alcohol resistencia	Nuevo lote + cada día de uso
Tinciones fluorescentes	Nuevo lote + cada día de uso
Azul de lactofenol	Nuevo lote o cuando se prepare
Tinciones de parasitología	Nuevo lote + una vez cada mes de uso
Reactivos, discos y tiras	
Catalasa	Nuevo lote o vial + cada día de uso
Oxidasa	Nuevo lote o vial + cada día de uso
Coagulasa	Nuevo lote o vial + cada día de uso
Bacitracina	Nuevo lote + una vez cada semana de uso
Optoquina	Nuevo lote + una vez cada semana de uso
ONPG	Nuevo lote + una vez cada semana de uso
Factores X, V y XV	Nuevo lote + una vez cada semana de uso
Antisueros	Nuevo vial + una vez cada mes de uso
Detección de antígenos bacterianos	Nuevo lote o vial + cada día de uso
Kits comerciales de identificación	Validación inicial
Sondas de ADN	Nuevo lote o vial + cada día de uso

Cada vez que se reciba una cepa de referencia debe quedar registrado el nombre completo y origen

de la cepa, organismo suministrador, fecha de recepción, número de envases recibidos, tipo y lugar de conservación y firma de la persona que recibe la cepa de referencia, así como los controles (pureza, pruebas bioquímicas) realizados.

5.1.3.2. Mantenimiento y utilización de las cepas de referencia. Las **cepas de referencia** deben reconstituirse siguiendo las instrucciones del suministrador.

Las **cepas de reserva** se obtienen por subcultivo en los medios adecuados de las cepas de referencia. Las cepas de reserva se pueden conservar mediante liofilización, en nitrógeno líquido o congeladas a temperaturas $\leq -50^{\circ}\text{C}$ en medios con agentes estabilizantes para la congelación, por ejemplo, caldo de soja tripticasa con glicerol al 10-15% v/v o tubos comerciales con 20-30 esferas/tubo (permiten tomar una esfera sin necesidad de descongelar todo el tubo). Según el documento M22-A3 del NCCLS (actualmente CLSI) en estas condiciones pueden mantenerse indefinidamente y a temperaturas entre -50°C y -20°C se pueden conservar hasta un año. Todos los viales deben identificarse con el nombre de la cepa, procedencia y fecha de congelación. Una vez descongeladas las cepas de reserva no se deben volver a congelar ni a reutilizar.

Las **cepas de trabajo** se obtienen por subcultivo de las cepas de reserva, una vez descongeladas, en medios sólidos seleccionados según el microorganismo. Se conservan a $2-8^{\circ}\text{C}$ o a temperatura ambiente durante un máximo de un mes, siempre que se asegure la viabilidad de la cepa. De las cepas de trabajo se pueden realizar como máximo tres subcultivos, siempre que la cepa conserve sus características. Posteriormente, deben reemplazarse a partir de la cepa de reserva congelada. Las cepas de trabajo no se deben subcultivar para sustituir a las cepas de reserva.

Cada vez que se vaya a hacer uso de una cepa de referencia, cepa de reserva o cepa de trabajo, hay que comprobar, una vez subcultivadas, su pureza, morfología típica, y si es necesario, las pruebas bioquímicas características.

Todo el procesamiento debe quedar registrado, detallando las operaciones realizadas, resultados de los controles, así como las personas que lo han realizado.

5.1.4. Antibiograma. El aseguramiento de la calidad del antibiograma es una de las tareas de mayor importancia en el laboratorio de Microbiología Clínica, ya que existen multitud de factores que pueden afectar a los resultados de un antibiograma. Por ello, es obligatorio realizar estas pruebas siguiendo métodos normalizados y controlar los siguientes aspectos:

- Control de calidad interno: precisión del procedimiento.
- Calidad de los medios de cultivo.
- Calidad de los reactivos (discos, tiras y antibióticos).
- Control del inóculo.
- Lectura interpretada del antibiograma

a) *Control de calidad interno*

El control de calidad rutinario del antibiograma sea por difusión con discos o por cálculo de la concentración mínima inhibitoria (CMI) está basado en la realización de estas pruebas en unas condiciones estándar y con la inclusión de cepas de referencia que, lógicamente, sean genéticamente estables. Los resultados que se deben esperar en estas pruebas realizadas con cepas de referencia son conocidos, siendo los más utilizados los publicados por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI).

Las cepas que se utilizan con mayor frecuencia, recomendadas por organismos internacionales como el CLSI, son cepas sensibles. Sin embargo, con frecuencia hay que utilizar cepas resistentes que pueden ser genéticamente menos estables. En estos casos es necesario controlar sus mecanismos de resistencia con periodicidad.

La frecuencia recomendada para realizar las pruebas de control de calidad es muy alta. De hecho, cuando se pone en marcha la técnica o si se produce cualquier cambio del procedimiento, la frecuencia debe ser diaria. Una vez que la técnica es absolutamente exacta y reproducible, se puede pasar a frecuencia semanal. El CLSI sugiere pasar a frecuencia semanal solo si no se sobrepasa la cifra de 3 diámetros de inhibición o de tres valores de CMI incorrectos de cada 30 ensayos. Hay que dejar constancia de estos controles con sus resultados en un formulario preparado con esa finalidad.

Cualquier diámetro de inhibición o CMI diferente al valor esperado debe hacer sospechar de una contaminación o de una mutación. En este último caso se debe reemplazar la cepa de trabajo por un nuevo subcultivo de la cepa de reserva o de referencia, o incluso, obtener una nueva cepa de referencia de las colecciones indicadas en el apartado 5.1.3. Cepas de referencia.

b) *Calidad de los medios de cultivo*

Los medios utilizados para realizar antibiograma, agar Mueller-Hinton, *Haemophilus Test Medium*, etc., son medios no exentos según el documento M22-A3 del CLSI, por lo tanto, es necesario controlar cada nuevo lote recibido en el laboratorio con las cepas de referencia (características físicas, esterilidad, funcionamiento). Estos ensayos deben incluir los antibióticos que se utilizan con cada medio. Si los valores obtenidos no son los esperados hay que revisar los siguientes aspectos:

- Verificar que el resto de los reactivos utilizados (discos y antibióticos) ya han sido sometidos al correspondiente control de calidad.
- Revisar las características físicas del medio, por ejemplo, las placas con poco agar, por debajo de 15 ml por placa, es fácil que provoquen que los halos sean mayores de los debidos, lo contrario puede suceder con placas de mayor espesor.

c) *Control de los discos, tiras y antibióticos*

Es necesario controlar cada nuevo lote que se reciba en el laboratorio. Además, se debe estar alerta a la disminución de los valores de un único antibiótico incluido en el antibiograma, ya que

indicaría un probable deterioro de un disco o antibiótico concreto. Otros aspectos que se deben controlar son los siguientes:

- Temperatura de almacenamiento: debe ser preferentemente a -20°C, salvo el cartucho en uso que se almacenará a temperatura de refrigeración o si así lo aconseja el fabricante.
- Deben estar protegidos de la luz.
- Es recomendable permitir que los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de utilizarse para evitar condensaciones.
- La fecha de caducidad.

Un caso aparte es el de los discos con inhibidores de beta-lactamasa que requieren un control específico para detectar el deterioro del inhibidor. Este deterioro se puede poner de manifiesto utilizando una cepa patrón de *E. coli* productora de beta-lactamasa.

d) Control del inóculo

La densidad del inóculo también afecta al rendimiento del antibiograma. De hecho, los inóculos con mayor carga bacteriana de la normalizada provocan diámetros de inhibición menores o CMI's más elevadas de las debidas, ocurriendo lo contrario cuando el inóculo es demasiado bajo.

En los documentos del CLSI y de otros organismos habitualmente aparece como inóculo normalizado el equivalente al 0,5 de la escala de McFarland. Para preparar este inóculo se deben utilizar en la medida de lo posible métodos perfectamente reproducibles; el más utilizado es la comparación visual con la escala de turbidez de McFarland. Sin embargo, existen métodos mucho más exactos como los basados en la determinación de la absorbancia de la suspensión bacteriana mediante un espectrofotómetro que, con un mínimo de entrenamiento, se realiza en poco tiempo y permite obtener resultados mucho más exactos.

Es recomendable realizar periódicamente, con la frecuencia que el laboratorio establezca, controles de los inóculos preparados para llevar a cabo las distintas técnicas de antibiograma; para ello, se puede realizar un cultivo cuantitativo a partir de la suspensión bacteriana empleada, y comprobar que el recuento obtenido está dentro de lo esperado según el microorganismo ensayado y técnica empleada (normalmente entre 10^5 - 10^8 UFC/ml).

g) Lectura interpretada del antibiograma

La lectura interpretada del antibiograma es una herramienta extraordinaria para el control de calidad del antibiograma.

El establecimiento de reglas "expertas" para la lectura del antibiograma no solo permite predecir el fracaso terapéutico en base a la caracterización de los mecanismos de resistencia sino que también nos permite detectar la presencia de resultados atípicos. Estas reglas expertas deben estar recogidas en el procedimiento de trabajo utilizado para realizar los antibiogramas de modo que se pueda verificar ante cualquier regla "experta" aplicada en un informe si procede realmente utilizarla. Asimismo, estas reglas deben someterse a revisiones periódicas con objeto

de que estén permanentemente actualizadas. Estas actividades de revisión deben quedar registradas.

Para ello, la validación facultativa de los resultados del antibiograma está basada, en gran parte, en la ausencia de resultados atípicos, por ejemplo, no puede ser posible informar una cepa de *S. pyogenes* como resistente a la penicilina, ya que hasta el momento actual esta resistencia no ha sido descrita. La sola presencia de este fenotipo obligaría a repetir el ensayo y verificar los controles de calidad realizados a los discos de penicilina.

5.1.5. Sistemas automatizados: sistemas de identificación y antibiograma. En los últimos años, la automatización ha irrumpido en los laboratorios de microbiología simplificando el procesamiento del elevado número de muestras que se estudian en muchos laboratorios. Al mismo tiempo, se plantean nuevos retos como el control de calidad de estos equipos.

