



VI CONGRESO LATINOAMERICANO DE BIOQUIMICA CLÍNICA

II CONGRESO INTERNACIONAL DEL COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA

Cartagena, Colombia 3 al 6 OCTUBRE 2024

**Buenas prácticas de laboratorio y agua de reacción:
importancia para el sector de Bioquímica**



Presentación



José Antonio Tesser Poloni

Farmacéutico-Bioquímico – PUCRS

Magíster y Doctor en Ciencias de la Salud - UFCSPA

Gerente Educativo - Controllab



www.congresocolabiocli.com





No tengo ningún conflicto de interés



www.congresocolabiocli.com



Introducción



- El agua es el reactivo más utilizado en la práctica de laboratorio
- Diversas aplicaciones:
 - Reconstitución de reactivos, diluciones, soluciones blancas o estándar, preparación de enjuague y tampón, preparación de medios de cultivo, alimentación de analizadores automatizados, lavado, desinfección y recuperación de utensilios



Contaminantes

- Partículas en suspensión y coloides
- Sustancias inorgánicas
- Compuestos orgánicos disueltos
- Microorganismos con sus subproductos (pirógenos)
- Gases

Agua superficial



Más material biológico y partículas y una baja concentración de iones

Agua subterránea



Baja concentración de materia orgánica y partículas y una alta concentración de iones

Sistema de tratamiento



Requisitos de calidad del agua para el laboratorio clínico

Requisitos básicos de agua en el laboratorio clínico:

- Eliminación de partículas: pueden obstruir las agujas o los colectores e interferir con la detección espectroscópica
- Controlar los niveles de sílice: para evitar la formación de depósitos en las agujas, que pueden modificar los volúmenes dispensados
- Reducir el nivel de compuestos orgánicos y el nivel de moléculas poliaromáticas: tienen altas propiedades de fluorescencia y absorbancia UV



Estándares Internacionales

- Parámetros de calidad para aplicaciones de agua reactiva, con el fin de minimizar su interferencia en las pruebas utilizadas
- Entre ellos:
 - Sociedad Estadounidense de Pruebas y Materiales (ASTM)
 - Organización Internacional de Normalización (ISO)
 - Colegio de Patólogos Estadounidenses (CAP)
 - Organización Mundial de la Salud (OMS)
 - Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI)



Estándares Internacionales

- Sociedad Estadounidense de Pruebas y Materiales
- D1193-06



Table 5. Water quality parameters for ASTM types.

Parameter	Type I*	Type II**	Type III***	Type IV
Conductivity ($\mu\text{S}/\text{cm}$) at 25°C, max	0.056	1.0	0.25	5.0
Resistivity ($\text{M}\Omega\text{-cm}$) at 25°C, max	18.0	1.0	4.0	0.2
pH at 25°C	-	-	-	5.0–8.0
TOC ($\mu\text{g}/\text{l}$), max	50	50	200	No limit
Sodium ($\mu\text{g}/\text{l}$), max	1	5	10	50
Silica ($\mu\text{g}/\text{l}$), max	3	3	500	No limit
Chloride ($\mu\text{g}/\text{l}$), max	1	5	10	50

*Requires use of 0.2 μm membrane filter; **Prepared by distillation; ***Requires the use of 0.45 μm membrane filter.

Estándares Internacionales



- Especificación en ISO 3696:1987

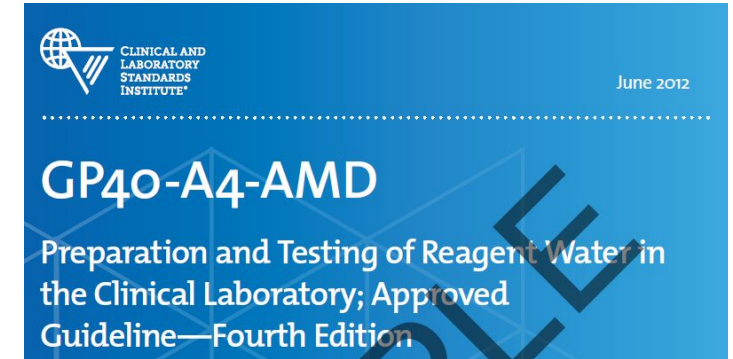
Table 4. Water quality parameters for ISO grades.

