

Gestión de calidad del laboratorio de Patología Molecular

Enrique de Álava
Laboratorio de Patología Molecular
Centro de Investigación del Cáncer.
Universidad de Salamanca-CSIC
Salamanca
edealava@usal.es

Lo que en su momento fue un área de trabajo muy especializada y algo esotérica, relegada a la investigación básica, es ahora ya rutina en muchos servicios de patología. Hablamos de la Patología Molecular. Existen hoy día pruebas específicas para más de 300 enfermedades de base genética, numerosas pruebas diagnósticas de organismos patogénicos, y marcadores diagnósticos, pronósticos o predictivos de enfermedades neoplásicas.

Las grandes capacidades de esta tecnología llevan aparejadas una gran cantidad de regulaciones legales, éticas y de gestión de calidad para los laboratorios que están implicados en estas actividades. La gran capacidad de amplificación de una PCR, por ejemplo, requiere la implementación y cumplimiento de numerosos procedimientos de laboratorio para evitar la contaminación y los resultados falsos positivos. Esta misma capacidad de amplificación hace técnicamente posible la obtención de una gran cantidad de información genética incluso sin que el paciente sea consciente o de su consentimiento. En el caso particular de las pruebas genéticas, además, se manejan datos realmente delicados, sobre todo porque pueden revelar la predisposición de un paciente a desarrollar cierta enfermedad en un futuro próximo o lejano

Introducción

El objetivo de un laboratorio de Patología Molecular Diagnóstica es el de ofrecer diagnósticos reproducibles y fiables en todo tipo de muestras (tejidos, líquidos orgánicos). Para conseguirlo el laboratorio debe tener personal cualificado (patólogos, técnicos y personal sanitario y administrativo), cuyo trabajo debe ser revisado según la normativa de calidad vigente para los laboratorios clínicos (ISO 9000, etc.).

Control de calidad es el conjunto de los procedimientos realizados en un laboratorio, destinados a asegurar la reproducibilidad de los métodos empleados en el mismo.

Mejora de la calidad es el conjunto de reglas, procedimientos y hábitos necesarios para asegurar que los resultados que el laboratorio ofrece son fiables. Los laboratorios deben poner en marcha y mantener un programa de mejora de la calidad que debe contener normas que regulen como mínimo:

1. Monitorización y evaluación de la calidad de los resultados ofrecidos.
2. La comunicación rápida y precisa de los resultados obtenidos.
3. La capacitación del personal.
4. Identificación y resolución de los problemas.

Todas las pruebas deben llevarse a cabo en un laboratorio autorizado, bajo la responsabilidad de un director. Deben designarse directores de calidad en cada laboratorio para diseñar y mejorar los planes de control/mejora de la calidad. En el caso de un laboratorio de Patología Molecular Diagnóstica, el responsable debe ser un patólogo con sólida formación en Patología Molecular.

Las *fuentes* de información de las que se parte para generar los informes de control/mejora de la calidad, incluyen: los informes de patología molecular, el libro de entrada de muestras, y todos los soportes donde consta la cadena de procedimientos que llevan al diagnóstico, que deberán estar registrados en los libros de laboratorio destinados para cada práctica realizada, y las hojas de petición que acompañan a cada muestra. El laboratorio lleva a cabo reuniones periódicas de su personal para revisar las normas y reglas que afectan a la calidad del trabajo realizado.

Personal

El laboratorio debe tener un sistema (Sistema de Calidad amparado por la Normativa vigente) para evaluar la competencia profesional de sus miembros. Este debe incluir una supervisión directa de la realización de las pruebas de rutina, incluyendo la recepción, manejo, procesamiento de muestras, realización de pruebas diagnósticas, resultados, informes y ejecución del programa de control de calidad. Esta evaluación debería llevarse a cabo de manera periódica, o siempre que se requiera por motivos extraordinarios o sin previo aviso (“Auditoría Interna”).

El director del laboratorio y el equipo directivo deberán participar en las actividades de mejora de la calidad, y esta participación debe constar por escrito. Hay que asegurarse que todos los miembros del laboratorio, incluidos aquellos que lo están sólo de manera temporal (becarios, etc.) conocen los planes de control y mejora de la calidad.