El control de calidad de los sistemas de identificación y antibiograma automatizado está basado, como el control de calidad del antibiograma, en la inclusión de cepas de referencia. Los aspectos a controlar son muy similares a los ya tratados en el punto anterior como la precisión del procedimiento, el control del inóculo y por supuesto la lectura interpretada del antibiograma.

El programa de control es similar al utilizado en el control de calidad de los antibiogramas. Es decir, con una frecuencia determinada se inoculan en estos equipos cepas de referencia con perfiles de sensibilidad conocidos. Como los reactivos (paneles) suelen incluir pocillos para identificación y pocillos para antibiograma, los controles se pueden realizar simultáneamente.

Inicialmente, es recomendable realizar controles diarios inoculando en paralelo las cepas problema y las cepas control. Posteriormente, una vez demostrada la fiabilidad de los equipos y reactivos (**validación inicial**), se podrá optar por realizar controles con una periodicidad fija o para cada lote nuevo de reactivos. Cuando cambie el procedimiento, el equipo o el tipo de paneles utilizados, habrá que realizar una nueva validación.

Se debe demostrar que el sistema automatizado que se emplea es capaz de identificar correctamente la mayoría de los aislados habituales. Para ello, el programa de control de un laboratorio de Microbiología debe contemplar la rotación a lo largo del año de las cepas de referencia utilizadas.

Esta misma sistemática se aplica a la hora de controlar los perfiles de sensibilidad. A lo largo del año, se debe incluir el mayor abanico de espectros de sensibilidad posibles con objeto de garantizar que el equipo utilizado es capaz de detectarlos.

Todas estas actividades deben quedar registradas de modo que pueda verificarse fácilmente su trazabilidad: fecha de los controles, cepas utilizadas, valoración de los resultados, lote de reactivos y equipos utilizados en el ensayo, etc. Se adjuntará a cada registro una copia del informe generado por el equipo.

Asimismo, si el sistema incluye reglas expertas, deben ser fácilmente accesibles y modificables en el programa informático. Estas reglas están sometidas al mismo programa de revisión que las utilizadas en los antibiogramas manuales debiendo revisarse periódicamente. Estas actividades de revisión deben quedar registradas.

5.1.6. Sistemas automatizados: hemocultivos. El programa de control de calidad de estos equipos debe contemplar dos aspectos:

- *Validación inicial.* A la puesta en marcha del equipo se debe llevar a cabo un pequeño esquema de validación que consistirá en una verificación, mediante el inóculo de cepas patrón, del sistema de detección de crecimiento microbiano que incluyen estos equipos. Se debe preparar un protocolo que describa estas actividades y los resultados de las mismas. Se dejará constancia de las cepas y de la densidad del inóculo utilizado. En definitiva, se trata de poner a prueba los sensores que incluyen estos equipos por lo que sería conveniente utilizar no solo los microorganismos aislados habitualmente sino los de lento crecimiento y los microorganismos fastidiosos.
- *Control de los medios de cultivo.* Según el documento del CLSI M22-A3 estos medios de cultivo comerciales están exentos control de calidad periódico, siempre que el fabricante aporte evidencias del control realizado. Sin embargo, sí se debe confirmar su capacidad para permitir el crecimiento de microorganismos fastidiosos. Como en el caso anterior, se debe preparar un pequeño protocolo que describa estos controles incluyendo un formulario que se completará para dejar constancia de estas actividades.

5.2. SEROLOGÍA

El laboratorio de diagnóstico serológico debe tener establecido un sistema que permita el aseguramiento de la calidad. Así, se deben establecer unos indicadores de calidad que permitan la identificación de los errores. Estos indicadores deben incluir aspectos preanalíticos, analíticos y postanalíticos. Al igual que sucede en otro tipo de laboratorios, la mayoría de errores ocurren en las fases pre-analítica y post-analítica.

En la **fase preanalítica** hay que considerar como factores importantes la idoneidad de las peticiones analíticas y la calidad de la muestra (ausencia de hemólisis, contaminación o lipemia). El transporte no es especialmente crítico para la realización de estudios serológicos, aunque se debe realizar en frío y lo más rápidamente posible. Una fuente importante de error consiste en la identificación de la muestra, siendo recomendable utilizar sistemas automáticos para el reconocimiento de las muestras. En cualquier caso, todas las incidencias en relación con las muestras deben estar adecuadamente registradas.

En la **fase postanalítica** hay que controlar tres aspectos: la emisión de resultados, que pueden causar errores en la transcripción; el tiempo de

respuesta, y, muy importante, la interpretación de los resultados, por lo que debe ser siempre realizada por personal facultativo especializado.

En lo que se refiere específicamente a la **fase analítica** se deben tener en cuenta algunos factores. Se deben emplear siempre ensayos validados. Los ensayos comerciales con marcado CE han sido validados por el fabricante, pero antes de incorporarse al laboratorio deben ser verificadas las características de su funcionamiento. Por otra parte, los ensayos propios del laboratorio, así como aquellos con etiquetado CE que se pretenden aplicar para un fin distinto al establecido por el fabricante, por ejemplo para aplicar a muestra de LCR, o para un ensayo diseñado para muestra de suero, o para caracterizar la avidéz de IgG en un ensayo diseñado para medir IgG específica, deben ser objeto de validación por el laboratorio. Para la validación y para la verificación se deben emplear muestras de resultado conocido, a ser posible con resultado contrastado en laboratorios de referencia. Tanto la validación como la verificación de ensayos se deben llevar a cabo antes de ponerlos en uso para emitir resultados sobre muestras clínicas.

Para la obtención de resultados fiables, como una norma general, se debe contemplar la obligatoriedad de seguir rigurosamente las instrucciones establecidas en el procedimiento. Para el control de calidad se deben incluir los controles que permitan asegurar que el ensayo ha funcionado de forma adecuada, y que los resultados obtenidos son correctos. Así se deben incluir sueros de control positivo (1 o varios) y suero de control negativo. Igualmente, se deben incluir en lo posible controles de todos los componentes de la reacción que sean precisos.

Entre los ensayos comerciales cabe distinguir aquellos que no permiten manipulación por el operador, realizados en sistemas cerrados, y aquellos que, aunque pueden ser realizados de forma manual o de forma automática en procesadores, tienen un alto componente de manipulación por el operador. El primer tipo de ensayos, independientemente de que se realicen determinaciones en dispositivos individuales, o de que se realicen agrupadamente, suele precisar la calibración del ensayo, que se debe realizar en diferentes situaciones: al incorporar un nuevo lote, cada cierto período de tiempo, o al inicio de cada sesión de trabajo. En cualquier caso se deben seguir rigurosamente los criterios de ensayo de los calibradores, y de inclusión de sueros de control, establecidos por el fabricante. Además debe seguirse el protocolo de control del funcionamiento del equipo, según la programación de mantenimiento indicada por el fabricante.

Los ensayos comerciales en forma de *kit* que pueden ser realizados de forma manual o automática, incluyen controles que permiten asegurar que cada ensayo ha funcionado de acuerdo con lo esperado. La mayoría de ensayos comerciales de estas características se llevan a cabo mediante la técnica de ELISA y la técnica de

inmunofluorescencia indirecta (IFI), aunque con menor frecuencia utilizan otros formatos de reacción (aglutinación, y otros). En general contienen sueros de control, incluyendo suero negativo y uno o varios controles positivos, alguno de los cuales se emplea como calibrador, bien para establecer el valor de corte, o bien para aplicarlos en determinaciones cuantitativas. Los valores obtenidos por los sueros de control siempre deben estar en el rango esperado, establecido por el fabricante, y recogido generalmente en una hoja de especificaciones técnicas, o en el propio vial del suero de control. En los ensayos en fase sólida (ELISA, IFI) se deben incluir pocillos de blanco, para excluir que no hay unión inespecífica del anticuerpo secundario a la fase sólida, y controlar la obtención de resultados positivos falsos generalizados, siendo esta situación de especial importancia para aquellos marcadores serológicos de alta prevalencia, en los que la obtención de resultados negativos es poco frecuente.

Por otra parte, los ensayos comerciales modificados para una aplicación diferente al diseño especificado por el fabricante, requieren la inclusión de controles específicos de la nueva aplicación del ensayo: por ejemplo, para ensayos de avidez de IgG realizados en ensayos de determinación de IgG específica se deben incluir sueros de control de baja y de alta avidez.

Adicionalmente, se debe considerar la oportunidad de controlar los ensayos en otras situaciones. Es especialmente importante realizar la verificación cuando se producen desviaciones sistemáticas en los resultados obtenidos, bien sea en los valores de los controles o bien en la proporción de resultados esperados en las muestras estudiadas.

En cualquier caso el aseguramiento de la calidad en los ensayos serológicos debe estar basado en el control de todas las actividades que conducen a emitir resultados por parte de personal responsable adecuadamente cualificado.

6. ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD. CONTROL DE CALIDAD EXTERNO: INTERCOMPARACIONES

La participación en programas de evaluación externa de la calidad es un elemento fundamental en todo sistema de calidad.

El director del laboratorio debe gestionar la participación del laboratorio en ejercicios de intercomparación organizados nacional o internacionalmente y reconocidos oficialmente por servicios de salud, sociedades científicas, etc., con el fin de contrastar sus resultados con otros laboratorios de su campo de actividad.

Las muestras del programa de control de calidad externo se deben analizar dentro de la rutina del laboratorio, como si fueran muestras clínicas, utilizando las mismas técnicas y realizadas por el personal habitual que intervendría en el procesamiento de ese tipo de muestras. En la medida de lo posible, el tratamiento de las muestras (distribución, preparación, análisis y registro de resultados) se realizará del mismo modo que para el

resto de las determinaciones efectuadas en el laboratorio.

Las entidades organizadoras de las intercomparaciones asignan a cada laboratorio una clave con objeto de mantener la confidencialidad en todo momento. Una vez realizado el control, el laboratorio recibe un informe con sus resultados y con un resumen y una valoración estadística de los resultados de los otros laboratorios participantes.

