

JOSÉ LUIS MARTÍN CALDERÓN

PRINCIPIOS DEL LABORATORIO CLÍNICO



José Luis Martín Calderón

PRINCIPIOS DEL LABORATORIO CLÍNICO



Madrid • Buenos Aires • México • Bogotá

©José Luis Martín Calderón, 2025 (versión ebook)

Reservados todos los derechos.

«No está permitida la reproducción total o parcial de este libro, ni su tratamiento informático, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico por fotocopia, por registro u otros métodos, sin el permiso previo y por escrito de los titulares del Copyright.»

Ediciones Díaz de Santos

Internet: <http://www.editdiazdesantos.com>

E-mail: ediciones@editdiazdesantos.com

e-ISBN: 978-84-9052-545-6 (ebook)

ISBN: 978-84-9052-544-9 (versión papel)

Fotocomposición y Diseño de cubierta: P55 Servicios Culturales C.B.

Índice

PREFACIO VII

I

PARTE GENERAL

Capítulo 1: Química clínica. Medicina de laboratorio. Muestras biológicas humanas.....	1
Capítulo 2: Estadística básica aplicada al laboratorio clínico	17
Capítulo 3: Calidad y control de la calidad en el laboratorio clínico	33
Capítulo 4: Métodos clásicos de análisis químico. Disoluciones y diluciones. Microscopía ...	59
Capítulo 5: Técnicas instrumentales usadas en química clínica. Automatización en el laboratorio	89
Capítulo 6: Métodos inmunológicos. Inmunoensayos	173

II

BIOQUÍMICA CLÍNICA Y GENÉTICA

Capítulo 7: Equilibrio hidroelectrolítico y ácido-base. pH y gases en sangre.....	189
Capítulo 8: Proteínas séricas. Métodos de separación y cuantificación. Proteinograma	207
Capítulo 9: Enzimología clínica. Significado clínico de la medida de la actividad enzimática.....	225
Capítulo 10: Glúcidos o hidratos de carbono: química, metabolismo y fisiopatología	241
Capítulo 11: Lípidos y lipoproteínas plasmáticas.....	273
Capítulo 12: Estudio de la función hepática por el laboratorio. Fisiopatología hepática.....	291
Capítulo 13: Hormonas. Fisiología y patología endocrinas.....	311
Capítulo 14: Exploración bioquímica de la función cardiaca. Biomarcadores cardiacos.....	367
Capítulo 15: Marcadores bioquímicos del cáncer.....	383

Capítulo 16: Farmacología clínica. Monitorización de fármacos. Toxicología clínica	397
Capítulo 17: Función renal. Estudio de la orina. Urolitiasis	427
Capítulo 18: Estudio de los líquidos serosos, sinovial y cefalorraquídeo	467
Capítulo 19: Estudio del semen y del moco cervical por el laboratorio.....	487
Capítulo 20: Genética clínica. Citogenética. Técnicas de genética molecular	495

III

HEMATOLOGÍA, E INMUNOLOGÍA

Capítulo 21: Sangre: composición. Fisiología y patología de la serie roja	543
Capítulo 22: Fisiología y patología del sistema leucocitario	597
Capítulo 23: Fisiología y patología de las plaquetas.	627
Capítulo 24: Coagulación y fibrinólisis. Fisiología, patología y estudio de laboratorio	639
Capítulo 25: Inmunohematología y medicina transfusional.....	655
Capítulo 26: Sistema inmunitario: inmunología e inmunopatología.....	679

IV

MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA

Capítulo 27: Microbiología clínica. Técnicas de observación de los microorganismos.....	705
Capítulo 28: Crecimiento e identificación de los microorganismos. Medios de cultivo	715
Capítulo 29: Bacterias de importancia clínica. Clasificación, infecciones que causan y diagnóstico de laboratorio	747
Capítulo 30: Micobacterias. Identificación. Patología de la tuberculosis	779
Capítulo 31: Agentes antimicrobianos. Estudios de sensibilidad	799
Capítulo 32: Micología clínica. Clasificación y cultivo de hongos de interés médico.....	809
Capítulo 33: Parasitología clínica. Clasificación e identificación de parásitos de interés médico	823
Capítulo 34: Virología clínica. Sistemática e identificación de virus	859

Prefacio

En la práctica clínica actual, alrededor del 70% de las decisiones médicas están basadas en los datos provistos por los laboratorios clínicos, hasta el punto de que lo que clásicamente se conocían como pruebas complementarias, hoy casi se han erigido como pruebas principales en Medicina. El laboratorio que da soporte a las exploraciones clínicas se ha conocido clásicamente como Análisis Clínicos, y posteriormente como Laboratorio Clínico, e incluso como Biopatología Médica. Las ciencias del laboratorio clínico son bastante heterogéneas, de modo que incluyen disciplinas como la Microbiología, la Bioquímica, la Inmunología, la Genética o la Hematología, incluso la Farmacología y Toxicología clínicas, que de por sí constituyen campos de especialización separados. Lo que tienen en común todas ellas es la aplicación de disciplinas científicas básicas, como la Física, la Química y la Biología para obtener información de especímenes biológicos como sangre, orina y otros fluidos, relacionándolos con el estado de salud o enfermedad del paciente. Tradicionalmente se ha dejado aparte a la Anatomía Patológica, que se dedica a obtener información de los tejidos.

El laboratorio clínico ha sido una de las áreas de las ciencias de la salud más tempranamente tecnificadas, automatizadas y digitalizadas, especialmente en las áreas de Bioquímica Clínica y Hematología, debido al creciente incremento del número de muestras procesadas. Ello a veces ha llevado erróneamente a pensar a algunos colegas de otras especialidades que en los laboratorios “todo lo hacen las máquinas” (*sic*). En realidad, las tareas de los laboratorios de los hospitales y clínicas implican una serie de procesos complejos, que aunque automatizados, necesitan el concurso de personas bien entrenadas, desde facultativos especialistas hasta técnicos de laboratorio. Por otro lado, los laboratorios clínicos no son meros emisores de datos, cuantitativos, cualitativos o semicuantitativos. Estos datos deben ser convertidos en información que será útil al médico en el diagnóstico, pronóstico y seguimiento del proceso morboso. La conversión de los datos en información útil al clínico es de lo que trata lo que modernamente se ha dado en denominar “Medicina de Laboratorio”. De este modo, los profesionales de laboratorio no son solo *practicones* que realizan las determinaciones solicitadas, sino auténticos consultores sobre aspectos de las tres fases del ciclo de un laboratorio clínico, a saber: (1) preanalítica, (2) analítica y (3) postanalítica. La fase preanalítica, representada por todo lo que ocurre antes del análisis de la muestra, es un proceso fundamental, ya que en esta fase es donde se producen la mayoría de los errores que pueden dar lugar a resultados de baja calidad. Hay que tener en cuenta que un resultado obtenido

con una muestra no adecuada (mal extraída, obtenida en tubo erróneo o en un tiempo no adecuado) es peor que la ausencia de resultado. En lo que se refiere a la fase analítica, el valor añadido que puede dar el laboratorio es fundamental, en lo que se refiere por ejemplo a las interferencias analíticas, que pueden afectar a la especificidad de los resultados. En la fase postanalítica el facultativo de laboratorio tiene mucho que aportar al clínico en la interpretación de los resultados, ya que a veces el simple número requiere explicación en el contexto de la situación patológica.

En los tiempos que corren, escribir un libro de contenido científico con fines académicos con una única autoría es una tarea titánica y casi irrealizable, dado el grado de especialización que requiere cada uno de los capítulos, y más en el terreno de la Medicina de Laboratorio donde, como hemos dicho, cada uno de los bloques que la componen son áreas de especialización separadas. Por ello, con esta obra no he pretendido realizar un tratado, imposible en la actualidad para una sola persona, el libro está concebido como un manual basado fundamentalmente en mi experiencia docente en la preparación de técnicos de laboratorio, así como en mi labor asistencial e investigadora en los laboratorios de hospitales. Está dirigido principalmente a los estudiantes de técnico de laboratorio biomédico y a los profesionales de esta categoría que preparan oposiciones para los sistemas sanitarios públicos. Asimismo, puede tener utilidad en las asignaturas de los grados universitarios en los que se cursan asignaturas relacionadas con el diagnóstico de laboratorio, como los grados de Farmacia y Bioquímica. Espero que el texto tenga buena acogida entre los estudiantes y profesionales de laboratorio que lo consideren útil.