Cómo poner a punto un nuevo método diagnóstico

1. Antes de comenzar.

El director del laboratorio debe *considerar* la necesidad clínica, el coste, la facilidad y los beneficios esperables de la prueba antes de invertir el tiempo necesario para diseñarla. En particular, para cada nuevo método un buen criterio es si el mismo va a reemplazar un antiguo método más caro o menos efectivo (p.ej. sustituir el *Southern blot* por la PCR a la hora de estudiar los reordenamientos del gen de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas para evaluar la clonalidad de una población linfóide), o si va a afectar al cuidado clínico de un paciente, por ejemplo haciéndolo más llevadero y menos costoso (p.ej. el estudio molecular de la presencia de *Mycobacterium tuberculosis* puede obviar las 4 semanas de tiempo que dura un cultivo microbiológico en dar resultados).

Hay que seleccionar la técnica que más se ajuste a la alteración molecular que se quiere estudiar. Cada técnica proporciona una información diferente. Algunas pueden usarse para detectar alteraciones que afectan a cromosomas enteros (p.ej. el FISH, *Southern blot*), mientras que otras son mejores para las mutaciones puntuales (p.ej. secuenciación). Algunas son muy laboriosas (como el *Northern blot*), mientras que otras, como la PCR, son relativamente rápidas de realizar. Algunas preservan la morfología, como la hibridación *in situ*, mientras que otras no la respetan (PCR), o lo hacen parcialmente (FISH). Unas son muy buenas para cuantificar la expresión de un gen, como el ‘dot blot’ o la PCR cuantitativa, mientras que otras son sólo cualitativas, como la RT-PCR.

También hay que tener en cuenta el volumen de casos que se van a recibir y van a requerir la técnica en cuestión, especialmente para evaluar su coste (reactivos, equipamiento, personal, espacio de laboratorio).

Hay que preguntarse, además de lo anterior, si el hecho de desarrollar el método en el propio laboratorio merece la pena (en cuanto a tiempo, recursos, etc.) en comparación con el hecho de enviar el caso a un laboratorio externo, de referencia.

2. Debe realizarse un diseño del nuevo método, incluyendo habitualmente controles positivos y negativos conocidos, teniendo en cuenta la naturaleza de las muestras, el tipo de reactivos que hace falta fabricar/reconstituir, cómo calibrar/programar los aparatos y cómo enseñar al

personal la realización del método. Véanse las secciones específicas respecto a controles de los experimentos.

3. *Validación* de la prueba previamente diseñada. Se realiza a través de un grupo de muestras de pacientes con características conocidas respecto al parámetro que se va a medir. Por ejemplo a la hora de poner a punto una PCR para *Mycobacterium tuberculosis* habrá que incluir biopsias informadas como ‘tuberculosis’ en las que se vean granulomas y bacilos ácido-alcohol resistentes, otras biopsias con granulomas informados como ‘compatible con tuberculosis’ debido a la ausencia de bacilos, y otras muestras en las que sepamos con seguridad que no hay tuberculosis. Para cada método nuevo hay que comprobar su reproducibilidad y hay que medir la sensibilidad y especificidad. No basta con asumir la que los autores de las referencias empleadas dan en sus artículos.
4. El protocolo, completamente diseñado y validado, puede comenzar a usarse teniendo en cuenta todos los requerimientos de una prueba clínica. Por ejemplo debe haber un protocolo escrito y disponible para todo el personal implicado en la realización de la nueva técnica, hay que tener claro cómo se realizan los informes y qué información deben tener (ver sección específica), conviene realizar un estudio de costes, y hay que explicar las indicaciones del nuevo método diagnóstico a los médicos de otros departamentos clínicos que van a solicitar las pruebas.

Métodos diagnósticos (una vez validados).

El laboratorio debe tener un sistema para monitorizar las variaciones entre un lote de un producto y otro del mismo producto, ya sea un reactivo, kit, calibrador o control. Debe haber criterios para determinar si estas diferencias son aceptables.