Tras la recepción de los resultados emitidos por el organismo organizador, deben revisarse los resultados emitidos por el laboratorio, dejando constancia de las conclusiones obtenidas tras el estudio de los resultados. Si el resultado obtenido no es el adecuado, hay que analizar las causas y poner en marcha las acciones correctivas adecuadas, dejando constancia de todas las actuaciones.

En este caso y siempre que el resultado no sea satisfactorio se realizarán las siguientes actividades:

- Revisión de los datos primarios.
- Controles realizados (medios de cultivo, temperatura de estufas, etc.)
- Si no se encuentra la causa, se realizará un control interno para evaluar si el problema persiste o es imputable a un problema puntual.
- Se evaluará, durante el periodo comprendido entre la realización del control interlaboratorio y el primer control interno posteriormente realizado, el efecto del problema en las muestras analizadas.

De no existir evaluación de la entidad organizadora, o en caso de no estar de acuerdo con la misma, el laboratorio dejará documentado el criterio seguido para realizar su propia evaluación.

Como es lógico, la participación de los laboratorios de microbiología en estos ejercicios debe cubrir si no toda, sí la mayor parte de los alcances para los que se desee una acreditación. Se deben cubrir, por tanto, áreas tan dispares como la microscopía, el cultivo, la serología, etc. El problema radica en que no hay ejercicios de intercomparación que cubran todo el espectro de análisis que un laboratorio de Microbiología puede realizar.

La SEIMC dispone de un sistema de evaluación externa de la calidad muy completo que abarca todas las áreas del laboratorio clínico. Sin embargo, el número de controles realizados en alguna de las áreas es bajo. Por ello, conviene suscribirse a los programas de otros organismos como el del Colegio de Patólogos Americanos (CAP) o al programa de aseguramiento externo de la calidad del Reino Unido ("UK-NEQAS: *United Kingdom National External Quality Assessment Schemes*"). El CAP (www.cap.org) organiza los mayores programas de intercomparación para los laboratorios clínicos disponibles hoy en día.

El programa de aseguramiento externo de la calidad del Reino Unido (www.ukneqas.org.uk/) también es muy completo; incluye, además de la bacteriología general, pruebas de sensibilidad a antibióticos, a antifúngicos, virología, análisis parasitológicos, un amplio espectro de

determinaciones de serología, micobacterias y clamidias.

Entre las tres entidades es muy probable que se pueda disponer de intercomparaciones suficientes para cubrir adecuadamente el alcance de la acreditación de un laboratorio de Microbiología. Si ello no fuera posible, también existe la posibilidad de organizar este control de calidad externo directamente entre varios laboratorios sin la participación de entidad organizadora alguna. Para ello, se deben poner de acuerdo un grupo de laboratorios interesados designando al coordinador del programa. Posteriormente, con la periodicidad pactada, los laboratorios participantes se deben turnar en la preparación y distribución de las muestras objeto de la intercomparación.

El laboratorio debe establecer la sistemática para participar en estos programas y para la evaluación de los resultados, así como la gestión y archivo de las acciones correctivas tomadas, cuando sean necesarias.

7. EQUIPOS

El laboratorio debe contar con los equipos necesarios para la correcta ejecución de los ensayos y disponer de un inventario actualizado de los equipos en uso. La calidad de un análisis microbiológico depende, entre otros factores, del buen uso y funcionamiento de los equipos.

7.1. CONCEPTOS

A lo largo de este documento se van a emplear una serie de conceptos, cuya definición es la siguiente:

- **Validación:** Confirmación a través de evidencia objetiva (documentos, resultados de las comprobaciones de la prueba antes de su implantación) de que los requisitos previstos han sido satisfechos para una aplicación específica. En referencia a los equipos se refiere al conjunto de operaciones que se deben realizar a un equipo antes de ponerlo en uso para comprobar su funcionamiento y conocer sus características que pueden influir sobre los resultados del ensayo.
- **Calibración:** Conjunto de operaciones que permiten establecer, en condiciones específicas, la relación entre los valores obtenidos por el instrumento o sistema de medida y los valores correspondientes del mensurando obtenidos mediante un patrón de referencia que debe tener trazabilidad con patrones nacionales o internacionales reconocidos. El resultado de una calibración permite estimar los errores que comete un instrumento en su rango de medida, pudiendo registrarse en un documento denominado certificado o informe de calibración. Para los sistemas analíticos (conjunto de instrumento, método y calibrador) debe aplicarse el concepto de **calibración analítica** basada en el uso de materiales de referencia/calibradores.
- **Incertidumbre de medida de un instrumento:** Parámetro asociado al resultado de las sucesivas medidas, que caracteriza la dispersión de los valores que razonablemente pueden atribuirse al

mensurando (magnitud que se desea medir, por ejemplo, valor real de la temperatura). El conocimiento de la incertidumbre indica la calidad de una medición, permitiendo conocer el posible error. Por ejemplo, si en un termómetro se tiene una incertidumbre de medida de $0,3^{\circ}\text{C}$, cuando marque una temperatura de 30°C , hay que tener en cuenta que la temperatura real puede estar entre $29,7^{\circ}\text{C}$ y $30,3^{\circ}\text{C}$.

En general en los laboratorios de microbiología no es necesario el cálculo de la incertidumbre, a no ser que el organismo acreditador o el laboratorio considere crítica una medida en un determinado equipo (por ejemplo, el valor real de la temperatura en un punto en cámaras o estufas de cultivo grandes, que deben mantenerse a temperaturas entre $35\pm 2^{\circ}\text{C}$). En el documento técnico PNT-ACR-01 del presente procedimiento se describe un método para estimar la incertidumbre de medida de termómetros.

- **Caracterización de un equipo:** Procedimiento para conocer la incertidumbre de medida del mismo (por ejemplo, de un termómetro). Hay que tener en cuenta que al hablar de caracterización, por ejemplo, de una cámara caliente, se está calculando la incertidumbre de la medida de temperatura, teniendo en cuenta la incertidumbre del termómetro que se ha utilizado, la incertidumbre debida a la posible inestabilidad de la temperatura y la incertidumbre debida a la diferencia de temperatura en distintos puntos (uniformidad).
- **Intervalo de tolerancia:** Intervalo de valores en el que debe encontrarse una magnitud para que se acepte como válida. En magnitudes críticas para el resultado de un ensayo para conocer si el valor concreto de una medición está dentro del rango de tolerancia, hay que tener en cuenta la incertidumbre de medida.
El laboratorio debe establecer los criterios de aceptación de incertidumbre para un equipo, cuando proceda, según el rango de tolerancia de medición establecido. Por ejemplo, en el caso de que en una estufa sea crítico que la temperatura real se mantenga entre $35\pm 2^{\circ}\text{C}$, y si se le permite al termómetro de la misma una incertidumbre $< 1^{\circ}\text{C}$, el rango de tolerancia permitido a la estufa debe ser $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ (lo que marca el termómetro), ya que si marcara un valor de $36,5^{\circ}\text{C}$ y la incertidumbre del termómetro fuera de $0,7^{\circ}\text{C}$, se podría tener una temperatura de $37,2^{\circ}\text{C}$, que estaría fuera del rango $35\pm 2^{\circ}\text{C}$.
- **Verificación:** Confirmación a través de evidencia objetiva de que los requerimientos para el uso o aplicación propuestos (comprobados en la validación) se cumplen en el día a día. Se trata de comprobar que diariamente un equipo cumple con sus especificaciones, como es el caso de comprobar diariamente la temperatura de una estufa, el funcionamiento de jarras de anaerobiosis, etc. En Microbiología, es posible realizar verificaciones biológicas comprobando el

crecimiento de un microorganismo en un ambiente o medio específico, por ejemplo, un meningococo en una estufa de CO₂, un anaerobio en un sistema para anaerobiosis, etc.

- **Mantenimiento:** Conjunto de operaciones que permiten que un equipo o sistema de medidas esté en condiciones de uso adecuadas a su propósito. Puede estar destinado a corregir fallos o averías una vez producidas y detectadas (mantenimiento correctivo) o a prevenir fallos, deterioros o potenciales causas de malfuncionamiento (mantenimiento preventivo).

7.2. CONTROL DE EQUIPOS

El control de los equipos incluye la recepción, puesta en uso y revisión de los equipos.

7.2.1. Recepción, validación y puesta en uso de los equipos. Cuando un nuevo equipo se recibe en el laboratorio hay que comprobar que cumple con lo especificado en el contrato, solicitud de compra o condiciones explícitas o implícitas de cesión, además de verificar la documentación que lo acompañe y su estado. Antes de ponerlo en uso se le realizará una validación inicial que puede incluir, en caso de ser un instrumento de medida, su caracterización determinando la incertidumbre en las medidas (hay que tener en cuenta que la norma ISO 15189 y la documentación de ENAC relacionada se refieren a estos procedimientos como calibración) y otras características en las medidas como exactitud, precisión, etc.

Una vez que se haya comprobado el adecuado funcionamiento del equipo, se autorizará su puesta en servicio.

7.2.2. Expediente e inventario de equipos. Es necesario identificar los equipos de forma única con un código siguiendo el sistema que elija el laboratorio y abrir el expediente del equipo, que no es más que el conjunto de documentación referente al equipo archivada de manera que esté fácilmente localizable y sea de fácil manejo. El expediente del equipo debe contener lo siguiente:

- Ficha de equipo (Anexo 1) con la siguiente información:
 - Descripción y código del equipo.
 - Localización habitual del equipo.
 - Datos del fabricante.
 - Fecha de recepción.
 - Fecha de puesta en servicio.
 - Firma de quien abra la ficha o autorice la puesta en servicio del equipo.
 - Tipo de validación/calibración y verificación y periodicidad.
 - Procedimiento de mantenimiento y periodicidad.
 - Precauciones de bioseguridad.
 - Ficha histórica donde se describen todas las revisiones hechas al equipo.
- Documentación del fabricante (manual del equipo).

- Instrucciones de uso y mantenimiento, que deben estar fácilmente disponibles para el personal del laboratorio autorizado.
- Registros de las revisiones realizadas.
- Instrucciones de uso resumidas, en caso de que existan, que deben permanecer junto al equipo.