EL AUTOR

Talavera de la Reina, febrero de 2025

I

PARTE GENERAL

1

QUÍMICA CLÍNICA. MEDICINA DE LABORATORIO. MUESTRAS BIOLÓGICAS HUMANAS

■ QUÍMICA CLÍNICA. LABORATORIO CLÍNICO

Las Ciencias del Laboratorio Clínico van a apoyar a la Medicina en el diagnóstico de las diversas enfermedades mediante el análisis químico cualitativo o cuantitativo o el análisis biológico de unos determinados componentes en unos fluidos o especímenes, que son las muestras biológicas. Este conjunto de conocimientos se ha dado en llamar de diversos modos. Así, se habla de Medicina de Laboratorio en el mundo anglosajón, Biopatología Clínica en Francia y su área de influencia o Análisis Clínicos en España y Portugal. Se llame como se llame las Ciencias del Laboratorio Clínico van a aplicar las ciencias básicas (física, química, biología) al estudio de las muestras de pacientes. La Medicina de Laboratorio convierte datos cualitativos o cuantitativos en conocimiento usado por el médico para apoyar o descartar un diagnóstico o para instaurar o seguir un tratamiento. El primer laboratorio ligado a un hospital surge en Múnich en 1886.

Dentro de las Ciencias del Laboratorio Médico podemos incluir varias ramas, como son:

1. Química clínica.
2. Hematimetría y coagulación.
3. Medicina transfusional.
4. Inmunología.
5. Genética.
6. Microbiología y Parasitología.
7. Toxicología.

Para que los resultados sean fiables y apoyen de verdad el diagnóstico clínico debemos seguir una serie de pautas establecidas en la extracción, evitando así resultados erróneos. De la misma manera es muy importante tener cuidado en el transporte de la muestra hasta el laboratorio y en la conservación, si procede, desde la recogida hasta la realización del análisis.

Las muestras biológicas o especímenes que pueden ser objeto de estudio de un laboratorio de diagnóstico clínico son variadas, encontrándose entre ellas:

- Sangre.
- Orina.
- Heces.

- Líquidos corporales: cefalorraquídeo, sinovial, líquidos serosos (pleural, pericárdico, ascítico).
- Semen, líquidos vaginales, moco cervical.
- Espudo, exudados, etc.

Todo acto sanitario que se realiza en los laboratorios de diagnóstico clínico consta de tres etapas:

- Fase preanalítica, que abarca todo lo relativo a la preparación del paciente para la extracción de la muestra, así como la obtención, transporte y conservación de dicha muestra.
- Fase analítica, propiamente dicha: incluye todo lo relacionado con el análisis de la muestra.
- Fase postanalítica: es la fase de emisión e interpretación de los resultados.

Según todas las series publicadas la gran mayoría de los errores que se producen en los laboratorios clínicos son preanalíticos. De ahí la importancia de cuidar los factores preanalíticos a la hora de garantizar la fiabilidad de los resultados. La preparación adecuada del paciente para las pruebas es esencial, debiendo cuidarse ciertos aspectos como:

- El ejercicio: tiene efecto marcado sobre enzimas musculares como CK, aldolasa, LDH, etc.
- Ayuno prolongado: da lugar a aumento de bilirrubina y triglicéridos.
- Dieta: hay ciertas determinaciones que requieren una dieta específica (serotonina, catecolaminas, hidroxiprolinas).
- Hábitos tóxicos: el etanol aumenta los niveles de urato y triglicéridos. El tabaco aumenta los niveles de carboxihemoglobina.
- Efectos farmacológicos: efecto del paracetamol sobre la GGT o de la fenitoína sobre el ácido fólico.
- Obtención de la muestra: la aplicación incorrecta del torniquete y el ejercitar el puño puede incrementar los valores de lactato.

El personal que extrae la muestra debe verificar en primer lugar que esta pertenece al paciente correcto, así como que la muestra es la adecuada y se extrae en el tubo correcto.

■ MUESTRAS DE SANGRE

La sangre es la muestra más frecuente, la materia prima por excelencia de los laboratorios clínicos, ya que se trata de un tejido líquido muestreable de modo poco invasivo y del que se puede obtener información útil y rápida. La sangre puede obtenerse de arterias, venas o capilares. El tipo de punción elegido dependerá de las pruebas analíticas que necesitemos realizar y de la edad y estado del paciente. En la mayoría de los parámetros no existe una gran variación según su origen sea la sangre venosa, arterial o capilar. Sin embargo para la evaluación de los gases en sangre sí es importante conocer el origen de la muestra, pues los valores de referencia son muy distintos en sangre venosa y arterial. Del mismo modo la concentración capilar de glucosa es del 10 al 30% superior a la que se halla en sangre venosa.

Técnicas de punción

La extracción de muestras de sangre se realiza mediante agujas con jeringas desechables o bien con tubos de vacío. Antes de la extracción de la muestra debemos seguir unas pautas a fin de evitar errores preanalíticos y de evitar incomodar al paciente:

- Confirmar la identidad del paciente. En caso de que este no pudiese hacerlo lo deberá hacer un familiar.
- Asegurarnos de que el paciente ha seguido las instrucciones indicadas para la determinación en cuestión si fuese necesario (ayuno, dieta específica).
- Colocar al paciente para que esté cómodo y permitiendo al personal que extrae la sangre un acceso fácil al punto de punción.
- Preparar el material necesario (aguja, jeringa o tubos de vacío, antisépticos, etc.)

Punción venosa

La punción venosa es el método más frecuente para la obtención de muestras de sangre en los laboratorios clínicos, debido a su facilidad. Suele realizarse en la vena antecubital, por su grosor y superficialidad. La vena se detecta por palpación, y en los casos en los que no sea fácilmente localizable esta operación se facilita con movimientos alternativos de apertura y cierre de la mano. Alternativamente puede hacerse la extracción de las venas de mano y muñeca o de las venas del tobillo. Si el paciente presenta un catéter intravenoso debemos tratar de recolectar la muestra del brazo contrario. La técnica de punción consiste en:

- Colocar el torniquete e inspeccionar la zona en busca de la vena adecuada. El torniquete se colocará unos 2 cm por encima de la zona de punción elegida.
- Limpiar la zona de punción con algodón empapado en antiséptico (alcohol al 70%, povidona yodada al 1%). La zona se limpiará realizando movimientos espirales desde el punto elegido para la punción al exterior y se dejará secar unos segundos.
- Se sujeta la vena con el pulgar e índice de la mano libre, colocando un dedo por encima y otro por debajo de la zona a pinchar.
- Con el bisel hacia arriba introduciremos la punta de la aguja en vena con una inclinación de 15° respecto al antebrazo. La punción ha de ser suave y rápida.
- Si la punción se efectúa con jeringuilla retiraremos lentamente el émbolo para evitar que la sangre se hemolice o que se colapse la vena. Una vez realizada la extracción la sangre se traspasa a los tubos adecuados dejándola resbalar por las paredes para evitar la hemólisis. Si la extracción se realiza con tubos de vacío se coloca el primer tubo en el interior del portatubos, sin que se perfora el tapón. Una vez canalizada la vena se introduce el tubo hasta el fondo y la sangre penetrará hasta que cese el vacío. Posteriormente se irán colocando los demás tubos hasta que se llenen todos. El último tubo se sacará del portatubos cuando hayamos retirado la aguja al paciente.
- Antes de retirar la aguja debemos quitar el torniquete, para que ceda la presión y el retorno venoso sea restablecido.
- Una vez extraída la aguja se proporciona al paciente un trozo de algodón para que presione en el lugar de punción durante 2-5 minutos para evitar hematomas y favo-

recer la agregación plaquetar. El algodón puede sujetarse con un esparadrapo, que se retirará transcurridos 10 minutos.

- Una vez realizada la extracción se moverán los tubos con suavidad para que la sangre se mezcle con los anticoagulantes si los hay.



Figura 1.1. Extracción de sangre venosa mediante tubos de vacío y portatubos.

Para evitar contaminaciones en la muestra el orden de llenado de los tubos (Figura 1.2) es: (1) tubos sin anticoagulante (rojo); (2) tubos de citrato (azul); (3) tubos de heparina (verde); (4) tubos de EDTA (violeta); (5) tubos de NaF (gris).

En algunos casos la punción se realiza incorporando un dispositivo, como una palomilla o una vía venosa que se introduce en el vaso de forma temporal o continua. Es lo que se conoce como venoclisis. Se usa cuando se deben hacer intercambios continuos de sangre (transfusión, hemodiálisis), en alimentación parenteral o en pacientes hospitalizados a los que se esté aplicando medicación intravenosa de manera habitual.