El laboratorio debe tener un mecanismo para identificar y evaluar los resultados de las pruebas que son discordantes con parámetros clínicos relevantes, como la edad, sexo u otros parámetros clínico-patológicos (p.ej un sarcoma de Ewing con fusión génica EWS-FLI1 en una mujer de 60 años). También debe haber un libro en el que se recojan los casos difíciles o instructivos.

Un laboratorio que realiza la misma prueba empleando diferentes métodos o instrumentos, (como por ejemplo detección de los reordenamientos de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas empleando *Southern blot* o PCR), o realiza la misma prueba en diversos tipos de muestras (p.ej. de material congelado/de parafina, de sangre periférica/tejido) debería tener un sistema para evaluar posibles discrepancias al menos dos veces al año.

En las pruebas cualitativas el laboratorio debe poder documentar sobre qué base se informan los resultados como ‘positivos’, ‘negativos’, es decir, cuál es el umbral a partir del cual un caso se informa como positivo o negativo, o cómo se determina el grado de reactividad.

Debe establecerse el *tiempo que necesita una prueba para ser informada*. Esto vale tanto para un informe definitivo, escrito, como para un informe provisional. A título orientativo el tiempo necesario para un informe definitivo debe ser:

| | |
|-------------------------------|---------|
| Clonalidad linfoide, VDJ/TCR: | 15 días |
| Amplificación de MYCN: | 15 días |
| PCR de tejido congelado: | 10 días |
| PCR de material de parafina: | 15 días |

El laboratorio debe desarrollar un libro de protocolos:

1. Numerando cada protocolo y empleando un formato standard;
2. Que contenga referencias a la literatura científica relevante,
3. Que esté disponible en todo momento en las áreas de trabajo del personal implicado en la toma, procesamiento o manipulación de los especímenes recibidos.
4. Los libros o manuales de instrucciones incluidos en los aparatos o kits pueden incluirse en el libro de protocolos para la descripción de cada método.
5. Se pueden usar los libros de texto o los artículos científicos como suplemento a cada protocolo, pero no en su lugar.
6. El libro de protocolos puede ser electrónico pero siempre tiene que estar impreso.
7. Debería incluir los procedimientos necesarios para realizar: La toma, procesado y almacenaje de muestras, y la preparación de reactivos, soluciones, controles, calibradores y tinciones.
8. Limitaciones de cada uno de los procedimientos.
9. La manera en que cada método se optimizó.
10. Control de calidad/mejora de la calidad.
11. Calibración.
12. Comprobaciones del funcionamiento de cada aparato, mantenimiento preventivo del instrumental.
13. Cómo enviar especímenes a otros centros.
14. Cómo calcular los resultados y cómo realizar los informes, incluyendo ejemplos.
15. Valores de referencia, rangos, incluyendo los valores extremos o alarmantes.
16. Seguridad biológica o ante la radiactividad.
17. Referencias oportunas a la literatura científica.

Existen ciertos datos importantes relativos a las sondas de DNA o a los primers de PCR que deben estar disponibles en el libro de protocolos. Se trata del tamaño, de la secuencia de nucleótidos, la localización de la secuencia diana en el cromosoma, datos sobre los vectores empleados para clonar, o lugares de restricción relevantes.

Cada uno de los procedimientos, así como sus revisiones, debe ir fechado y firmado por el director del laboratorio.

Equipos

El laboratorio debe realizar y documentar una inspección periódica del equipamiento e instrumental:

1. Al menos con tanta frecuencia como la que recomienda el fabricante.
2. Cuando se sospeche que funciona mal, ya sea porque aparente tener un problema, o porque haya sufrido un accidente (p.ej. una caída).
3. Si el laboratorio se desvía de lo requerido por el fabricante, debería validar dicha desviación.

Debería realizarse un mantenimiento preventivo de la maquinaria del laboratorio para asegurar que se encuentra en condiciones óptimas. En particular debería haber un protocolo escrito para el mantenimiento de las centrifugas, balanzas, baños-maría, y bloques térmicos.