El laboratorio debe disponer de un inventario de equipos, que es un listado de los equipos actualmente en uso en el laboratorio, el cual debe estar actualizado y es recomendable que incluya la siguiente información:

- Denominación del equipo, fabricante, número de serie.
- Código de identificación y localización del equipo.
- Tipo de revisión: validación/ calibración/ verificación/mantenimiento, interno o externo.
- Periodicidad.
- Documento de referencia en el que se describen las instrucciones para la revisión del equipo.

7.2.3. Revisión de equipos. El laboratorio debe disponer de un programa de validación (o calibración), verificación y mantenimiento de sus equipos; la frecuencia de cada procedimiento se establecerá en función del uso, tipo y funcionamiento previo de los mismos. Cada procedimiento de revisión debe quedar registrado y los registros mantenerse y estar fácilmente disponibles durante la vida útil del equipo.

7.2.3.1. Validación (caracterización, calibración) y verificación. Estarán sometidos a estos procesos aquellos equipos que puedan influir significativamente en los resultados de los ensayos. Los equipos utilizados para hacer mediciones que tengan un efecto significativo en la validez de los resultados, deben ser caracterizados para conocer sus características metrológicas (incertidumbre, exactitud, precisión, según proceda) antes de ponerlos en uso. Posteriormente, los periodos de validación (o calibración) y/o verificación se establecen en función de la naturaleza del equipo, condiciones de uso, historia previa del equipo y recomendaciones del fabricante. Es aconsejable validar y verificar el funcionamiento de los equipos después de operaciones de mantenimiento preventivo y correctivo o modificación del equipo. En la Tabla 2 se indica la frecuencia recomendada para validación y verificación de algunos equipos de uso en el laboratorio de Microbiología.

Cuando la validación (calibración) sea realizada por un laboratorio externo, este tendrá que estar acreditado por ENAC, u otros firmantes del acuerdo Multilateral de Reconocimiento Mutuo de EA o ILAC y el certificado proporcionado debe incluir la marca de acreditación o referencia a su condición de acreditado. Las validaciones y verificaciones, cuando sea factible, las puede realizar personal del laboratorio con formación adecuada y siguiendo los procedimientos que se hayan establecido para cada equipo según sus características.

Es necesario identificar el estado de validación de los equipos. Una vez validado el equipo se

identificará con una etiqueta, cuando sea posible, en la que quede claro su estado, fecha de validación y periodo de validez.

7.2.3.2. Mantenimiento. El mantenimiento de equipos como baños termostáticos, estufas, refrigeradores, congeladores, cabinas de seguridad biológica, termómetros, balanzas, material volumétrico, microscopios, etc. consiste en limpieza, inspección de posibles daños y comprobación general. La frecuencia de estas operaciones la establecerá el laboratorio según sus necesidades, tipo y funcionamiento previo del equipo. En el documento G-ENAC-4. Rev. 3 se establece una frecuencia orientativa para estas operaciones según el equipo.

En el caso de sistemas automatizados como analizadores de serología, sistemas de identificación y antibiogramas, hemocultivos, etc., debe existir un programa de mantenimiento preventivo que, como mínimo siga las recomendaciones del fabricante, ajustándose las operaciones de mantenimiento a lo descrito en el manual del equipo.

Cuando el resultado de la revisión de un equipo no es satisfactorio, se estudiarán las causas y la incidencia de dicha circunstancia en las medidas realizadas y se tomarán las acciones correctoras pertinentes. En el caso de que el equipo quede fuera de uso, se colocará la etiqueta EQUIPO NO CONFORME o bien será trasladado a una zona de productos NO CONFORMES.

8. PERSONAL: REQUISITOS

En el laboratorio de Microbiología debe existir una relación detallada de puestos de trabajo, en la que se defina para cada puesto la titulación, cualificación y obligaciones del personal que lo ocupa. Se debe establecer una sistemática para garantizar que el personal está formado y capacitado para desempeñar las funciones específicas de su puesto de trabajo y así asegurar en este aspecto la calidad en todas las etapas del proceso analítico. Es necesario que el personal esté entrenado en los principios de las buenas prácticas de laboratorio, que reciba la formación y entrenamiento adecuados para las técnicas que va a realizar y que se evalúe su competencia de modo continuo. La dirección del laboratorio debe mantener registros de la formación y cualificación, de la experiencia profesional y de la competencia de todo el personal.

8.1. FORMACIÓN INICIAL

Las titulaciones necesarias para ocupar los diferentes puestos de trabajo de un laboratorio están legisladas en documentos nacionales o autonómicos. Los requisitos son diferentes para cada categoría de personal y dependen de si el laboratorio realiza pruebas de moderada o de alta complejidad, aunque hay un mínimo exigible de cualificaciones y de responsabilidades primarias para cada tipo de puesto de trabajo. El Director del Laboratorio de Microbiología debe ser un titulado superior con la especialidad oficial de Microbiología y Parasitología y con entrenamiento y experiencia en esta disciplina, así como el responsable de gestionar la calidad del

laboratorio (responsable de Calidad) y los responsables de las diferentes áreas en las que se organice el laboratorio.

En general, los análisis deben ser realizados por personal técnico cualificado (técnicos especialistas de laboratorio) con experiencia en microbiología. La supervisión de los análisis y la interpretación de los resultados deben ser realizadas por un titulado superior con la especialidad de Microbiología y Parasitología. Todo el personal del laboratorio es responsable de cumplimentar los registros relacionados con el aseguramiento de la calidad en los formularios apropiados facilitados por el responsable de calidad, que es el responsable de su revisión y mantenimiento de forma organizada que facilite el acceso y la inspección de los mismos.

8.2. CUALIFICACIÓN Y COMPETENCIA

Además de poseer la titulación requerida, el personal del laboratorio debe ser competente para desarrollar las tareas específicas de su puesto de trabajo. Antes de realizar una determinada actividad, el personal debe cualificarse, para ello debe conocer los manuales o procedimientos del laboratorio y someterse a un entrenamiento adecuado en la actividad a realizar.

Ante la incorporación de personal técnico en el laboratorio, se determinará un periodo de entrenamiento o formación tutelada para conseguir la cualificación necesaria para desarrollar las tareas correspondientes al puesto de trabajo que vaya a desempeñar. El proceso de cualificación puede comprender las siguientes actividades:

- Lectura y comprensión de los procedimientos de trabajo específicos del puesto (PNT, Manuales de equipos necesarios, etc.) y procedimientos generales, como normas de seguridad del laboratorio.
- Observación de cómo se realizan los ensayos por personal técnico ya entrenado.
- Realización de estos procedimientos bajo la tutela de otro técnico ya formado y/o por el facultativo de la unidad y el/la supervisor/a de enfermería del laboratorio.
- Autorización por parte del facultativo de la unidad y el/la supervisor/a de enfermería del laboratorio para desempeñar el puesto tras la evaluación de todo el proceso.

Este proceso debe quedar registrado, enumerando las actividades realizadas y los responsables de cada una de ellas (en el anexo 2 de este procedimiento se propone un formulario para registrar el proceso de cualificación del personal técnico).

Posteriormente, es necesario evaluar que el personal sigue siendo competente para desarrollar su labor correctamente; para ello se debe evaluar la competencia del personal anualmente. El director del laboratorio evaluará la competencia del personal facultativo y el supervisor o coordinador del laboratorio debe evaluar al personal técnico y de enfermería en base al desempeño de las funciones específicas de cada puesto de trabajo. Se dejará evidencia de dicha evaluación por escrito.

Tabla 2. Recomendaciones para validación y verificación de equipos

EQUIPO	VALIDACIÓN*	FRECUENCIA	VERIFICACIÓN	FRECUENCIA
Aparatos de temperatura controlada: cámaras, estufas, refrigeradores, congeladores, baños, etc.	Caracterización**: - Uniformidad y estabilidad de la temperatura - Incertidumbre	Cada 2 años	Temperatura	Diario/en cada uso
Termómetros de referencia	Incertidumbre de medida en su rango de medida	Cada 5 años		
Termómetros de trabajo	Incertidumbre de medida frente a termómetro de referencia en el rango de temperatura de uso	Anualmente		
Estufas de CO ₂	Calibrar: Temperatura Nivel CO ₂ interno (utilizar aparato medidor de CO ₂ certificado)	Anualmente Anualmente o según uso	Temperatura Nivel CO ₂ Humedad Control biológico (<i>Neisseria gonorrhoeae</i>)	Diario Diario Semanalmente Diario o semanal según uso
Balanzas	Incertidumbre de medida Error máximo permitido	Anualmente	Ajustar cero y comprobar con pesa control	Cada uso
Pesas de referencia	Incertidumbre de medida	Cada 5 años		
Autoclaves	Funcionamiento: Uniformidad de la temperatura Tiempo de temperatura máxima	Cada 2 años	Temperatura/tiempo Indicadores químicos Indicadores biológicos	Cada carga Cada carga Semanalmente
Microscopios	Comprobación características	Inicialmente o cuando se cambie algún componente	Realineamiento	Cada 6 meses o antes, si es necesario
Centrífugas***	Calibrar velocidad frente a tacómetro trazable	Anualmente	Equilibrar carga Funcionamiento general	Diario/ en cada uso
Pipetas automáticas	- Exactitud - Precisión - Incertidumbre de medida	Anualmente		
Cabinas de seguridad biológica	Velocidad del flujo de aire y otras especificaciones técnicas. Integridad filtro HEPA	Anualmente o cuando cambie de lugar	Comprobar flujo de aire	Cada uso
Jarras/estufas anaerobiosis	Indicador de anaerobiosis Control biológico	Inicialmente	Indicador de anaerobiosis Control biológico	Cada uso

* La norma ISO 15189 y la documentación de ENAC relacionada se refieren, en algunos casos, a estos procedimientos como calibración. Además de la frecuencia indicada para la validación se realizará siempre inicialmente antes de la puesta en uso del equipo y después de cada reparación o modificación importantes.

** Solo recomendable en cámaras o estufas de cultivo grandes, que deben mantenerse a una temperatura crítica para el resultado de un ensayo.