Parameter	Grade 1	Grade 2	Grade 3
pH value at 25°C	-	-	5.0–7.0
Conductivity (µS/cm) at 25°C, max	0.1	1.0	5.0
Oxidizable matter Oxygen content (mg/l), max	-	0.08	0.4
Absorbance at 254 nm and 1 cm optical path length, absorbance units, max.	0.001	0.01	-
Residue after evaporation on heating at 110°C (mg/kg), max	-	1	2
Silica (SiO ₂) content (mg/l), max	0.01	0.02	-



Estándares Internacionales

- Las aguas fueron clasificadas por CLSI en:
 - Agua reactiva de laboratorio clínico (CLRW)
 - Agua de reactivo especial (SRW)
 - Agua de alimentación instrumental (IFW)
 - Agua suministrada por el fabricante del método
 - Agua para autoclave y lavado
 - Agua purificada abastecida y envasada comercialmente



*A partir de 2006, el CLSI se ha alejado de designaciones Tipo I, II y III



CLSI - Especificaciones

Tipo de agua	Terminología	Definición	Especificaciones
Agua Reactiva para Laboratorios Clínicos *	<i>Clinical Laboratory Reagent Water (CLRW)</i>	Tipo de agua utilizada en el laboratorio de análisis clínicos para diversas funciones, como reconstitución de reactivos, estándares, calibradores y blancos de reacciones, lavado de cubetas, pipeteadores de equipos y otros instrumentos.	El recuento de unidades formadoras de colonias bacterianas (UFC/ml), debe ser inferior a 10. En cuanto al material particulado, el filtro, al final de la purificación, debe remover las partículas con un diámetro superior a 0,22 μm . Para el carbono orgánico total, los niveles aceptados deben ser inferiores a 500 ppb. Resistividad superior a 10 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ Libre de materiales orgánicos e inorgánicos, partículas y coloides, así como bacterias y sus subproductos.

*El agua reactiva no debe almacenarse; debe utilizarse tan pronto como se produzca, debido a la contaminación por gases ambientales y al crecimiento microbiano



CLSI - Especificaciones

Tipo de agua	Terminología	Definición	Especificaciones
Agua Reactiva Especial	<i>Special Reagent Water (SRW)</i>	Tipo de agua libre de nucleasas (ADNasas y ARNasas). Recomendado para técnicas moleculares.	<p>El recuento de unidades formadoras de colonias bacterianas (UFC/ml) debe ser inferior a 10.</p> <p>En cuanto al material particulado, el filtro, al final de la purificación, debe remover las partículas con un diámetro superior a 0,22 µm.</p> <p>Para el carbono orgánico total, los niveles aceptados deben ser inferiores a 50 ppb.</p>
Agua de suministro de instrumentos	<i>Instrument Feed Water (IFW)</i>	Tipo de agua utilizada para baños acuosos, enjuagues internos de maquinaria, diluciones y otras funciones utilizadas en analizadores automatizados.	No hay especificaciones para este tipo de agua.



CLSI - Especificaciones

Tipo de agua	Terminología	Definición	Especificaciones
Agua suministrada por el fabricante del método	<i>Water Supplied by a Method Manufacturer</i>	El tipo de agua utilizada como diluyente o reactivo, exclusivamente debe usarse con el equipo de diagnóstico y en ninguna otra aplicación. Este tipo de agua no sustituye al Agua Reactiva para Laboratorios Clínicos ni al Agua Reactiva Especial.	No hay especificaciones para este tipo de agua.
Agua para autoclave y lavado	<i>Autoclave and Wash Water</i>	Tipo de agua que debe ser purificada y que contiene bajos niveles de compuestos orgánicos, inorgánicos y material particulado, que podrían contaminar soluciones y medios de cultivo en el proceso de autoclave.	No hay especificaciones para este tipo de agua.
Agua purificada abastecida y envasada comercialmente	<i>Commercially Bottled, Purified Water</i>	Tipo de agua que requiere que el usuario tenga cuidado con la degradación al almacenarla y validación de los parámetros del Agua Reactiva para Laboratorios Clínicos durante el tiempo de su uso. Cada nuevo lote de agua envasada debe ser validado antes de su uso.	No hay especificaciones para este tipo de agua.



Ventajas - CLSI

- Detectar el deterioro de los componentes del sistema de purificación de agua
- Asegurar el cumplimiento permanente de las especificaciones
- Registros mínimos exigidos: resistividad diaria, recuento de unidades formadoras de colonias mensual, COT anual
- El deterioro de un único parámetro puede indicar la necesidad de mantenimiento



Interferentes Química general

Iones (Ej.: Ca, K, Na, Cl) y moléculas bioorgánicas (Ej.: glucosa, aminoácidos, lípidos, etc.)