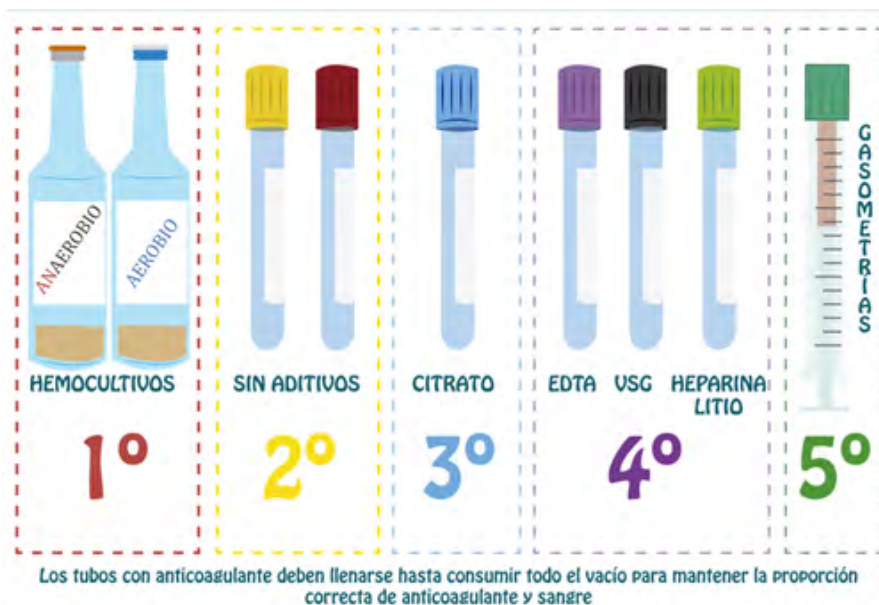


Figura 1.2. Orden de llenado de tubos en una extracción de sangre.

Punción arterial

La extracción de sangre arterial está indicada principalmente para la determinación de los parámetros de la gasometría (pO_2 , pCO_2 , pH). Este tipo de extracciones presentan algunos inconvenientes con respecto a la venosa:

- Mayor dificultad técnica debido a la mayor profundidad de las arterias, así como por la mayor fragilidad y peligro de formación de hematomas.
- Es mucho más dolorosa para el paciente que la punción venosa, ya que debido a la mayor profundidad arterial se puede entrar en contacto con paquetes nerviosos.
- La lesión producida por la aguja puede ocasionar vasoconstricción refleja o espasmo arterial, lo que puede alterar la irrigación desde la zona de punción hasta las zonas distales.

Antes de la punción el paciente ha de estar sentado y en reposo por lo menos diez minutos. Las arterias que se eligen de modo más frecuente son la radial y la femoral. Para la determinación del estado de oxigenación de la sangre se usan jeringas especiales de gasometría. No deben usarse nunca jeringas de plástico normales, pues el émbolo no sube con la presión arterial. El recipiente de referencia son las jeringas de vidrio con el interior lubricado con heparina, debido a que a través de sus paredes la difusión de gases es mucho menor que en el plástico. Sin embargo en los laboratorios actuales el uso de jeringas de vidrio es impracticable, ya que no son desechables y necesitarían esterilización entre paciente y paciente. Las jeringas especiales de gasometría soslayan en parte los inconvenientes de las jeringas de plástico convencional, ya que minimizan las pérdidas de gases a través de sus paredes. Además llevan en su interior heparina liofilizada, que evita la coagulación, y en ellas la presión de la sangre arterial es suficiente para subir el émbolo.

La técnica de punción arterial se lleva a la práctica como sigue:

- Después de informar al paciente y corroborar su identidad se localiza la arteria elegida y el punto de punción por medio de pulsaciones.
- Limpiar la zona de punción con material antiséptico.
- Introducir la aguja con una inclinación de 45° respecto al antebrazo, intentando que la punción sea rápida y suave, a fin de no incomodar al paciente. Si se canaliza la arteria la sangre entrará por sí sola en la jeringuilla, gracias a la presión del sistema arterial.
- Retirar la aguja del paciente y solicitar al paciente que presione fuertemente sobre el punto de punción durante 5 minutos, a fin de facilitar la hemostasia.
- Purgar el aire presente en la jeringa y taponar con una tapón hermético, con el fin de evitar la difusión de los gases.
- Mover suavemente la sangre para que se mezcle con el anticoagulante.

En el análisis de una gasometría la sangre debe procesarse lo antes posible, ya que las células están consumiendo oxígeno y eliminando dióxido de carbono, además de la difusión de gases, que aunque mínima, puede tener lugar a través del plástico. En caso de no poder realizarse el análisis instantáneo las muestras, deben introducirse en nevera, con el fin de ralentizar el metabolismo celular.

Punción capilar

Es el método de elección cuando se requiere poca cantidad de muestra (micrométodo), como ocurre sobre todo en lactantes y también en ancianos con tendencia a trombosis, en casos de obesidad extrema y grandes quemados. Esto se debe a que la cantidad de muestra extraída mediante venopunción es excesiva, especialmente para niños prematuros, pudiendo ocasionar paro cardíaco, hemorragia, trombosis, venoconstricción con gangrena de extremidades y riesgo de infección.

Para esta modalidad de extracción se usan lancetas estériles y tubos pediátricos o capilares heparinizados. Los lugares típicos para hacer esta punción son: el lóbulo de la oreja, el talón y la yema de los dedos (en la zona palmar de la tercera falange de los dedos de la mano, en niños mayores y adultos, y la zona palmar del dedo gordo del pie en lactantes. Para aumentar la circulación local de la sangre puede caldearse la zona de punción con un paño seco y caliente.

La sangre arterializada recogida de la punción cutánea de dedo ha sido recomendada como sustituto adecuado de la sangre arterial, por lo que se refiere a los valores de pH y $p\text{CO}_2$, pero no para la $p\text{O}_2$. La zona recomendada para obtener sangre arterializada es el lóbulo de la oreja, debido a su gran vascularización y su bajo consumo metabólico. La sangre de esta zona se arterializa por calor, golpeando ligeramente con el dedo índice hasta que se observa un flujo definido. De este modo los resultados hallados para el pH, $p\text{O}_2$ y $p\text{CO}_2$ son prácticamente superponibles a los que se obtienen por punción arterial.

La técnica de punción se realiza del siguiente modo:

- Etiquetar adecuadamente los recipientes donde va a ser tomada la muestra y corroborar la identidad del paciente.
- Elegir la zona de punción, debiéndose confirmar que no ha sido puncionada recientemente y que no está edematizada.
- Limpiar la zona elegida con povidona yodada al 1% o alcohol al 70%.
- Mantener firmemente sujeta la zona y puncionar con lanceta estéril una sola vez.
- La primera gota contiene líquido intersticial, que hay que desechar empapándolo en una gasa. Recogeremos la muestra en microtubos o tubos capilares, en los que la sangre penetrará por capilaridad. Si queremos aumentar el flujo realizaremos una ligera presión en la zona próxima.
- Cerrar los extremos de los recipientes. Limpiar el área de punción y ejercer presión con una gasa estéril hasta que deje de salir sangre.

Catéter intravascular

En pacientes que necesitan un seguimiento analítico exhaustivo en un espacio de tiempo reducido, como ocurre en los pacientes de UCI, se coloca un catéter intravascular (vía) con el fin de evitar molestias innecesarias y facilitar la labor del personal sanitario. El catéter es frecuentemente empleado para administrar medicación o sueros parenterales.

Cuando se extrae sangre de una vía vascular, puesto que está siendo utilizada para la administración de líquidos, se debe tener en cuenta la posible contaminación de la muestra por estos líquidos. Para evitar estos problemas se debe desechar una cantidad de sangre antes de recoger la muestra definitiva, no debiendo ser inferior esta cantidad a los 6 ml.