Las áreas y equipamiento de ambiente controlado (estufas, campanas, congeladores, etc.) deben mantenerse en condiciones óptimas. Los parámetros a estudiar incluyen la temperatura, humedad, contenido en CO₂, calidad del agua, protección de fluctuaciones de la corriente eléctrica, etc. deben monitorizarse y registrarse de manera periódica. Por ejemplo deben establecerse los rangos aceptables de temperatura. Su mantenimiento puede verificarse mediante termógrafos y se pueden conectar los dispositivos evaluados a un sistema electrónico de alarma que se conectan cuando la temperatura rebasa ciertos límites.

Cada laboratorio debe emplear un agua de calidad adecuada para cada instrumento, kit o sistema. Los laboratorios que producen su propia agua deben considerar parámetros como el pH, contenido en silicatos, materia orgánica, bacteriana o particulada a la hora de evaluar su calidad.

Controles

En el programa de control de calidad del laboratorio los controles y calibradores deben emplearse tal y como lo especifica el fabricante para validar los resultados, monitorizar los reactivos y las características de los instrumentos o kits.

Cuando un laboratorio recibe resultados de un laboratorio de referencia, éstos deben incluirse en el informe original y no deben alterarse. Los controles y calibradores deben emplearse en paralelo y de la misma manera con las muestras de los pacientes.

En las pruebas cualitativas deben incluirse un control positivo y otro negativo a no ser que el fabricante emplee controles más astringentes.

El laboratorio debe monitorizar todas las fases del estudio, incluyendo el procesamiento de los especímenes, amplificación, hibridación y detección a través de los controles apropiados y usar controles de hibridación y amplificación cada vez que se realice un estudio de una muestra. Los controles mínimos son los empleados durante la validación del método o los establecidos por el fabricante.

Se recomienda el estudio de un caso control de cada técnica al mes. Si una técnica se realiza poco frecuentemente (seis veces al año o menos), el control debería realizarse cada vez que se realice la técnica.

También se recomienda la realización de un control de sensibilidad. Para realizarlo una posibilidad es mezclar una pequeña cantidad de muestra positiva con un exceso de muestra negativa, por ejemplo 1/20 para una sensibilidad del 5%.

En concreto, en los métodos que incluyen *amplificación de DNA* se necesitan los siguientes controles:

1. *Control blanco/agua*. Un tubo de reacción que contiene agua en lugar de ácido nucleico. Se emplea para descartar contaminación de reactivos. Todos los reactivos deben alícuotarse cuando se reciben. De ese modo el laboratorio debe deshacerse de todas las alícuotas usadas en el caso de que el resultado de un experimento aparezca contaminado, y repetirlo con alícuotas nuevas.
2. *Control negativo*. Se utiliza un ácido nucleico de características conocidas en lugar del ácido nucleico problema para descartar amplificación inespecífica de secuencias diferentes a las secuencias problema.

3. *Control positivo*. Se realiza para asegurarse que una muestra de un paciente que contenga incluso una mínima cantidad del ácido nucleico esperable, producirá un resultado positivo en el experimento. El tamaño del fragmento que se amplifica en el control debería ser similar al del fragmento amplificable en la muestra problema, puesto que unas malas condiciones de amplificación pueden originar una ausencia de amplificación de fragmentos grandes, mientras que los pequeños aún se pueden amplificar.
4. *Control sin transcriptasa inversa* para la RT-PCR. Un resultado positivo en una RT-PCR cuando no se añade transcriptasa inversa indica que hay contaminación de reactivos o de la muestra. Cuando el control blanco/agua es negativo, un resultado positivo en el control desprovisto de transcriptasa inversa indica que:
 - a) no son los reactivos de PCR los que están contaminados, sino los reactivos empleados en la extracción de RNA o la propia extracción.
 - b) la muestra de RNA está contaminada con DNA genómico, que es el que se amplifica en lugar del RNA. Para evitar este problema es importante diseñar los primers de tal manera que hibriden en exones adyacentes, separados por intrones largos; de ese modo el amplicón a nivel de cDNA, donde no hay intrones, es muy corto, mientras que el correspondiente a DNA genómico es tan grande (incluye el intrón) que impide la amplificación.

Cuando se realice una PCR cuantitativa, se debería co-amplificar un gen de expresión constitutiva (*housekeeping gene*) en cada caso.