- Fuentes de interferencia en estos ensayos incluyen:
 - Iones en el agua de alimentación
 - Bacterias que liberan iones y moléculas bioorgánicas
- Estos ensayos requieren una calidad del agua con:
 - Bajo contenido iónico (alta resistividad)
 - Recuento bajo de bacterias



Interferentes

Ensayos enzimológicos

- Fuentes de interferencia en estos ensayos incluyen:
 - Bacterias que liberan enzimas e iones cuyo comportamiento es similar al de las enzimas que se dosifican
 - Iones: cofactores (Ej.: Mg, Zn) o inhibidores de enzimas (Ej.: Cd, Pb)
 - Altas concentraciones orgánicas: pueden formar complejos con metales cofactores
- Estos ensayos requieren una calidad del agua con:
 - Recuento bajo de bacterias
 - Bajo contenido iónico (alta resistividad)
 - Bajo carbono orgánico total (COT)



Interferentes

Inmunoensayos enzimáticos

(Ej.: Biomarcadores en cardiología, regulación tiroidea)

- Las fuentes de interferencia en estos ensayos incluyen:
 - Bacterias que liberan enzimas cuyo comportamiento es similar a aquellas enzimas utilizadas en cascadas de amplificación (fosfatasa alcalina, aminoácido oxidasa) o métodos de detección (fosfatasa alcalina)
 - Iones: cofactores enzimáticos (Ej.: Mg, Zn) o inhibidores de enzimas (Ej.: Cd, Pb)
 - Altas concentraciones orgánicas: pueden interferir con el proceso de unión, inhibir enzimas e interferir con la detección de fluorescencia
- Estos ensayos requieren una calidad del agua con:
 - Recuento bajo de bacterias
 - Bajo contenido iónico (alta resistividad)
 - COT bajo



Interferentes

Ensayos de toxicología y monitorización terapéutica de fármacos (TDM)

- Métodos de inmunoensayo y cromatografía:
 - Inmunoensayo: requisitos de calidad del agua son similares a los criterios descritos anteriormente
 - Cromatografía líquida y técnicas con guiones de espectrometría de masas: requisito principal es un nivel de compuestos orgánicos muy bajo (normalmente menos de 5 ppb de COT)



Los compuestos orgánicos pueden afectar las técnicas de cromatografía al reducir la vida útil de la columna, provocar interferencias de fondo y crear picos fantasma



Interferentes

Análisis de oligoelementos

- Absorción atómica e espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS)
- Las fuentes de interferencia en estos ensayos incluyen:
 - Iones, ya que estos son los elementos que se dosifican
 - Bacterias que liberan iones
- Estos ensayos requieren una calidad del agua con:
 - Contenido iónico muy bajo (resistividad 18,2 MΩ·cm)
 - Recuento bajo de bacterias



Interferentes

Ensayos de unión de ácidos nucleicos

- Biología molecular para la identificación y el reconocimiento de enfermedades genéticas
- Las fuentes de interferencia en estos ensayos incluyen:
 - Iones: pueden unirse a los ácidos nucleicos e interferir con el proceso de unión
 - Ácidos orgánicos: pueden imitar los ácidos nucleicos e interferir con el proceso de unión
 - ARN y ADN
 - Nucleasas: degradarían el ADN y el ARN analizados
 - Bacterias, que liberan nucleasas, ADN, ARN, iones y ácidos orgánicos
- Estos ensayos requieren una calidad del agua con:
 - Bajo nivel iónico (resistividad 18,2 MΩ·cm)
 - Recuento bajo de bacterias
 - COT bajo
 - Agua libre de nucleasas (uso de ultrafiltración en el proceso de purificación)



Tecnologías de purificación

- Se utiliza una combinación de tecnologías de purificación
 - Reduce los niveles de contaminantes y también garantiza que el agua dispensada al analizador clínico tenga una calidad constante
- Técnicas de purificación y el papel que desempeñan en el laboratorio:
 - Filtración general: reduce la carga de partículas entrantes
 - Carbón activado: elimina agentes oxidantes (cloro, cloraminas, flúor), evitar el desarrollo de microorganismos
 - Ósmosis inversa: disminuir la carga de iones, compuestos orgánicos, coloides y partículas
 - Electrodesionización: elimina iones (inorgánicos y orgánicos)



Tecnologías de purificación

	General Chemistry	Enzymes	Toxicology TDM	EIA	Trace Elements	Molecular Testing	Analyzer Instrument*	Purification Technologies
Ions	•	•	•	•	•	•		RO, EDI, IEX Resins
Organics		•	•	•		•	•	RO, AC, UV _{185/254}
Bacteria	•	•	•	•	•	•	•	0.22 µM Filter, UV ₂₅₄ , chemicals
Bacteria by-products		•		•		•		UF
Particles							•	Filters (0.45; 0.1; 0.22 µM; RO, UF)
Silica							•	RO, EDI, IEX Resins