*** Solo calibrar las centrífugas que se consideren críticas para el resultado de un ensayo.

8.3. FORMACIÓN CONTINUADA

El personal del laboratorio debe emplear al menos un 5% de su tiempo de trabajo en actividades de formación continuada. Con la evolución permanente de la tecnología, la educación continuada es la única forma de asegurar que el personal sea competente en la realización de sus tareas. El laboratorio debe establecer un sistema para detectar las necesidades de formación del personal y elaborar un plan de formación que dé respuesta a esas necesidades, que se revisarán con una periodicidad mínima anual. El plan debe estar basado en los contenidos de la especialidad y en necesidades específicas de formación del personal; para desarrollarlo se organizarán sesiones docentes (revisiones de temas, bibliografía, sesiones clínicas, etc.) y cursos tanto para los titulados superiores como para el personal técnico. Debe quedar constancia de las actividades de formación llevadas a cabo. También es recomendable la asistencia a congresos, reuniones, cursos o simposios que proporcionan una actualización científica y técnica. Algunas sociedades profesionales organizan audio-conferencias o teleconferencias y existen programas gratuitos proporcionados por la *Association for Public Health Laboratories* del *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) que son muy útiles con propósitos formativos. El programa de control de calidad de la SEIMC (ver www.seimc.org/control) contribuye a la formación continuada de los participantes, proporcionando revisiones temáticas, y a través de los supuestos clínicos y análisis generales de datos.

9. SISTEMAS DE INFORMACIÓN

Cuando se solicita un estudio microbiológico comienza un proceso que acaba cuando el resultado del ensayo al que es sometida una muestra clínica es recibido o conocido por el médico que lo solicitó. A lo largo de este proceso se genera información; el laboratorio debe establecer procedimientos para su gestión que garanticen la integridad de los datos del paciente y de los resultados generados, al mismo tiempo que un alto grado de confidencialidad. Los resultados y la información que éstos generan son los productos del laboratorio de Microbiología, y la forma en que el clínico los recibe debe reflejar la calidad del proceso analítico y contribuir al correcto tratamiento del paciente, o lo que es lo mismo, deben tener utilidad clínica. Esto se consigue no solo gestionando bien la información dentro del laboratorio, sino también de puertas afuera; para ello es necesario que existan unos adecuados canales clínico-microbiológicos de difusión de la información.

9.1. CONFIDENCIALIDAD

Un elemento importante de la política de calidad de un laboratorio de Microbiología que se vaya a acreditar debe ser el respeto a la confidencialidad del proceso analítico, de sus resultados y de otros documentos. Debe garantizarse por la aplicación de la normativa recogida en la Ley General de Sanidad y en la Ley Orgánica de Protección de Datos de

Carácter Personal. Esta normativa es de obligado conocimiento y cumplimiento por todo el personal del laboratorio. Los mecanismos que el laboratorio puede articular para garantizar su cumplimiento en la rutina diaria son:

- Acceso al sistema informático restringido a través de claves con distintos niveles de acceso según el nivel de autorización del usuario.
- La instalaciones del sistema informático y el archivo de documentos con información de pacientes (en formato papel o electrónico), deben estar en un lugar de acceso restringido de forma que solo las personas autorizadas puedan acceder a él.
- En el caso de existir consultas a los resultados por vía electrónica desde otros servicios hospitalarios o desde Atención Primaria, el acceso se hará a través de clave personal e intransferible. El sistema no debe permitir la manipulación o modificación de los datos que se consultan y además debe ser perfectamente trazable, de manera que sea posible conocer quién, cuándo ha accedido al sistema y qué ha consultado.

9.2. TRAZABILIDAD

El sistema debe permitir la trazabilidad del informe microbiológico, o lo que es lo mismo, que se pueda relacionar a través de una cadena ininterrumpida de actuaciones a los responsables establecidos en la totalidad de las fases preanalítica, analítica y postanalítica. Esto quiere decir que el laboratorio debe establecer un sistema para identificar a los individuos que han participado en cada uno de los pasos del procesamiento de una muestra clínica desde que se recibe en el laboratorio hasta que su resultado se envía al facultativo que solicitó su estudio.

9.3. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS

Es recomendable que los laboratorios tengan un procedimiento documentado para establecer la política de la gestión de la información, disponible para el personal, en el cual se queden establecidos:

- La adecuada localización y mantenimiento de las instalaciones informáticas, para garantizar su adecuado uso y funcionamiento y al mismo tiempo, protegerlas de accesos no autorizados.
- La política de utilización del sistema informático por el personal del laboratorio, definiendo los distintos niveles de acceso al mismo.
- La metodología para realizar los siguientes procesos:
 - Registro de peticiones (datos del paciente, datos de la muestra).
 - Introducción (o transmisión desde analizadores) de resultados.
 - Revisión, validación, impresión y autorización de informes.
- El sistema de almacenamiento (en formato papel o electrónico) de datos (archivo de peticiones, resultados e informes), que debe permitir su fácil recuperación en caso de ser

necesario, e impedir la pérdida de datos relevantes para la asistencia de un paciente, así como el acceso no autorizado o manipulación indebida.

- Planificación de resolución de incidencias relacionadas con la gestión de la información.
- Estrategias para garantizar la protección de los datos del paciente en cumplimiento de la legislación vigente (políticas de acceso, trazabilidad, localización del sistema informático y archivos, etc.).
- Responsabilidades del personal en cuanto a la gestión de la información microbiológica; es recomendable que exista una persona responsable que se encargue de gestionar las incidencias del sistema informático, así como las posibles modificaciones a realizar en el mismo.
- También en este documento el laboratorio puede definir el formato del informe de resultados y su contenido mínimo (debe comunicar eficazmente la información microbiológica y cumplir las expectativas de los usuarios clínicos). Igualmente los distintos métodos que dispone para comunicar los resultados (distribución en formato papel, electrónico, telefónico, etc.) según sean informes de rutina, previos, urgentes, procedentes de laboratorios externos, u otros.

Además de este Manual de procedimientos de gestión de la información, el laboratorio debe disponer de los correspondientes manuales sobre el funcionamiento y mantenimiento del sistema informático en uso.

9.4. VALIDACIÓN DEL SISTEMA INFORMÁTICO

ENAC siguiendo las directrices marcadas por la norma ISO 15189, recomienda que el laboratorio realice una validación del sistema informático, para comprobar que cumple con sus especificaciones. Para ello, el laboratorio puede proceder a crear una petición ficticia y seguir todo el procedimiento de introducción de resultados, validación, emisión del informe, etc., comprobando que el proceso cumple con las especificaciones establecidas en cuanto a integridad de los datos, trazabilidad, confidencialidad y es capaz de producir informes adecuados a las exigencias del laboratorio. Una vez verificado el correcto funcionamiento del programa en este punto, es necesario archivar la documentación generada.

10. SERVICIOS EXTERNOS: SUMINISTROS

10.1. GESTIÓN DE PEDIDOS

El laboratorio debe establecer en un procedimiento general de compras su sistemática para la gestión de pedidos de material fungible, reactivos, equipos, etc., tanto para su ejecución como para su recepción. También deben quedar establecidos los requisitos de calidad que se van a exigir a los reactivos y equipos que se vayan a utilizar, normalmente especificados en los procedimientos normalizados de trabajo. En ellos se debe establecer desde la composición del medio de cultivo que se va a utilizar hasta la

temperatura a la que deben funcionar las estufas del laboratorio.

Las fases de una solicitud de compra de un producto de nueva incorporación serían las siguientes:

- 1º Establecimiento de los requisitos.
- 2º Solicitud de presupuesto de acuerdo a los requisitos técnicos planteados. Esta tarea la realiza, habitualmente, el servicio de suministros del hospital.
- 3º Valoración de las ofertas en base a:
 - Ajuste a los requisitos propios del laboratorio. Es decir, la valoración desde el laboratorio de la calidad del producto.
 - Propuesta económica. La realiza habitualmente el servicio de suministros de cada hospital. En este caso, los aspectos que se valoran pueden ser desde el precio y forma de pago hasta los plazos de entrega. Por tanto, el servicio de suministros del hospital tiene que tener definidos todos estos aspectos en sus procedimientos de compras.

Cada vez que se recibe un pedido en el laboratorio, es necesario comprobar:

- Que la cantidad recibida es la solicitada,
- la conformidad técnica respecto a los requisitos establecidos,
- fechas de caducidad adecuadas,
- envases originales sin alteración,
- certificados de calidad que acompañan a la mercancía.

Cuando el resultado es conforme, la persona que ha realizado la inspección debe dejar constancia mediante firma de la aceptación del pedido.

La norma también recoge la obligatoriedad de definir un sistema para el control de inventario de los productos.

10.2. EVALUACIÓN DE PROVEEDORES

La norma indica que el laboratorio debe evaluar a sus proveedores y elaborar un listado de los aprobados. En el procedimiento general de compras deben aparecer recogidos los criterios que va a utilizar el laboratorio en la evaluación de sus proveedores.

Los listados de proveedores aprobados deben recoger los motivos de la aprobación y la antigüedad de la misma. Como la acreditación se implanta en laboratorios que ya están funcionando, la primera de las razones por las que se puede aprobar a un proveedor como válido es porque históricamente ha suministrado productos al laboratorio de Microbiología con la calidad adecuada. Aunque no se haya realizado una evaluación sistemática de los mismos, se dispone de datos suficientes debido al historial de la relación previa con el proveedor.

Por tanto, los proveedores habituales se deben incorporar al listado del laboratorio con la fecha de aprobación previa a la puesta en marcha del sistema de control de proveedores.

Con nuevos proveedores, se debe realizar una verdadera evaluación basada en evidencias como las siguientes:

- Cumplimiento de los requisitos establecidos.
- Plazos de entrega adecuados.
- Asesoramiento postventa.
- Garantía de calidad del proveedor (¿está certificado?).
- Flexibilidad para cambiar materiales y frecuencias de entrega.
- Porcentaje de reactivos rechazados o incompletos.
- Rapidez de respuesta ante problemas puntuales.