Si se va a realizar una evaluación cuantitativa la cantidad de producto de PCR debería caer dentro del rango de amplificación lineal. Hay que incluir controles de dilución. Se debe evitar que la intensidad de la señal sature el medio que se emplea para detectarla (película radiográfica, etc.).

El laboratorio que emplee técnicas de amplificación debe poner en marcha y realizar procedimientos *que impidan la contaminación* de ácidos nucleicos. Algunos de ellos son:

1. Un flujo de trabajo en una sola dirección desde la zona de preamplificación hasta la de postamplificación.
2. La preamplificación debe llevarse a cabo en un área específica, o en una habitación separada, desprovista de DNA amplificado.
3. Debe minimizarse la contaminación de la muestra durante el periodo de preamplificación.
4. El equipamiento y el material de protección empleados en la zona de preamplificación deben ser diferentes a los empleados en la postamplificación. Esto incluye los guantes, pipetas, batas de laboratorio, guantes, gafas de seguridad, etc.
5. Los reactivos empleados en preamplificación no deben emplearse en las áreas de trabajo de postamplificación.
6. Las muestras no deben dejarse o usarse en las áreas de postamplificación.
7. Algunos métodos pueden necesitar, además, barreras físicas estrictas. Se recomienda que haya habitaciones separadas para las técnicas de preamplificación y de postamplificación. Si todas se realizan en la misma habitación hay que definir áreas dedicadas a cada fase del trabajo, por ejemplo preparación de la muestra, preparación de reactivos, amplificación y detección.
8. Se recomienda el uso de puntas de pipeta con filtro y de guantes desechables para los procesos de preamplificación.

Para los procedimientos que necesitan un *termociclador*, el laboratorio debería:

1. Programar el termociclador siguiendo las recomendaciones del fabricante.
2. Llevar a cabo comprobaciones una vez al año.
3. Llevar a cabo comprobaciones de temperatura del bloque térmico una vez al mes, usando al menos 1/12 de los pocillos. Esto permite que se compruebe la función de todos los pocillos cada año. Hay que registrar las desviaciones de la normalidad y la velocidad de incremento de la temperatura. Esto puede llevarse a cabo mediante un dispositivo debidamente calibrado.

En los estudios de *hibridación in situ* hay que incluir:

1. Un control *positivo interno*. La presencia de tinción positiva en células normales del tejido (por ejemplo RNA de cadenas kappa o lambda en células plasmáticas) sirve para descartar falsos negativos.
2. Un control *negativo interno*. La presencia de tinción en células que se sabe que son negativas para el nucleótido buscado, sugiere un resultado falso-positivo.
3. *Controles externos* negativos y positivos. Se han de emplear si no hay controles internos positivo o negativo. Se trata de usar un corte apropiado, procesado con las mismas condiciones que el caso problema, que es un tejido cuyo resultado positivo o negativo se ha demostrado previamente. Sin embargo, puesto que puede haber diferencias de fijación, inclusión, etc., los resultados del control positivo hay que interpretarlos con cuidado, y son siempre menos fiables que los controles internos.

Se deben emplear los siguientes controles en el *Southern blot*:

1. *Fotodocumentación*. Tras la digestión por enzimas de restricción y electroforesis, las imágenes deben confirmar que la digestión y la migración han sido correctas.
2. Control de *sensibilidad*. Se carga una de las calles del gel con la cantidad mínima detectable de DNA, típicamente un 5% de la población de células tumorales.
3. Control de *línea germinal*. Ayuda a comprobar si la digestión del DNA problema fue completa y adecuada. Se suele usar DNA de placenta humana
4. Marcadores de *peso molecular*, que abarquen el rango de la mayoría de los fragmentos de restricción.
5. El laboratorio debería tener un mecanismo para asegurarse que se mantienen temperaturas constantes de hibridación a lo largo de todo el proceso.
6. El laboratorio debe tener un mecanismo para verificar que la transferencia del gel a la membrana es completa.
7. En las pruebas cuantitativas el laboratorio debe poder controlar que se estudia una cantidad similar de cada muestra.
8. En las pruebas cuantitativas el laboratorio debería incluir al menos dos muestras con diferentes concentraciones de calibrador o control.