Recipientes de muestras, anticoagulantes y preservadores

Existen varios tipos de tubo para recoger muestras sanguíneas, teniendo cada uno un código de colores universal. Cuando la muestra que se quiere obtener para su procesamiento es suero sanguíneo, el tubo no necesita anticoagulante y el código de colores del tapón es rojo. Cuando lo que se requiere es sangre total o plasma, la sangre debe ser recogida en un tubo que contenga un anticoagulante. Existen varias sustancias que bloquean en diferentes pasos el proceso de coagulación natural de la sangre. Los anticoagulantes deben elegirse de acuerdo con las determinaciones que se vayan a realizar, asegurándonos de que su presencia no afecte a la medida. Por ejemplo si se quieren medir iones Na^+ , K^+ , no puede usarse como anticoagulante el EDTA tripotásico (sal del ácido etilendiamonotetracético), ni en tubos con la heparina sódica; lo mismo sucede con la determinación del litio en tubos de heparina de litio. Los anticoagulantes más usados con sus correspondientes códigos de colores son los siguientes:

- Heparina (tubo verde): es el anticoagulante que menos interfiere en la mayoría de las determinaciones bioquímicas. Es un mucopolisacárido natural presente en muchos tejidos que neutraliza la acción de la trombina en el proceso de la coagulación. Se presenta frecuentemente como sal sódica, potásica o de litio y la dosis más usada es de unas 20 unidades por cada ml de sangre (0,2 mg/ml de sangre). Puede usarse como solución o secarse sobre las paredes de los tubos en los que se va a recoger la muestra. Se usa en las jeringas de gases y para recoger muestras destinadas al uso de plasma, sobre todo en los laboratorios de urgencias, donde se trata de evitar la demora que supone la obtención de suero por el tiempo necesario para la retracción del coágulo. Conserva la morfología celular, aunque produce un color azulado en las tinciones panópticas.
- Citrato sódico (tubo azul): actúa secuestrando el calcio imprescindible para el proceso fisiológico de la coagulación de la sangre, usándose una proporción de 30 mg por ml de sangre. Se emplea sobre todo para estudios de coagulación, aunque también se ha usado para medir la velocidad de sedimentación globular.
- Ácido etilendiaminotetracético, más conocido por EDTA (tubo violeta): se usa en forma de sus sales sódicas o potásicas, siendo la más frecuente la forma tripotásica. Actúa como agente quelante del calcio, factor clave en el proceso fisiológico de la coagulación sanguínea. Se utiliza en una proporción de 1-2 mg por ml de sangre. Se usa para recuentos celulares hematológicos, ya que respeta la morfología de los leucocitos y eritrocitos durante un máximo de 24 horas a 4 °C.
- Fluoruro (tapón gris): generalmente en forma de sal sódica. Inhibe gran cantidad de enzimas, incluidas enzimas de la ruta glucolítica, por lo que es especialmente útil en las determinaciones de glucosa, cuando entre el momento de la toma de muestra y la centrifugación de la sangre debe transcurrir más de una hora.
- Ácido cítrico/citrato disódico/dextrosa (ACD): la proporción de la mezcla es de 0,9 g de ácido cítrico, 2 g de citrato disódico, 2 g de dextrosa y agua destilada (120 ml). Se usa en banco de sangre en una proporción $\frac{1}{4}$ para la conservación de unidades de sangre.

En la siguiente tabla se muestra el código de colores universal para los tubos usados en los laboratorios clínicos.

Color	Muestra	Anticoagulante	Aplicación
Rojo	Suero	-----	Química
Verde	Plasma	Heparina	Química
Violeta	Sangre	EDTA	Hemograma
Azul	Plasma	Citrato	Coagulación
Gris	Plasma	Fluoruro	Glucosa



Figura 1.3. Tubos empleados en las determinaciones analíticas de los laboratorios clínicos según el código de colores.

Muestras de sangre para hemocultivos

Las extracciones de sangre para hemocultivos deben realizarse en unas condiciones especiales. Para ello se limpia la piel con alcohol del 70% y se extraen de 5 a 10 ml de sangre con una jeringa estéril. Este volumen de sangre se transfiere en la cabecera del paciente a unos frascos especiales de hemocultivos, que contienen un medio de transporte, pinchando con la aguja en el tapón de goma del recipiente. Cada muestra se ha de extraer por duplicado, debiéndose transferir sangre a un frasco para microorganismos aerobios y otro para anaerobios. Una vez descargada la jeringa se debe mezclar bien con el medio de cultivo contenido en el frasco. No se debe extraer sangre de un catéter, ya que este puede estar contaminado y dar falsos positivos.

El momento óptimo para la recogida de sangre destinada a hemocultivos se da cuando la temperatura del paciente aumenta. Se recomienda realizar tres tomas espaciadas entre sí diez minutos.

■ MUESTRAS DE ORINA

La obtención y conservación de la orina con fines analíticos debe efectuarse mediante un procedimiento cuidadosamente preestablecido para que los resultados sean válidos. Conviene utilizar para la recogida de la orina recipientes de plástico desechables. Las pruebas ana-

líticas de orina se diferencian básicamente en tres categorías: químicas, bacteriológicas y de examen microscópico. El método de obtención de la muestra de orina depende del análisis que se vaya a realizar.

Existen tres modalidades de recogida de las muestras de orina: (1) orina al azar o de micción aislada; (2) orina en un tiempo predefinido; (3) orina de 24 horas.

Orina de micción aislada

Procede de una sola micción y se recoge al azar a cualquier hora del día, aunque se suele preferir la de primera hora de la mañana por ser la más concentrada. Se recoge en un recipiente preferentemente estéril desechando el principio y el final de la micción. Es válida para los análisis cualitativos de rutina poco influenciados por las variaciones periódicas en la excreción de sustancias, que constituyen el llamado sistemático de orina, incluyendo el estudio microscópico del sedimento urinario. La muestra deberá ser procesada a la mayor brevedad posible, refrigerándola en su defecto, ya que la demora del análisis puede producir sobrecrecimiento bacteriano, destrucción de las células y alcalinización.

En estos análisis cualitativos se determinan de modo cualitativo, mediante tiras reactivas, el pH, densidad, glucosa, proteínas, cuerpos cetónicos, bilirrubina, urobilinógeno, nitritos, leucocitos y hemáties. Tras la centrifugación de la muestra se observa al microscopio el sedimento obtenido.

Orina recogida a tiempo predefinido

Esta modalidad se utiliza fundamentalmente para las determinaciones cuantitativas metabólicas, y en general para la medida de todas aquellas sustancias que exhiben variaciones en su excreción. Cuando se requieren varios muestreos la orina se recogerá a intervalos definidos empezando desde el “tiempo cero”.

La orina de 24 horas es la modalidad más frecuente de recogida a tiempo definido. El protocolo de recogida que debe seguirse es:

- Orinar al levantarse por la mañana, desechar esta orina y anotar la hora.
- Recoger la orina hasta la misma hora del día siguiente, conservando durante este periodo la orina refrigerada.
- Una vez recogida llevar lo antes posible al laboratorio, donde se mezcla bien y se mide el volumen (diuresis).

Las recogidas de orina de 24 horas que se llevan a cabo dentro del hospital son más fiables que las que se producen fuera del ámbito hospitalario, que requieren explicar bien al paciente el procedimiento. El problema más importante estriba en obtener un volumen de orina inferior al necesario, siendo 40 ml el mínimo imprescindible. No es fácil determinar si la recogida ha sido completa. En caso de que no sea posible obtener orina de 24 horas o que los resultados obtenidos con ella no sean fiables, se pueden expresar los resultados del parámetro en cuestión, en lugar de referidos a la diuresis, referidos a la concentración de creatinina en orina, ya que esta sustancia se excreta de modo más o menos constante.

En las recogidas de orina de 24 horas se suelen adicionar a los recipientes unos conservantes, que tienen como finalidad reducir el crecimiento bacteriano y la descomposición química, así como solubilizar los constituyentes urinarios con tendencia a precipitar, además de reducir la oxidación de compuestos inestables. Los conservantes más usados son:

- Formaldehído en tabletas, que retrasa la destrucción de cilindros y elementos formes. No interfiere con el examen químico y microscópico.
- Tolueno: funciona como antioxidante.
- Timol: puede dar falsos positivos para la albúmina.
- Carbonato sódico: se usa para la determinación de porfirinas.
- Ácido clorhídrico y ácido acético glacial: se usan en las determinaciones de catecolaminas y metabolitos, así como de 17-cetosteroides, 17-hidroxicorticoides, estrógenos y cortisol.

Es importante advertir al paciente sobre la presencia de estos productos o poner una etiqueta en el recipiente que informe al respecto para evitar quemaduras por el contacto con estos conservantes que son tóxicos o corrosivos.

Muestras para urocultivos. Técnicas especiales de recogida de orina

Las muestras para cultivos bacterianos de orina deben recogerse siempre en recipientes estériles. Para la correcta recogida debe cumplirse la siguiente secuencia:

- Lavar cuidadosamente los genitales externos con agua y jabón, para evitar contaminación por microorganismos de áreas circundantes.
- Se desprecia la primera fracción de la micción y la última, de modo que se recoge el chorro medio.