Estos criterios de evaluación se deben establecer por el Jefe de Servicio o Director del laboratorio.

Una vez aprobado un proveedor, es necesario realizar, habitualmente con periodicidad anual, una reevaluación para asegurar que mantienen la calidad de sus servicios y, por tanto, se ajustan a las expectativas del laboratorio. En el anexo 3 se describe cómo podría ser una ficha de evaluación de proveedores.

11. ANÁLISIS REALIZADOS POR LABORATORIOS EXTERNOS

Si un laboratorio no tiene recursos para analizar determinadas muestras o para realizar ciertos parámetros microbiológicos es habitual subcontratar a otro laboratorio.

Si estos análisis no están acreditados, desde un punto de vista documental, no es necesario realizar más actividades que las del archivo de los resultados con el fin de poder seguir la trazabilidad de la muestra. Sin embargo, el problema es diferente cuando un laboratorio acreditado subcontrata alguno de los análisis para los que está acreditado. En este caso, es necesario asegurarse de que el laboratorio contratado es también un laboratorio acreditado por ENAC o por cualquier organismo de acreditación con el que ENAC haya firmado un acuerdo de reconocimiento (EA, ILAC), o en su defecto, que tenga certificado su sistema de calidad.

ENAC indica que el laboratorio debe detallar la sistemática para realizar estas subcontrataciones, describiendo por qué motivos las realiza, los criterios seguidos para seleccionar a los laboratorios subcontratistas y cómo se van a reflejar los resultados obtenidos en los informes. Esto significa que es necesario asegurarse de la competencia y calidad del laboratorio contratado. Esta responsabilidad recae sobre el director del laboratorio que, asesorado por los responsables de las secciones que demandan estas analíticas externas, debe en primer lugar seleccionar a los laboratorios subcontratados y en segundo lugar realizar el seguimiento de la calidad de los mismos. Este proceso es similar al de selección y evaluación de proveedores. Si se dispone de un historial de relación con ese laboratorio sin incidencias, puede bastar con que dicho laboratorio remita evidencias documentales para poder verificar sus procedimientos preanalíticos, analíticos y postanalíticos.

No sólo se debe hacer una selección previa de los laboratorios subcontratados sino que periódicamente es necesario asegurarse de los siguientes aspectos:

- Que los requisitos que se han exigido al laboratorio se están cumpliendo.
- Que sus técnicas analíticas son adecuadas para la utilización prevista.
- Que las responsabilidades del laboratorio contratista y las del laboratorio contratado están claramente definidas.

Se debe disponer, además, de un listado de las muestras enviadas indicando a qué laboratorio se han enviado cada una de ellas. También es necesario archivar un duplicado de los resultados recibidos.

El laboratorio puede reenviar directamente el informe remitido por el laboratorio subcontratado o bien puede preparar un informe propio con los datos obtenidos por el subcontratado. Como es lógico, este informe debe contener los resultados analíticos exactos contenidos en el informe original.

Aquellos resultados obtenidos de laboratorios externos no acreditados, se informarán como “no acreditados por ENAC”.

12. MEJORA CONTINUA: SISTEMAS DE EVALUACIÓN

El laboratorio debe llevar a cabo una serie de actividades para monitorizar de manera continua el funcionamiento del Sistema de Calidad una vez implantado y para corregir las posibles desviaciones, situaciones mejorables o errores detectados. En definitiva, el objetivo es conseguir que los servicios o unidades mejoren, y para ello lo importante es ser consciente de lo que hay que mejorar y poner los medios necesarios.

Las situaciones mejorables se pueden identificar de múltiples formas:

- Comunicaciones de los profesionales del propio servicio o de otros, bien por reuniones, charlas informales, notificaciones personales, sugerencias, etc.
- Observación y escucha activa.
- Reclamaciones.
- Auditorías.
- Monitorización con indicadores de calidad.
- Encuestas de satisfacción: muy útiles porque aportan información de primera mano de los usuarios.
- Sesiones de calidad: análisis de los resultados por el equipo, de forma conjunta y sistemática.

Las áreas donde normalmente se detectan problemas están relacionados con:

- El tiempo (objetivo: reducción del plazo de ejecución tareas).
- Errores que se comenten (objetivo: reducción del número, gravedad o frecuencia).
- Desaprovechamientos (objetivo: aumentar rendimiento del personal, de técnicas, etc.).

12.1. TRATAMIENTO DE DESVIACIONES

El laboratorio debe implantar un sistema para tratar las desviaciones detectadas, que se pueden clasificar como:

- **INCIDENCIA:** circunstancia de un producto, servicio o actividad que puede influir de forma deficitaria, aunque no los afecte significativamente, sobre los servicios prestados por el laboratorio. Se considera que no afectan a la calidad de los servicios prestados y no conducen a alteración en los resultados de los ensayos. Cuando son detectadas en una auditoría, en el informe se suelen denominar como **Observaciones**.
- **NO CONFORMIDAD:** incumplimiento de cualquier requisito de gestión o técnico especificado en el sistema de calidad. La situación de "no conformidad" puede afectar significativamente a la calidad de los procedimientos y puede alterar los resultados de los ensayos.

Una vez que se detecta una desviación el laboratorio debe establecer un procedimiento para:

- Determinar las causas que han provocado el problema, así como la extensión y consecuencias del mismo.
- Establecer acciones correctivas para eliminar las causas y evitar que el problema o desviación se repita.
- Cada una de estas acciones deben tener responsables y plazos previstos de ejecución y ser aprobadas por el director del laboratorio.
- Después de la implantación de las medidas correctoras, hay que realizar su seguimiento, evaluando la eficacia de las mismas y comprobando la resolución del problema.

Todo el procedimiento debe ser documentado y registrado.

12.2. AUDITORÍAS INTERNAS

Tienen como objetivo verificar la implantación del sistema de gestión de calidad del laboratorio, comprobando que los procedimientos técnicos y de gestión cumplen los requisitos establecidos y que la documentación relacionada se mantiene actualizada. Las auditorías internas se llevarán a cabo de manera sistemática por personal entrenado y cualificado, independiente de la actividad a auditar. Pueden ser realizadas por personal del laboratorio o por auditores externos.

12.2.1. Programa de auditoría. Con al menos dos semanas de antelación al comienzo de una auditoría, el/los auditor/es nombrado/s para ella elaborarán el programa de auditoría junto con los responsables de las áreas que se van a auditar. En este programa se incluirán los siguientes datos:

- Identificación de la auditoría.
- Fecha y duración prevista.
- Áreas auditadas y responsables de las mismas.
- Auditor/es.
- El alcance de la auditoría.

- Documentos relacionados con la auditoría: manual de calidad y otros procedimientos asociados a las actividades auditadas.

Este programa debe ser revisado y aprobado por el director del laboratorio. El/los auditor/es solicitarán a los responsables de las áreas auditadas, con suficiente antelación, los procedimientos y documentación necesaria.

12.2.2. Desarrollo de la auditoría: informe de auditoría. Las técnicas habituales para el desarrollo de una auditoría son entrevistas, coloquios, muestreo, seguimiento de registros, revisión de documentos relacionados con el área auditada, etc. Al final de la auditoría se hace una reunión en la que el/los auditor/es consensúan con los auditados las no conformidades u observaciones que pudieran existir. El resultado último se refleja en el "informe de auditoría interna", que debe ser distribuido a los responsables de las áreas auditadas y al director del laboratorio.

Frente a las desviaciones u oportunidades de mejora detectadas en la auditoría interna, se establecerá un "plan de acciones correctoras" que deben documentarse y realizarse en un plazo acordado. Se tratarán según lo descrito en el punto 12.1.

Una auditoría no se considerará cerrada hasta que haya sido verificada la implantación de todas las acciones correctivas, y evaluada la eficacia de las mismas. La documentación resultante de la **auditoría interna** debe ser archivada.

12.3. REVISIÓN POR DIRECCIÓN

Consiste en una reunión del personal que lleva a cargo la dirección del laboratorio (director del laboratorio, dirección Técnica: jefes de sección y/u otros facultativos, responsable de calidad, supervisión) para evaluar objetivamente el sistema de gestión de calidad del laboratorio y los servicios sanitarios proporcionados, incluyendo realización de ensayos, actividades de asesoramiento y mejora continua. La revisión por dirección se debe realizar al menos una vez al año, normalmente después de la auditoría interna y con anterioridad a la auditoría del organismo de acreditación (ENAC). Se tratarán al menos los siguientes puntos:

- Resultado de auditorías internas recientes.
- Revisión de los objetivos de calidad previamente establecidos.
- Seguimiento y revisión de los indicadores de calidad.
- Resolución de incidencias y no conformidades: estado de acciones correctivas tomadas.
- Resultados de evaluaciones externas de calidad y de otras formas de comparación entre laboratorios.
- Revisión de los recursos humanos para el desempeño de actividades técnicas y de gestión.
- Posibles cambios de volumen y tipo de trabajo emprendido.
- Evaluación de proveedores.
- Temas pendientes de revisiones por dirección anteriores.
- Conclusiones sobre la eficacia del sistema.

El resultado de la revisión se reflejará en el “acta de revisión por dirección” (ver anexo 4 del documento) que contendrá los siguientes elementos:

- Fecha.
- Asistentes.
- Temas tratados.
- No conformidades detectadas (si las hay).
- Planes de acción con responsables y fechas.
- Aprobación por el director del laboratorio.

El director del laboratorio y el responsable de calidad realizarán el seguimiento de los planes de acción, mediante reuniones con los responsables de llevarlos a cabo, para asegurar su cumplimiento.