RO: ósmosis inversa

EDI: electrodosionización

Resinas IEX: resina de intercambio iónico

UF: ultrafiltración

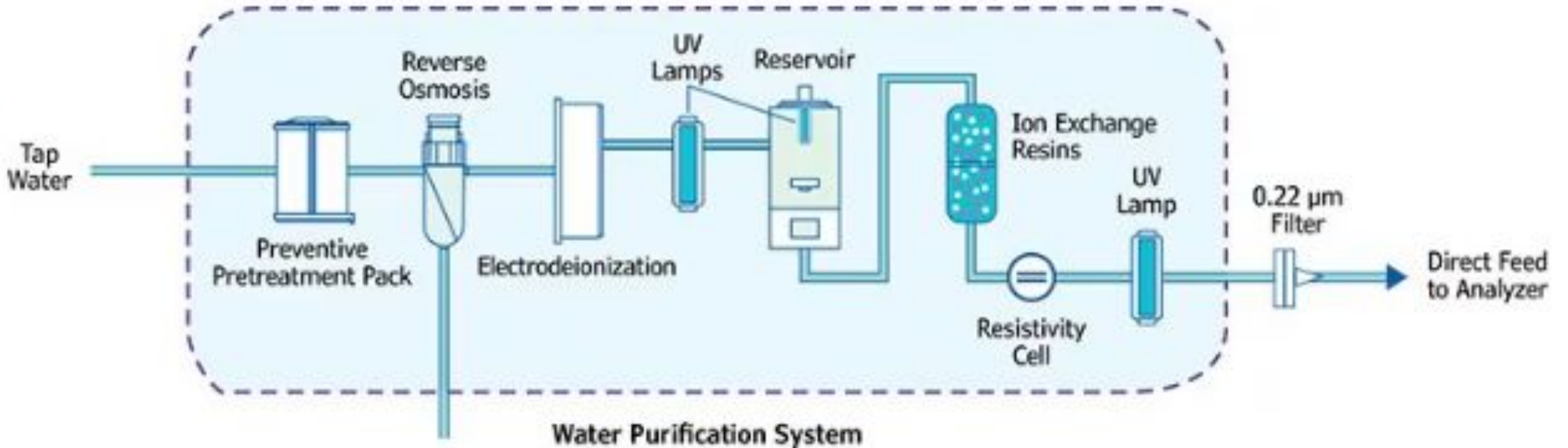
AC: carbón activado

EIA: ensayo inmunoenzimático

TDM: monitorización de fármacos terapéuticos



Tecnologías de purificación



El papel del agua en el proceso de control de calidad

- Control de Calidad: monitorear procesos analíticos (detectan errores y evitan el informe de valores incorrectos del paciente)
- Factores preanalíticos (preparación del paciente, recolección y manipulación de muestras): difíciles de monitorear, ya que ocurren fuera del laboratorio, pero...



El papel del agua en el proceso de control de calidad

Reconstitución del material - Etapa realizada durante la fase preanalítica

IMPORTANTE:

Tipo de agua a utilizar para la reconstitución
Volumen indicado por el fabricante

[el instrumento utilizado para este procedimiento de preparación debe estar debidamente calibrado]

PROCEDIMIENTO DE USO

1. Deixar o material à temperatura ambiente (15 a 30°C) por 20 minutos.
2. Retirar a tampa de borracha com muito cuidado para que o material aderido a ela não seja perdido. A mesma deve ser colocada virada para cima na bancada.
3. Reconstituir adicionando água reagente (CLSI/NCCLS) conforme volume indicado no rótulo, utilizando pipeta calibrada.
4. Deixar em repouso por 20 minutos e, em seguida, homogeneizar suavemente até dissolução completa.
5. Realizar o ensaio de forma rotineira e conforme os procedimentos utilizados no laboratório.



El papel del agua en el proceso de control de calidad

- Impacto del mantenimiento preventivo del sistema de purificación:
 - Evitar la mala calidad del agua en los analizadores clínicos, especialmente en términos de recuento bacteriano, debería ser un objetivo claro en el sistema general de control de calidad de los laboratorios clínicos
 - Si se almacena agua en el analizador clínico, esto a menudo se convierte en una fuente de contaminación
 - Reducir el recuento de bacterias en la entrada del analizador (normalmente < 10 UFC/ml) reduce el riesgo de contaminación dentro del analizador y la fuente de interferencia en los ensayos



Conclusión

- El agua afecta los ensayos clínicos de muchas maneras
- En el laboratorio clínico una buena práctica es considerar el agua como reactivo
- Se debe prestar atención a la calidad del agua necesaria para realizar diversos ensayos en un laboratorio y al manejo del agua
- Diseñar, seleccionar y mantener unidades de purificación de agua de manera adecuada puede reducir los problemas relacionados con la calidad del agua en ensayos clínicos y el tiempo de inactividad de los instrumentos





Muchas gracias!

José Poloni

Gerente Educativo - Controllab

Contacto: jose.poloni@controllab.com



www.congresocolabiocli.com





VI CONGRESO LATINOAMERICANO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

II CONGRESO INTERNACIONAL DEL COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA

¡El riesgo es que te quieras quedar!

Cartagena, Colombia 3 al 6 OCTUBRE 2024