En algunos casos se usan métodos especiales de recogida, como:

- El sondaje uretral, cuando el paciente no puede orinar por sí mismo. Se realiza introduciendo una sonda por la uretra.
- Aspiración suprapúbica vesical: se aspira la orina de la vejiga con jeringa y aguja a través de la pared abdominal por encima del pubis. Está indicada solo cuando se busca la presencia de microorganismos anaerobios en orina.

MUESTRAS DE HECES

Como en otras muestras en las heces podemos hacer investigaciones químicas o microbiológicas. Dentro de las determinaciones químicas destacan:

- Análisis de sangre oculta: se realiza sobre pequeñas porciones de heces, a las que se adiciona un reactivo, que en la actualidad es un anticuerpo frente a la hemoglobina humana.
- Estudio del contenido en nitrógeno y grasas fecales: se realiza en heces recogidas durante 24 horas en un recipiente sin conservantes que se mantiene refrigerado todo el periodo de recogida.

Los estudios microbiológicos comprenden:

- Coprocultivo: se recogen las heces en condiciones de esterilidad. Los recipientes de recogida suelen tener unido al tapón una pequeña cucharilla para extraer las heces en el laboratorio.
- Análisis serológicos: normalmente se llevan a cabo por reacciones de aglutinación con anticuerpos específicos frente a virus (*Rotavirus*) o bacterias (*Helicobacter pylori*).
- Estudios parasitológicos: conviene llevar la muestra lo antes posible al laboratorio, ya que conviene efectuar el examen en heces frescas, recién emitidas. De no ser así debe utilizarse un medio de conservación que fije y conserve los protozoos.

■ TRANSPORTE Y PROCESADO DE LAS MUESTRAS

Lo ideal es que la extracción de muestras se produzca lo más próximo posible al laboratorio, de modo que el tiempo que transcurra entre la obtención de la muestra y el inicio de su procesamiento sea corto y en este caso no son necesarias condiciones especiales de transporte. Sin embargo la imposibilidad práctica de disponer de todas las pruebas en la proximidad del paciente junto con el actual proceso de centralización de los laboratorios hace que esto no se cumpla en muchos casos.

En general se considera adecuado que las muestras lleguen al laboratorio con un máximo de 45 minutos desde su recogida. El transporte de los especímenes desde los lugares de recogida hasta el laboratorio suele hacerse en gradillas. En muchos laboratorios de urgencias existen sistemas de tubo neumático que acortan el tiempo de transporte (si funcionan). Deben observarse unas normas básicas para el transporte desde los puntos de extracción a los laboratorios o desde unos laboratorios a otros:

- Como norma general deben ir refrigeradas a 4 °C.
- Las muestras deben estar protegidas de la luz solar.
- La agitación de la muestra debe ser mínima para evitar la hemólisis.
- Cuando se precisa la determinación de elementos termolábiles la muestra debe transportarse en hielo.
- Las muestras que requieren congelación han de transportarse en nieve carbónica.

Una vez que las muestras están en el laboratorio son procesadas. Las muestras de gasometría son las que requieren un análisis más inmediato, para minimizar la difusión de los gases, y el consumo de oxígeno por parte de las células. Los estudios hematológicos se hacen en tubo de sangre total con EDTA, pudiendo almacenarse hasta 24 horas a 4 °C.

Para las determinaciones bioquímicas la muestra más habitual es el suero. Para que se forme el suero hay que esperar a la retracción del coágulo unos 20 minutos y centrifugar a 1.000 X g 10 minutos. Por ello en los laboratorios de urgencia utilizan frecuentemente tubos de plasma (heparina), que no necesitan este tiempo de espera, pudiéndose centrifugar en las mismas condiciones, pero de forma inmediata. La muestra de suero o plasma no debe estar sin separarse de los elementos formes de la sangre más allá de 2 horas, pues pasado este tiempo algunas determinaciones pueden verse alteradas, como la glucosa, fosfato, potasio, creatinina,

enzimas. La adición del fluoruro al anticoagulante hace que la glucosa sea más estable en las muestras. Una vez separado el plasma o suero se mantendrá una semana a 4-6 °C por si hubiese que añadir o repetir alguna determinación.

■ CRITERIOS DE EXCLUSIÓN Y RECHAZO DE LAS MUESTRAS

Hay una serie de criterios que nos aconsejan la no realización de los análisis, ya que de otro modo los resultados obtenidos no serían fiables. Los principales criterios de exclusión y rechazo de muestras son:

- Identificación insuficiente de la muestra: debe figurar el nombre del paciente, número de identificación y pruebas solicitadas al laboratorio.
- Insuficiente volumen de muestra recogida.
- Tubo inapropiado de recogida.
- Transporte inapropiado.
- Interferencias.

Interferencias analíticas

Las interferencias son la causa de uno de los errores más frecuentes en los laboratorios clínicos. Se puede definir una interferencia como la desviación en una medida como consecuencia de la presencia de una sustancia diferente del analito que se busca medir y que denominamos interferente.

Con respecto a las interferencias hay que decir que no necesariamente implican el rechazo de la muestra, sino la exclusión del parámetro analítico que resulte afectado, siendo válidos los otros parámetros no afectados por el interferente. Dentro de las interferencias podemos tener dos tipos:

1. Exógenas: debidas a factores externos a los constituyentes de la muestra como algunos fármacos o anticoagulantes. Así el EDTA interfiere con la determinación de calcio, y la heparina litio sobre la de litio.
2. Endógenas: son debidas a constituyentes de la muestra, siendo las típicas la hemólisis (hemoglobina), ictericia (bilirrubina) y lipemia (triglicérido).

Según el sentido de la interferencia se pueden clasificar en:

1. Positivas, cuando hay un aumento aparente de la concentración de analito.
2. Negativas, cuando el error produce una disminución de la concentración de analito.

Por el mecanismo de la interferencia, estas se pueden clasificar en:

1. Físicas: debido a la similitud entre las propiedades físicas del analito y el interferente. Es lo que ocurre en la interferencia por hemólisis sobre la determinación de la concentración de bilirrubina.
2. Químicas: cuando el interferente reacciona inespecíficamente con el constituyente analizado. Es lo que ocurre en la interferencia de las cefalosporinas en la determinación de creatinina mediante la reacción de Jaffé.

La hemólisis es con diferencia la interferencia causante de las mayores desviaciones de los resultados en los parámetros analíticos, estando presente de media en el 8% de las muestras que llegan a los laboratorios clínicos. Se debe a la rotura de los hematíes que hace que sus constituyentes salgan al plasma e interfieran con las determinaciones.

La hemólisis da cuenta del 60% de los rechazos que se producen en las muestras. Visualmente se puede detectar cuando la concentración de hemoglobina es de 0,3 g/l (300 mg/dl).

La hemólisis puede producirse por diversas causas, siendo atribuibles la mayoría de ellos a factores extralaboratorio. Las más frecuentes son:

- Uso de agujas de gran calibre para la venopunción.
- Transferencia desde la jeringa a los tubos de vacío de manera rápida.
- Centrifugación a velocidad excesiva.
- Uso de tubos de vacío en los que el vacío es excesivo.
- Transporte en condiciones no idóneas, incluidos los tubos neumáticos cuando no se calibra bien la velocidad de transporte.

La hemólisis puede interferir de dos formas a los parámetros de laboratorio:

- Por la liberación de los constituyentes del eritrocito, como el potasio, LDH, AST, ALT, folato, que lógicamente afectarán a la determinación de estos parámetros.
- Por liberación de otros componentes del eritrocito que afectan a la determinación de analito (adenilato quinasa, que afecta a la determinación de creatín kinasa).
- Interferencia espectral por la hemoglobina liberada. Esto hace que se eleven los valores de bilirrubina, que absorbe radiación en el espectro óptico en una región similar a la hemoglobina.

Uno de los principales problemas reside en diferenciar la hemólisis *in vitro*, que es la más frecuente (98% de los casos) de la producida *in vivo* (intravascular). Para ello se recurre a pruebas como la haptoglobina, bilirrubina indirecta o la prueba de la antiglobulina de Coombs.

La interferencia por bilirrubina (sueros ictericos) se debe a la fuerte absorbancia de este compuesto a 400-500 nm, lo que da lugar a interferencias positivas o bien a su reactividad química (interferencias negativas), especialmente en reacciones donde está presente el peróxido de hidrógeno como intermediario.

La interferencia por lipemia se debe a la dispersión de la luz debida a las partículas de triglicéridos presentes en el suero (quilomicrones), por exclusión de la fracción acuosa, lo que interfiere en la determinación de iones, o por secuestro de analitos hidrofóbicos (hormonas esteroideas, vitamina D).

Las interferencias que se produzcan dependen del analizador y el método analítico usado.