12.4. INDICADORES

Un elemento fundamental para evaluar el funcionamiento de un sistema de calidad son los indicadores de calidad, que permiten medir de manera cuantitativa y sistemática diferentes aspectos de la actividad asistencial. El seguimiento de los resultados de las mediciones permitirá conocer la evolución del nivel de calidad del sistema y si funciona adecuadamente, o de lo contrario, detectar oportunidades de mejora. Es fundamental elegir los indicadores adecuados (válidos, importantes, aplicables) y que sirvan para monitorizar las distintas fases del proceso analítico en microbiología: preanalítica, analítica y postanalítica. En la construcción de un indicador, una vez elegido el aspecto a monitorizar, hay que tener en cuenta:

- El **criterio** u objetivo que se pretende conseguir. *Ejemplo: el servicio o unidad cumple con el tiempo de respuesta establecido para una determinada técnica.* Los objetivos deben ser alcanzables (para evitar frustraciones) pero también estimulantes (que alcanzarlos requiera cierto esfuerzo).
- Definir el **indicador** o instrumento de medida (habitualmente porcentaje) que permite expresar la cantidad de eventos que cumplen el criterio. *Ejemplo: porcentaje de determinaciones de la técnica que cumplen el tiempo de respuesta establecido.*
- Establecer los **estándares (valores de control)**: porcentajes del total de eventos que se juzga deberían cumplir el criterio. *Ejemplo: al menos el 95 % de las determinaciones de la técnica deben cumplir el tiempo de respuesta.* Se establecen en función de la experiencia, requerimientos asistenciales y datos científicos. No se debe ser demasiado exigente ni permisivo, ya que esto último podría conducir a una falsa sensación de seguridad. La comparación entre los resultados de distintas organizaciones (*benchmarking*) puede ser útil para establecer los valores de control.
- La **fente de datos** (sistema informático, registros manuales) necesarios para el cálculo del indicador, que deben ser fácilmente extraíbles.
- Por último, hay que establecer la **periodicidad** de las mediciones del indicador, que dependerá de la gravedad de las posibles oportunidades de mejora detectadas con el indicador.

13. BIBLIOGRAFÍA

1. Alomar P, Bernal A, Harto A, Pérez JL, Picazo JJ, M. L. Sarazá ML. Seguridad en el Laboratorio de Microbiología Clínica. En: Picazo JJ (editor). Procedimientos en Microbiología Clínica. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Madrid; 2000. Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/>.
2. Amsterdam D, Barenfanger J, Campos J, Cornish N, Daly JA, Della-Latta P, Gray LD, Hall GS, Holmes H, Sautter RL. Cumitech 41, Detection and Prevention of Clinical Microbiology Laboratory-Associated Errors. Coordinating ed., Snyder JW. 2004. ASM Press, Washington, D.C.
3. Anderson NL, Noble MA, Weissfeld AS, Zabransky RJ. Cumitech 3B. Quality Systems in the Clinical Microbiology Laboratory. Coordinating ed., Sewell DL. 2005. ASM Press. Washington D.C.
4. Bartlett RC, Mazens-Sullivan M, Treteault JZ, Lobel S, Nivard J. Evolving approaches to management of quality in clinical microbiology. Clin Microbiol Rev 1994; 7:55-88.
5. CGA-ENAC-LCL Rev. 1. Criterios generales de acreditación de Laboratorios Clínicos. 2008.
6. Christian LE, Peddecord KM, Francis DP, Krolak JM. Competency assessment—an exploratory study. Clin Lab Management Rev 1997; 11: 374–381.
7. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 18th informational supplement. CLSI document M100-S18. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, PA. 2008.
8. Comunicación de la Comisión de la Comunidad Europea COM (2004) 304 de 20 de abril de 2004.
9. Directiva 98/79/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 27 de octubre de 1998 sobre productos sanitarios para diagnóstico in vitro.
10. Frikha-Gargouri O, Znazen A, Gdoura R, Gargouri B, Arab NB, Jemaa MB, Hammami A. Usefulness of enzyme linked immunosorbent assays species specific in the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia pneumoniae* IgG antibodies in patients with genital infections or respiratory tract infections. Pathol Biol (Paris) 2008; 56:143-147.
11. Fuentes X, Sánchez M. Guía para estimar la incertidumbre de medida en ciencias de laboratorio clínico. Bioquímica 2002; 27:112-120.
12. G-ENAC-04. Rev 3. Guía para la acreditación de laboratorios que realizan análisis microbiológicos. ENAC. 2004.
13. Gella FJ. Recomendaciones para la calibración de balanzas y para la estimación de la incertidumbre de las medidas de masa en el laboratorio clínico. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Química Clínica 2004; 23:35-39.
14. Grupo colaborador del Grupo de Estudio de Gestión en Microbiología Clínica (GEGMIC). Recomendaciones generales para el control de calidad interno en Microbiología Clínica. 2004. Disponible en: http://www.seimc.org/grupos/gegmic/fuentes/gegmic_dyc1_2004.pdf.
15. Kohn L, Corrigan J, Donaldson M. Err is human: Building a safer health care system. Institute of Medicine, National Academy Press, Washington DC; 1999. pp.1-14.
16. Kuno G. Serodiagnosis of flaviviral infections and vaccinations in humans. Adv Virus Res 2003;61:3-65.

17. Jenkins SG, Sewell DL. Quality control. pp. 14.2.1–14.2.34. En: Isenberg HD (ed. in chief), Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2nd ed. 2004. ASM Press, Washington, D.C.
18. Ley 14/1986, de 25 de abril, General de Sanidad (BOE 101 de 29 de abril de 1986).
19. Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal (BOE 298 de 14 de diciembre de 1999).
20. Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica (BOE 274 de 15 de noviembre de 2002).
21. Ley 16/2003, de 28 de mayo, de Cohesión y Calidad del Sistema Nacional de Salud (BOE 128 de 29 de mayo de 2003).
22. McCarter YS, Robinson A. Competency assessment in clinical microbiology. Clin Microbiol Newsl 1997;19:97-101.
23. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. 3rd edition. Williams & Wilkins, Baltimore, MD; 1985.
24. MacFaddin JF. Biochemical Tests for identification of Medical Bacteria. 3rd edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa; 2000.
25. Marshall LE, Boswell TC, Kudesia G. False positive *Legionella* serology in *Campylobacter* infection: *Campylobacter* serotypes, duration of antibodies response and elimination of cross-reactions in the indirect fluorescent antibody tests. Epidemiol Infect 1994;11:347-357.
26. NCCLS. Quality control for commercially prepared microbiological culture media. Approved standard. M22- A3, 3rd ed. NCCLS, Wayne, Pa; 2004.
27. Rabenau HF, Kessler HH, Kortenbusch M, Steinhorst A, Raggam RB, Berger A. Verification and validation of diagnostic laboratory tests in clinical virology. J Clin Virol 2007;40:93-98.
28. Real Decreto 1030/2006, de 15 de septiembre por el que se establece la cartera de servicios comunes del Sistema Nacional de Salud y el procedimiento para su actualización (BOE 22, de 16 de septiembre de 2006).
29. Dunne ML, LaRocco MT. Laboratory management, pp. 4–19. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (ed). Manual of Clinical Microbiology, 9th ed. ASM Press, Washington, D.C; 2007.
30. UNE-EN-ISO 15189:2007. Laboratorios Clínicos. Requisitos particulares para la calidad y la competencia.
31. UNE-EN-ISO/IEC 17025:2005. Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración.
32. UNE-EN-ISO 9001:2000. Sistemas de Gestión de la calidad. Requisitos.
33. UNE-EN-ISO 9000:2005. Sistemas de Gestión de la Calidad. Fundamentos y vocabulario.

Anexo1. Ejemplo de Ficha de equipo

FICHA DE EQUIPO			
EQUIPO:		CÓDIGO:	
Nº SERIE:		Localización habitual:	
Fabricante:		Fecha de recepción:	
Persona de contacto:		Fecha de puesta en servicio:	
Teléfono / e-mail:		Firma Responsable:	
VALIDACIÓN/CALIBRACIÓN:	<input type="checkbox"/> INTERNA	<input type="checkbox"/> EXTERNA	
VERIFICACIÓN:	<input type="checkbox"/> INTERNA	<input type="checkbox"/> EXTERNA	
Procedimiento:		Empresa o personal que realiza validación/verificación:	
Característica a validar (rango):			
Periodicidad:		Teléfono / e-mail:	
Característica a verificar (rango):		Observaciones:	
Periodicidad:			
MANTENIMIENTO:	<input type="checkbox"/> INTERNO	<input type="checkbox"/> EXTERNO	
Procedimiento:		Empresa o personal que realiza mantenimiento:	
		Teléfono / e-mail:	
Periodicidad Mantenimiento:		Observaciones:	
PRECAUCIONES DE BIOSEGURIDAD:			
SEGUIMIENTO DE ACTIVIDADES DE REVISIÓN DEL EQUIPO			
FECHA	TIPO REVISIÓN	RESULTADO (Referencia al informe en su caso)	FIRMA

F-LXX-YY

Anexo 2. Ejemplo de Formulario de cualificación y autorización del personal técnico

PUESTO	ACTIVIDAD	FECHAS	SUPERVISADO POR:
	Lectura y comprensión de procedimientos generales del laboratorio		
	Lectura y comprensión de los procedimientos de trabajo específicos del puesto		
	Otras actividades formativas (especificar)		
	Observación de cómo se realizan los ensayos por personal técnico ya entrenado		
	Realización de los ensayos supervisada por otro técnico ya formado y/o facultativo de la unidad y Supervisión del Laboratorio.		
	Autorización para desarrollar las tareas específicas del puesto		

F-LXX-YY

Anexo 3. Ejemplo de Formulario para evaluación de proveedores

FICHA DE EVALUACIÓN DE PROVEEDORES		
Proveedor	Productos	Delegado
GARANTÍA DE CALIDAD:		
EVALUACIÓN		
Cumplimiento requisitos	<input type="checkbox"/> Adecuado	<input type="checkbox"/> Poco Adecuado <input type="checkbox"/> Inadecuado
Plazos entrega	<input type="checkbox"/> Adecuado	<input type="checkbox"/> Poco Adecuado <input type="checkbox"/> Inadecuado
Asesoramiento postventa	<input type="checkbox"/> Adecuado	<input type="checkbox"/> Poco Adecuado <input type="checkbox"/> Inadecuado
Flexibilidad cambio material y frecuencia entrega	<input type="checkbox"/> Adecuado	<input type="checkbox"/> Poco Adecuado <input type="checkbox"/> Inadecuado
Rapidez de respuesta ante problemas puntuales	<input type="checkbox"/> Adecuado	<input type="checkbox"/> Poco Adecuado <input type="checkbox"/> Inadecuado
OBSERVACIONES		
RESULTADO:	Firmado:	
	Jefe Servicio:	
	Responsable de Unidad:	
	Responsable de Calidad:	
	Fecha:	

Anexo 4. Ejemplo de Formulario para Acta de Revisión por Dirección

LABORATORIO XXYY	ACTA REVISIÓN POR DIRECCIÓN	
Asistentes:	Código:	
	Fecha:	
Temas tratados:		
No conformidades:		
Planes de acción:	Responsable/Fecha	
Aprobado por:		

F-LXX-YY

Servicio de Microbiología Hospital.....	Determinación de la incertidumbre de medida en termómetros	PNT-ACR-01	
		Edición N° 01	Página 2 de 2

1. PROPÓSITO Y ALCANCE

Describir el proceso para el cálculo de la incertidumbre de los termómetros utilizados para medir la temperatura en los equipos del laboratorio, donde la temperatura es una variable crítica para el resultado de los ensayos.