El laboratorio debe realizar una calibración de cada método manual o automático.

Deben conservarse los resultados reales obtenidos de cada control, incluyendo los diagramas de control de calidad, y los documentos que reflejan para cada fecha los controles y calibradores empleados en el laboratorio.

Debería existir un programa que posibilitara el intercambio de muestras entre laboratorios que realicen pruebas similares. Este sería un excelente método de control externo de calidad.

Cuando se detecta un fallo en los controles, debe haber un protocolo para intentar resolver el problema y debe quedar constancia escrita de los pasos que se han llevado a cabo para resolver el problema. Por poner un ejemplo, el sistema empleado en Memorial Sloan-Kettering Cancer Center se denomina *Straight A*, en la que ese plan debe identificar *quién* o *qué* debe cambiar, *quién* es el responsable de esa acción se realice, *cuál* es la acción apropiada para la causa, objetivo o intensidad del problema, y *cuándo* se espera que el cambio descrito tenga efecto. Todas las actividades realizadas, así como las soluciones a las que se llega deben quedar escritas en un libro.

Materiales

Cada reactivo empleado debe estar rotulado para indicar el nombre, concentración, condiciones de almacenamiento, fecha de preparación / apertura, fecha de caducidad, otra información, fundamentalmente referente a las características de toxicidad, volatilidad, inflamabilidad del reactivo.

Los reactivos, especialmente los inflamables, deben almacenarse en habitaciones separadas, adecuadamente ventiladas. El material radiactivo necesita un aislamiento especial, con recipientes y armarios forrados de láminas de plomo.

No se deben intercambiar los componentes de los kits.

Hay que revisar los reactivos para descartar que estén contaminados. Cuando se sospecha que están contaminados deben dejar de usarse. Por eso es importante el emplear controles positivos y negativos en cada prueba realizada. Conviene alicuotar todos los reactivos cuando se reciben. Se puede usar una alícuota para cada experimento o para un pequeño grupo de ellos. Esto permite deshacerse de una alícuota en caso de que el experimento haya resultado contaminado.

En cada electroforesis hay que emplear marcadores de peso molecular de tamaño conocido que abarquen los tamaños esperados de los productos que se obtienen en el procedimiento empleado.

Información

El laboratorio debe asegurarse de que los resultados queden almacenados de manera correcta en el sistema informático. Este debe estar protegido de interrupciones de corriente eléctrica así como del acceso indebido de personal no autorizado. Debe haber un mecanismo para que cuando el sistema informático sea reemplazado por uno más moderno, la información contenida en el sistema antiguo esté disponible en el nuevo.

Al menos de manera ideal, los equipos automatizados (p.ej. sistemas de fotodocumentación, sistemas robotizados de extracción de ácidos nucleicos) deberían poder conectarse a los sistemas integrales de gestión de información de los laboratorios, y éstos, a los sistemas de gestión de Anatomía Patológica.

Los sistemas y protocolos de tratamiento de la información deben cumplir los criterios y procedimientos previstos en la *Ley Orgánica de protección de datos de carácter personal* (LOPD) en o que se refiere a:

- Seguridad de los datos (Artículo 9 de la LOPD)
- Deber de secreto (Artículo 10 de la LOPD)
- Acceso de los datos por cuenta de terceros (Artículo 12 de la LOPD)

- Derechos de las personas: acceso, rectificación, cancelación y oposición (Artículos 15 y 16 de la LOPD).
- Creación, modificación o supresión de ficheros. Notificación e inscripción registral (Artículos 20, 25 y 26 de la LOPD).

Esto requiere la adopción de medidas tales como la redacción de documentos de seguridad, funciones y obligaciones del personal, registros de incidencias, control de acceso, identificación y autenticación, gestión de soportes, gestión de copias de respaldo, o medidas para el control de acceso físico al laboratorio, etc.

Ética

Como queda recogido en el apartado anterior, toda la información generada en el laboratorio debe ser considerada confidencial, y debe definirse de ese modo al personal del mismo que pueda tener acceso a dicha información. Dicho personal debe firmar un convenio de confidencialidad.