Muchas compañías han desarrollado los llamados índices séricos, con el fin de evitar la inexactitud de la detección visual de las interferencias. Estos índices se basan en la medida de la absorción de la luz y se correlacionan con las concentraciones de hemoglobina (índice H), bilirrubina (índice I) y triglicéridos (índice L).



Figura 1.4. Gradiente de hemoglobina en un hemolizado usado para un estudio de interferencia por hemólisis. El primer tubo no presenta hemólisis y los demás tienen concentraciones crecientes de hemoglobina.

En cuanto a las interferencias exógenas son principalmente causadas por fármacos o agentes anticoagulantes. Por ejemplo el ácido ascórbico (vitamina C) y el azul de metileno interfieren en los métodos basados en óxido-reducción. En los inmunoensayos son frecuentes las interferencias por fármacos químicamente similares al analito (corticoides en el análisis de cortisol). El EDTA como anticoagulante afecta a la determinación de calcio, magnesio y fosfatasa alcalina, al secuestrar los metales divalentes. La heparina de litio produce interferencia positiva en la determinación de litio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bonini P, Plebani M, Ceriotti F, *et al.*: Errors in laboratory medicine, *Clin Chem* 48:691–698, 2002.
2. Nigam DL: *Clinical laboratory management*, New York, 2000, McGraw-Hill.
3. Young DS. Effects of preanalytical variable on clinical laboratory tests. 3rd edition. Washington, DC: AACC Press, 2007.
4. Haverstick DM, Groszback AR: Specimen collection, processing and other preanalytical variables. In Burtis CA, Bruns DE, editors: *Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics*, ed 7, St. Louis, 2015, Elsevier pp 72–88.
5. Lifshitz MS: Preanalysis. In McPherson RA and Pincus MR, editors: *Clinical diagnosis and management by laboratory methods*, 24th ed, Philadelphia, 2022 pp 22–34.

2

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA APLICADA AL LABORATORIO CLÍNICO

■ INTRODUCCIÓN A LA ESTADÍSTICA

La Estadística es la parte de las Matemáticas que se ocupa de los métodos y procedimientos para recoger, clasificar, resumir, hallar regularidades y analizar los datos así como de realizar inferencias a partir de ellos, con la finalidad de ayudar a la toma de decisiones y formulación de predicciones. En los laboratorios se obtienen gran cantidad de datos a los que debe darse tratamiento estadístico para su correcta utilización.

La Estadística puede considerarse dividida en dos grandes apartados:

- Estadística descriptiva. Realiza el estudio sobre la población completa, o una muestra de ella, limitándose a observar una o varias características y calculando unos parámetros que den información global de toda la población o de la muestra estudiada.
- Estadística inferencial. Realiza el estudio descriptivo sobre un subconjunto de la población llamado muestra y, posteriormente, extiende los resultados obtenidos a dicha población.

Un ejemplo: cuando van a llegar cualquier tipo de elecciones,, es muy frecuente que los medios de comunicación nos adelanten los resultados de encuestas o sondeos en los que se nos indica el resultado final de dichas elecciones con una precisión y con un error determinados (a lo que en medios de comunicación le denominan horquillas). Estos sondeos son realizados por distintas técnicas sobre un grupo (muestra) más o menos numeroso de personas. Es muy difícil, por no decir imposible, entrevistar a todos los españoles con derecho a voto, por tanto, se recurre a entrevistar lo que se conoce como una muestra; cuanto mayor sea esta mayor será la fiabilidad de la encuesta, pero también mayor será el coste del sondeo. El estudio de esta muestra se haría mediante estadística descriptiva, pero lo que nos interesa no es el resultado de este estudio reducido sino el resultado final de las elecciones. El paso de generalizar los resultados de la muestra a toda la población se hace mediante técnicas de Estadística inferencial. La elección de la muestra debe hacerse mediante métodos de muestreo para que el estudio resulte lo más fiable posible.

Conceptos básicos en Estadística

- **Individuo**, cada uno de los elementos, personas u objetos que se van a valorar y que contiene cierta información acerca del fenómeno que se desea estudiar.

- **Población**, que es el conjunto formado por todos los elementos a los que les vamos a hacer el estudio.
- **Muestra**, el subconjunto de la población que elegimos para hacer un estudio más reducido. El número de individuos que forman la muestra se le llama tamaño muestral.
- **Parámetro**, son los valores que resumen una determinada información referente a una población.
- **Estadístico**, son los valores que expresan una determinada información referente a una muestra.

Téngase en cuenta que el término muestra desde el punto de vista estadístico sería diferente al que estamos habituados en el laboratorio para referirnos a un fluido biológico o tejido de un paciente que es objeto de estudio. Por ejemplo en un estudio estadístico de valores de referencia de la vitamina B₁₂, en nuestra área sanitaria la muestra no sería el plasma ni la sangre, sino los individuos que son analizados para extrapolar las conclusiones a toda la población del área.

Cuando se realiza una medida repetidas veces sobre una misma muestra o cuando se mide un parámetro en un grupo de personas, se observa que los resultados se hallan distribuidos alrededor de uno o varios valores, lo que se conoce como distribución. La distribución estadística se representa gráficamente relacionando los datos y sus frecuencias, como veremos más adelante.

■ VARIABLES. TIPOS DE VARIABLES

El método científico está basado en la observación de un hecho determinado, de un evento o de una circunstancia. Los registros de estas observaciones son las variables del estudio. Por tanto una variable es una característica observable que se desea estudiar en una muestra de individuos, pudiendo tomar diferentes valores. Nos podemos encontrar con diferentes tipos de variables:

- **Cualitativas, nominales o categóricas** (atributos): son aquellas que no pueden medirse numéricamente. Los diferentes valores que pueden tomar se conocen como modalidades o categorías. A su vez, pueden ser: (i) binarias o dicotómicas: cuando existen únicamente dos categorías. Es el caso del género o sexo (masculino y femenino, hombre y mujer); o (ii) no dicotómicas: cuando existen más de dos categorías para definir a la variable. Por ejemplo, cuando hablamos de raza, profesión, grupo sanguíneo.
- **Ordinales**: son aquellas variables que van a ser medidas utilizando una escala ordinal. Tenemos como ejemplos las jerarquías de autoridad, la intensidad del dolor o el estadio de un tumor.
- **Cuantitativas**: son aquellas que se pueden medir numéricamente, es decir, que se pueden cuantificar. Toman valores con significado matemático, y se acompañan de unidades de medida. Estas, a su vez, pueden ser: (i) discretas: son aquellas en las cuales entre dos valores consecutivos no se encuentra ningún otro valor (ejemplos: número de hijos, número de camas de un hospital). Estas variables van a tomar valores que podemos suponer que son siempre enteros. O (ii) continuas o proporcionales: son aquellas en las que, teóricamente, entre dos valores consecutivos pueden encontrarse infinitos valores (ejemplos: glucemia, la edad, el peso...).

Una variable predictora o independiente es aquella que medimos para un estudio, mientras que la variable resultado o dependiente es aquella cuyo valor depende de los resultados de la variable predictora.

■ ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA. MEDIDAS DESCRIPTIVAS. GRÁFICOS Y TABLAS

La descripción de las variables suele ser un resumen representativo de estas, lo que es especialmente importante cuando los registros de la observación son muy grandes. La descripción de las variables de un estudio la haremos según el tipo de variable que tratemos. Normalmente las variables cualitativas se describirán calculando la frecuencia con que se presenta cada categoría de la variable. Esta frecuencia puede ser absoluta, relativa o acumulativa; estos datos pueden describirse mediante tablas o gráficos. Mientras que las variables cuantitativas suelen describirse mediante lo que se conoce como medidas de tendencia central (media, mediana) o medidas de dispersión (desviación estándar, varianza, coeficiente de variación), estos datos pueden mostrarse también en tablas o mediante gráficos.

Descripción de variables cuantitativas

Los fenómenos biológicos no suelen ser constantes, por lo que será necesario que junto a una medida que indique el valor alrededor del cual se agrupan los datos, se asocie una medida que haga referencia a la variabilidad que refleje dicha fluctuación. Para caracterizar una muestra con variables cuantitativas, se suelen emplear fundamentalmente dos tipos de medidas (o estadísticos):

- Medidas de centralización (o de tendencia central): caracterizan la agrupación de los datos de la distribución, en torno a un valor: media, mediana, moda.
- Medidas de posición: dan idea del número de observaciones que hay por debajo o por encima de un valor. Están representados por los percentiles, deciles o cuartiles.
- Medidas de dispersión: indican la proximidad de los valores observados entre sí. Representados por la desviación estándar y su cuadrado, la varianza. El coeficiente de variación es un parámetro muy usado en el laboratorio clínico, derivado de la desviación típica y la media.