2. FUNDAMENTO

La incertidumbre es un parámetro asociado al resultado de las sucesivas medidas, que caracteriza la dispersión de los valores que razonablemente pueden atribuirse al mensurando (magnitud que se desea medir, por ejemplo, valor real de la temperatura en un punto de una estufa). El conocimiento de la incertidumbre indica la calidad de una medición, permitiendo conocer y eliminar el posible error.

El resultado de sucesivas medidas de un mensurando es una variable aleatoria, por lo que el mensurando debe caracterizarse en la forma habitual empleada en las variables aleatorias utilizando un parámetro de centrado y otro de dispersión.

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Tyburski B M. Thermometers. En: Isenberg HD (ed). Clinical Microbiology Procedures Handbook, Vol. 2, 2nd ed. Washington DC, 1992.

4. MATERIAL Y EQUIPO

- Termómetros patrón.
- Termómetros a usar en cada equipo.
- Baño termostático
- Refrigerador 2-8°C
- Congelador -20°C
- Congelador -80°C
- Gradilla.
- Frasco con fluido para inmersión de termómetros (agua destilada/parafina para estufas y refrigeradores y alcohol al 70% para congeladores).

5. PROCEDIMIENTO

Se realiza en el rango de temperatura en que se van a usar los termómetros.

5.1 TERMÓMETROS UTILIZADOS EN ESTUFAS Y BAÑOS TERMOSTÁTICOS.

- Encender el baño termostático.
- Graduar el baño a la temperatura a controlar (por ejemplo 35°C). Esperar aproximadamente 30 minutos para que la temperatura se estabilice.
- Colocar el termómetro patrón y el/los termómetros a caracterizar (o calibrar) en una gradilla dentro del baño.
- Tomar diez medidas, con el termómetro patrón y los termómetros a caracterizar, espaciadas entre sí unos 5-10 minutos y anotarlas en el Formulario Caracterización de Termómetros (Anexo 1).
- Apagar el baño termostático.

5.2 TERMÓMETROS UTILIZADOS EN REFRIGERADORES Y CONGELADORES.

- Colocar en uno o varios frascos con agua destilada o parafina el termómetro patrón y el/los termómetros a caracterizar e introducirlos en el refrigerador (2-8°C), esperar aproximadamente 2 horas para que la temperatura se estabilice.
- Para los termómetros de congeladores colocar el termómetro patrón y el/los termómetros a caracterizar en uno o varios frascos con alcohol (etanol) al 70% e introducir en el congelador de -20° C o -80°C; esperar aproximadamente 2 horas para que la temperatura se estabilice.
- Tomar diez medidas, con el termómetro patrón y los termómetros a calibrar, espaciadas entre sí entre 5-10 minutos y anotarlas en el Formulario Caracterización de Termómetros (Anexo 1).

5.3. CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE DE MEDIDA (O INCERTIDUMBRE EXPANDIDA U)

Es necesario conocer las siguientes magnitudes:

- **Incertidumbre típica del termómetro patrón (u_{tp})**. Se obtiene dividiendo por 2 la incertidumbre expandida del termómetro patrón (especificada en el boletín de calibración del termómetro patrón):

$$U_{tp} = \text{incertidumbre expandida termómetro patrón} / 2$$

- **Incertidumbre interdiaria (u_i)**. Depende de la división de escala del termómetro a caracterizar. Sigue una distribución rectangular porque cualquier valor tiene las mismas probabilidades de darse, siendo:

$$u_i = \text{división de escala} / \sqrt{12}$$

Por ejemplo: si en el termómetro la división de escala es 1°C, entonces:

$$u_i = 1 / \sqrt{12}$$

- **Incertidumbre típica del termómetro (u_t)**. Se obtiene calculando la desviación típica de las diferencias de temperatura entre el termómetro a calibrar y el patrón.
- **Incertidumbre típica combinada (u_c)**. Se obtiene a partir de los valores de las magnitudes definidas anteriormente:

$$u_c = \sqrt{u_{tp}^2 + u_i^2 + u_t^2}$$

Finalmente, la **incertidumbre expandida** de los termómetros, **U**, se obtiene multiplicando la incertidumbre típica combinada u_c por un factor de cobertura, **k**, escogido según el nivel de confianza deseado. En una distribución normal, para un nivel de confianza del 95%, **k** es igual a 2.

$$U = u_c k = u_c 2$$

Ver anexo 2. Ejemplo del cálculo de la incertidumbre en los termómetros.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Determinación de la incertidumbre de medida en termómetros	PNT-ACR-01	
		Edición N° 01	Página 3 de 3

6. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

El laboratorio debe establecer el criterio de aceptación de los termómetros. Es conveniente que la incertidumbre obtenida sea $<1^{\circ}\text{C}$ para poder asegurar que la medida de temperaturas está dentro del rango permitido al equipo correspondiente. Por ejemplo, en cámaras o estufas de cultivo grandes, que deben mantenerse a temperaturas entre $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ si utilizamos un termómetro con una incertidumbre $< 1^{\circ}\text{C}$, el rango de tolerancia permitido en las medidas de temperatura puede ser $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ (lo que marca el termómetro), acercándose a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$, mientras menor sea la incertidumbre del termómetro.

Se considerarán aceptables aquellos termómetros patrón cuya incertidumbre sea $\leq 1/3$ de la incertidumbre que se le va a permitir al termómetro a caracterizar; para el caso anterior debería ser $\leq 0,3^{\circ}\text{C}$.

Cuando un termómetro no es apto para medir la temperatura en un equipo, debe ser retirado de uso; si es nuevo, será devuelto al suministrador.

7. REGISTROS

Los registros obtenidos deben guardarse mientras el termómetro esté en uso.

8. RESPONSABILIDADES

El personal que realice este procedimiento debe archivar los registros y controlar el tiempo de validez hasta la próxima revisión.

9. BIBLIOGRAFIA

1. Fuentes Arderiu X, Sánchez Manrique, M. Guía para estimar la incertidumbre de medida en ciencias de laboratorio clínico. Bioquímica, 2002; 27: 112-120.
2. G-ENAC-04. Rev. 3. Guía para la acreditación de laboratorios que realizan análisis microbiológicos. Noviembre 2002.

Anexo 1. Formulario Caracterización de Termómetros

Fecha realización proceso/ firma	CódigoT*/ Código TP**	Medidas temperatura										U*** Conforme/N o conforme	Fecha aceptación resultados/ firma
		1ªT/TP	2ªT/TP	3ªT/TP	4ªT/TP	5ªT/TP	6ªT/TP	7ªT/TP	8ªT/TP	9ªT/TP	10ªT/TP		

T*: termómetro a caracterizar
TP**: termómetro patrón
U***: incertidumbre expandida

Anexo 2. Ejemplo de cálculo de la incertidumbre en termómetros

Termómetro patrón: E-LXX-GE-TP-XX

Termómetro de trabajo: E-LXX-GE-TV-XX (localizado, por ejemplo, en estufa/cámara caliente grande)

Es necesario conocer:

Incertidumbre típica del termómetro patrón (u_{tp}) = incertidumbre expandida del termómetro patrón (facilitada en el boletín de calibración) / 2

$$u_{tp} = 0,088 / 2 = 0,044 = 0,04$$

Incertidumbre interdiaria (u_i) termómetro de trabajo = división de escala del termómetro / $\sqrt{12}$ = $0.1 / \sqrt{12} = 0.03$

Incertidumbre típica del termómetro (u_t)

Lecturas de temperatura

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Termómetro patrón	35,1°C	35,2°C	35°C	35°C	34,8°C	35,1°C	35°C	35°C	35°C	35°C
Termómetro trabajo	34,8°C	34,9°C	34,7°C	34,6°C	34,5°C	34,7°C	34,6°C	34,7°C	34,7°C	34,7°C
x_i	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3

x_i = valor individual de las diferencias de temperatura

\bar{x} = valor medio de las diferencias de temperatura = 0,33

n = nº de lecturas de temperatura = 10

Desviación típica (S) o Incertidumbre típica del termómetro (u_t)

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

$$S = \sqrt{\frac{(0.3-0.33)^2 + (0.3-0.33)^2 + (0.3-0.33)^2 + (0.4-0.33)^2 + (0.3-0.33)^2 + (0.4-0.33)^2 + (0.4-0.33)^2 + (0.3-0.33)^2 + (0.3-0.33)^2 + (0.3-0.33)^2}{9}}$$

$$S = \sqrt{0.0023} = 0.05$$

Incertidumbre típica combinada (u_c)

$$u_c = \sqrt{u_{tp}^2 + u_i^2 + u_t^2}$$

$$u_c = \sqrt{0,04^2 + 0,03^2 + 0,05^2} = \sqrt{0,005} = 0,07 \text{ °C}$$

Incertidumbre expandida (U)

$$U = u_c \cdot K$$

$$U = 0,07 \times 2 = 0,14^\circ$$

El **resultado de la calibración** sería **apto**, ya que la U obtenida es < 1°C (ver punto 6. Criterios de aceptación).