Seguridad

Deben observarse las necesarias precauciones con las muestras recibidas. Esto quiere decir que todas las muestras de sangre y algunas de líquidos orgánicos deben tratarse como si contuvieran HIV o virus B de la hepatitis u otros patógenos por vía sanguínea.

Está prohibido comer, fumar, beber, llevar lentes de contacto o aplicarse cosméticos en las áreas de trabajo que presentan un riesgo razonable de exposición a agentes dañinos o infecciosos. La comida y bebida deben almacenarse fuera de las áreas de trabajo en armarios o neveras dispuestas a tal efecto, y no en áreas donde haya sangre o agentes potencialmente nocivos.

No se puede pipetear con la boca. Hay que emplear dispositivos mecánicos.

Debe haber espacio suficiente para que todas las actividades del laboratorio puedan realizarse con seguridad, especialmente en lo que concierne al espacio de trabajo en poyatas, preparación y almacenamiento de reactivos.

El laboratorio debe tener las necesarias licencias para uso de radioisótopos, así como un manual donde se explicita cómo emplearlos con seguridad, que incluya procedimientos de decontaminación. El personal autorizado para emplearla debe contar con las licencias correspondientes y debe haber una persona encargada de supervisar el uso seguro y eficiente del material radiactivo. Las áreas donde se utiliza radiactividad deben quedar adecuadamente señalizadas, y deben contar con pantallas de metacrilato o un material que proteja al personal. Todos los envíos de nucleótidos deben realizarse directamente en el laboratorio, donde habrá un libro de entrada donde conste la cantidad y la fecha de recepción del envío.

Hay que emplear guantes siempre que se prevea que va a haber contacto con sangre, otros materiales potencialmente infecciosos, o cuando se toquen superficies u objetos contaminados.

Debe haber una campana de humos o una unidad de filtración química disponible para todos los procesos que necesitan productos químicos volátiles.

Informes

Sólo deben informarse aquellos casos en los que los controles positivos y negativos tengan el resultado adecuado. En caso de que se descubra en un caso ya informado que sus controles no eran correctos, debe emitirse un informe complementario con las correcciones efectuadas.

Cuando un laboratorio recibe resultados de un laboratorio de referencia al que envió una muestra, éstos deben insertarse en el informe original.

Los informes deben indicar el método empleado y los límites de sensibilidad (técnicos y diagnósticos) del método en cuestión.

Los informes *deberían incluir al menos la siguiente información:*

1. Identificación del laboratorio.
2. Identificación del paciente.
3. Información sobre la muestra: Tipo de muestra, modo en el que llega (fijada, en fresco, etc.), estado en el que llega (en estado correcto, descongelada, etc.)
4. Procedimientos que se han realizado. Tipo de técnica, alteración molecular que se está buscando, detalles de la técnica realizada, sensibilidad y especificidad.
5. Resultado. Resultado de la prueba, valores de referencia (rango), cualquier implicación clínica del hallazgo.
6. En el caso de la hibridación *in situ* hace falta la evaluación simultánea de los datos histológicos de la misma sección estudiada por la técnica, pues al realizar muchos cortes seriados se puede alterar la morfología de una lesión focal.

Bibliografía

Association for Molecular Pathology Statement. Recommendations for in-house development and operation of molecular diagnostic tests. Association for Molecular Pathology. Am J Clin Pathol 1999;111:449-463

Clinical Laboratory Evaluation Program. Wadsworth Center. New York State Department of Health. http://www.wadsworth.org/labcert/blood_tissue/index.htm. Nueva York, Estados Unidos.

College of American Pathologists. Laboratory Accreditation Program checklists. http://www.cap.org/apps/docs/laboratory_accreditation/checklists/checklistftp.html

García-Rojo M. Equipamiento informático ideal en un servicio de Anatomía Patológica. Rev Esp Patol 2003; 36:235-256

Quality Assessment Plan. Laboratory of Molecular Pathology. Department of Pathology. Memorial Sloan-Kettering Cancer Center. Nueva York, Estados Unidos, Febrero 2004.

Agradecimiento

El autor agradece la revisión crítica del manuscrito a Teresa Hernández Iglesias, Técnico Superior de Análisis y Control del Banco de Tumores del CIC,