Medidas de centralización

- **Media aritmética:** la media aritmética es el valor promedio de los datos de una distribución, o lo que es lo mismo, la suma de los valores dividido por el número de observaciones. La media es representativa de la tendencia central de la población solo si la distribución es simétrica.

$$\bar{X} = \frac{\sum Xi}{n}$$

- **Mediana:** la mediana es el valor central de una distribución de valores ordenada y coincide con el percentil 50 de la distribución (véase más adelante).

Como medida descriptiva, tiene la ventaja de no estar afectada por las observaciones extremas, ya que no depende de los valores que toma la variable, sino del orden de las mismas. Por ello es adecuado su uso en distribuciones asimétricas.

- **Moda:** la moda es el valor con una mayor frecuencia en una distribución de datos. En una distribución normal, la media aritmética y la mediana son iguales; la media es un estadístico en el que influyen mucho la homogeneidad de los datos y sobre todo los valores aberrantes. La moda puede no ser única, hablándose de distribuciones bimodales o incluso polimodales.

Media, mediana y moda no tienen por qué coincidir en el mismo valor, ocurriendo esta circunstancia en las distribuciones normales, en las que $\bar{X} = Me = Mo$.

Medidas de posición

Los estadísticos de posición van a ser valores de la variable caracterizados por superar a cierto porcentaje de observaciones en la población (o muestra). Tenemos fundamentalmente a los percentiles como medidas de posición, y asociados a ellos los cuartiles y deciles. Todo depende de en cuántos valores se divida la distribución. Lo más habitual es referirnos a los percentiles, en cuyo caso la distribución se divide en 100 partes, pero también se habla de cuartiles, cuando se divide en cuatro partes, o de deciles si se divide en 10.

Los **percentiles** nos dan una idea del número de observaciones que hay por debajo o por encima del percentil, así el percentil 25 (P_{25}) representa el valor de una distribución por debajo del cual se encuentran 25% de los valores; el percentil 50 representa el valor de datos que divide la distribución en dos partes iguales, es decir que deja por debajo de ese valor el 50% de los de la distribución y 50% por encima. Este valor coincide con la mediana ($P_{50} = Me$). El percentil 90 (P_{90}) sería el valor que tiene por debajo el 90% de los valores de la distribución. El percentil 0 sería el valor mínimo de la distribución mientras que el percentil 100 representaría el valor máximo de la distribución.

Los **cuartiles** dividen la distribución en cuatro partes y se corresponde con los percentiles 25%, 50% y 75%, por tanto $Q_1 = P_{25}$; $Q_2 = P_{50} = Me$ y $Q_3 = P_{75}$. Se conoce como deciles a los valores que dividen la distribución en diez partes, correspondientes a los percentiles 10%, 20%, 30%..., es decir el primer decil se corresponde con el percentil 10 %, el sexto decil con el percentil 60 % y así sucesivamente ($D_1 = P_{10}$; $D_2 = P_{20}$; $D_3 = P_{30}$; $D_4 = P_{40}$; $D_5 = P_{50} = Me$). Se conoce como rango intercuartílico (IQR, número de datos comprendidos entre el segundo y tercer cuartil, o lo que es igual, entre el percentil 25 y el 75, es decir el 50% central).

Aunque con menos frecuencia se habla también de quintiles, que dividen la distribución en 5 partes, lo que corresponde a los percentiles 20%, 40%, 60% y 80%.

Medidas de dispersión

Una distribución no queda totalmente caracterizada con las medidas de tendencia central, ya que serán poco útiles si no se conoce la dispersión entre los datos. Por ejemplo si decimos que el sueldo medio de los españoles es 1.600 € mensuales, el dato no será muy útil si hay muchos que ganen 700 y otros que ganen 3.000. Los estadísticos de dispersión más habituales son la varianza (S^2), la desviación estándar (S o DS) y el coeficiente de variación ($CV\%$).

Una medida grosera de la dispersión de los datos es el **rango**, que es la diferencia entre el valor más alto y el más bajo. Su valor es relativo, ya que no señala nada sobre la forma de la distribución. Además no utiliza todas las observaciones, sino que solo usa dos, y se puede ver muy afectado por resultados muy extremos.

- **Varianza:** es el cociente entre la suma de la diferencia al cuadrado de los valores medidos menos la media, entre el número de datos menos uno.

$$S^2 = \frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1}$$

- **Desviación estándar o desviación típica:** es la raíz cuadrada de la varianza.

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

La ventaja que presenta la desviación típica es que va a presentar las mismas unidades que los datos, mientras que la varianza presentará estas unidades al cuadrado.

- **Coefficiente de variación:** se expresa en porcentaje y representa el tanto por ciento de la desviación estándar respecto a la media. Viene dado por el cociente entre la desviación estándar y la media en términos porcentuales.

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} * 100$$

Se trata por tanto de una medida adimensional (no tiene unidades) que se expresa en porcentaje. Tiene la ventaja de no depender de las unidades de los datos. Es una medida muy usada en el laboratorio clínico para expresar, por ejemplo, la imprecisión de medidas repetidas (variabilidad analítica) o la variabilidad de una magnitud en un mismo individuo o diferentes individuos (variabilidad biológica).

Descripción de variables cualitativas

Las variables cualitativas se suelen agrupar mediante frecuencia, o lo que es lo mismo, número de individuos de una muestra que comparten la misma característica. Esta frecuencia puede ser absoluta, relativa (% de individuos que presentan una característica) o acumulativa. Un ejemplo de tablas de frecuencias sería el siguiente, en el que podemos ver las frecuencias de análisis toxicológicos positivos en los pacientes que llegan al Servicio de Urgencias de nuestro hospital. Entre paréntesis se expresan las frecuencias relativas (%).

Tabla 2.1. Frecuencias absolutas y relativas (entre paréntesis) de los tóxicos hallados en orina de pacientes que acuden a urgencias de un hospital general.

Tóxico	Benzodiacepinas*	THC*	Cocaína*	Opiáceos	MDMA	Anfetamina
Varón	169 (47,1)	152 (42,3)	117 (32,6)	27 (7,5)	18 (5,1)	13 (3,6)
Mujer	183 (72,6)	52 (20,6)	33 (13,)	17 (6,7)	16 (6,4)	13 (5,2)

Tablas y gráficos

Frecuentemente las variables se suelen describir en los trabajos científicos mediante tablas o gráficos. Tanto tablas como gráficos siempre deben ser autoexplicativos, o lo que es lo mismo, que hablan por sí solos. Por tanto las tablas o los gráficos deben contener la mayor información posible de forma clara y resumida.

En el caso de las variables cuantitativas, en las tablas se suelen describir los datos estadísticos de tendencia central y de dispersión. Normalmente se detalla la media y la DS, el IQR, los percentiles 0 (mínimo), 25, 50 (mediana), 75 y 100 (máximo), así como el número de datos, y a veces el número de datos faltante.

Otra forma de describir las variables es mediante gráficos, que como ya hemos comentado deben ser autoexplicativos, por lo que es importante describir los elementos del gráfico con leyendas adecuadas, los títulos de los ejes adecuados y una pequeña explicación si es necesaria a pie de gráfico. Al igual que en el caso de las tablas, las variables cualitativas y cuantitativas requieren un tipo de gráfico característico.

En el caso de variables cualitativas los gráficos más habituales son el gráfico de barras y el de sectores, en el que suelen representarse las frecuencias de las variables cualitativas de modo proporcional a la altura de la barra o el área del sector. Si el número de categorías de una variable es muy grande, no se debe emplear el gráfico de sectores ya que su interpretación se vuelve muy confusa. A continuación, se muestra un gráfico de barras y uno de sectores. El primero es la representación gráfica de la tabla referida anteriormente sobre el tipo de tóxico hallado en orina en los pacientes del Servicio de Urgencias. El diagrama de sectores es un ejemplo de la sintomatología encontrada en los pacientes que acudían al mismo Servicio de Urgencias y presentaban análisis toxicológico positivo a alguna droga.

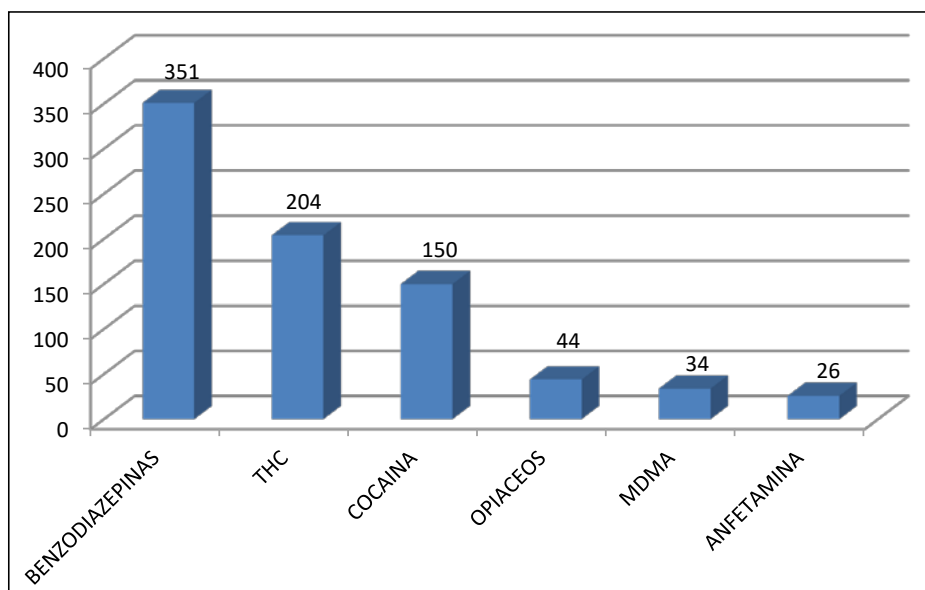


Figura 2.1. Gráfico de barras que representa las frecuencias de las drogas halladas en el análisis toxicológico de orina en las urgencias de un hospital general.

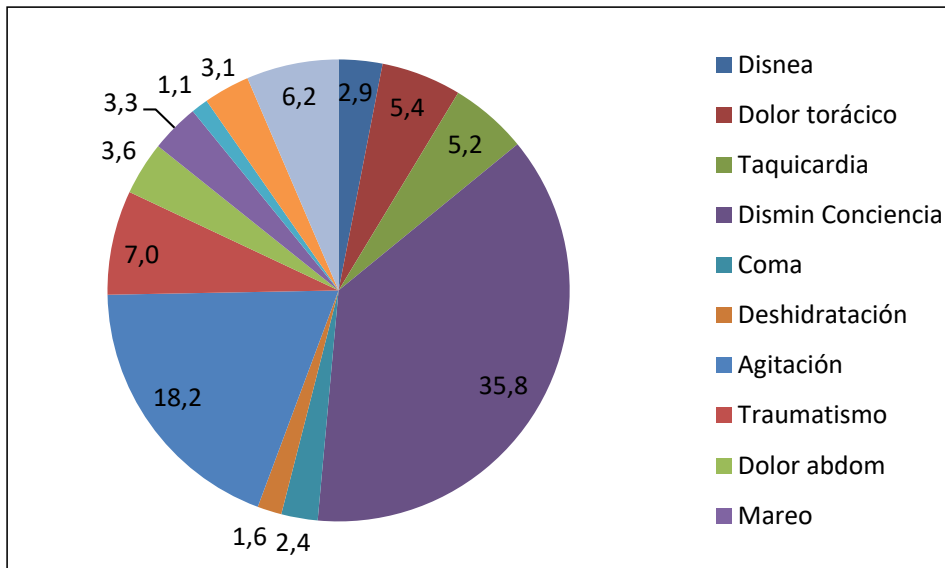


Figura 2.2. Gráfico de sectores para representar las frecuencias de los síntomas que presentan los enfermos con diagnóstico de intoxicación aguda por drogas de abuso en las urgencias de un hospital general.

En el caso de las variables cuantitativas se suelen describir mediante el histograma o los gráficos de cajas.

El histograma es el gráfico estadístico por excelencia. El histograma de un conjunto de datos es un gráfico de barras que representan las frecuencias con que aparecen las mediciones agrupadas en ciertos rangos o intervalos (clases).

Realizar histogramas de esta manera tiene las siguientes ventajas:

1. Es útil para apreciar la forma de la distribución de los datos, si se escoge adecuadamente el número de intervalos y su amplitud.
2. Se puede presentar como un gráfico definitivo en un informe.
3. Se puede utilizar para comparar dos o más muestras o poblaciones.
4. Se puede refinar para crear gráficos más especializados, por ejemplo, la pirámide poblacional.

Y las siguientes desventajas:

1. Las observaciones individuales se pierden.
2. La selección del número de intervalos y su amplitud que adecuadamente representen la distribución puede ser complicada. Un histograma con muy pocas clases agrupa demasiadas observaciones y uno con muchas deja muy pocas en cada clase. Ninguno de los dos extremos es adecuado.

Un ejemplo de histograma sería el siguiente, en el que se recogen distintas concentraciones de proteína C reactiva en nuestros pacientes.

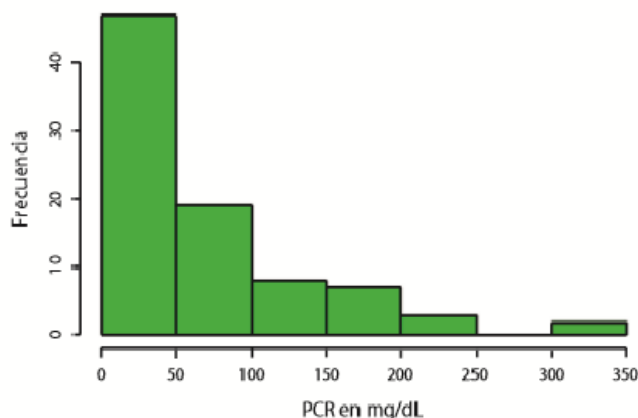


Figura 2.3. Histograma de concentraciones de PCR.

El otro tipo de gráfico que podíamos construir para variables numéricas es el gráfico de cajas. Este ha sido un aporte fundamental realizado por Tukey (1977). Es un gráfico simple, pero poderoso. Se observa de una forma clara la distribución de los datos y sus principales características. Permite comparar diversos conjuntos de datos simultáneamente. Como herramienta visual se puede utilizar para ilustrar los datos, para estudiar simetría, para estudiar las colas y supuestos sobre la distribución; también se puede usar para comparar diferentes poblaciones. El siguiente ejemplo es un gráfico de cajas en el que se estudia la influencia de la variable raza en el peso de una población de embarazadas. Este gráfico contiene un rectángulo, usualmente orientado con el sistema de coordenadas tal que el eje vertical tiene la misma escala del conjunto de datos. La parte superior y la inferior del rectángulo coinciden con el tercer cuartil y el primer cuartil de los datos.

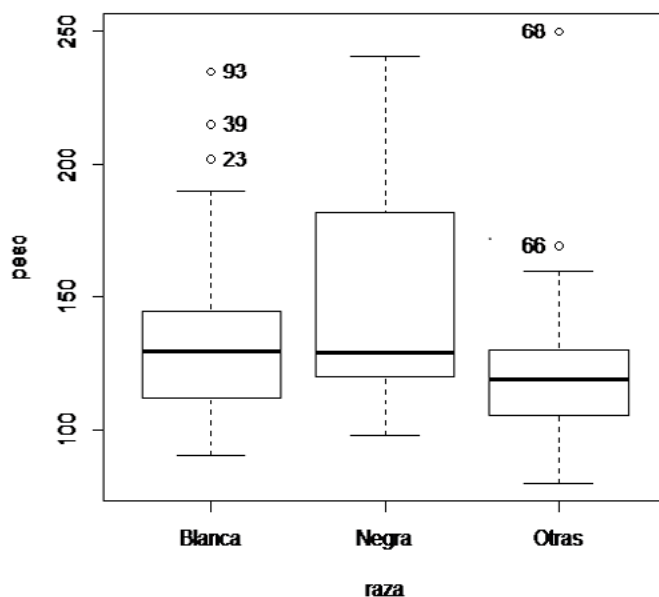


Figura 2.4. Diagrama de cajas en el que se muestra la distribución de los pesos según las razas en una muestra de mujeres embarazadas.

■ PROBABILIDAD. DISTRIBUCIONES DE PROBABILIDAD

Para dar el salto de la estadística descriptiva a la inferencial, es decir para extrapolar las conclusiones de una muestra a su población, hay que apoyarse en el concepto de probabilidad y en la llamada teoría de probabilidades. En su definición más simple la probabilidad viene dada por la regla de Laplace. Así, si un experimento cualquiera puede dar lugar a un número finito de resultados posibles, y no existe ninguna razón que privilegie unos resultados en contra de otros, se calcula la probabilidad de un posible resultado, según la regla de Laplace, como el cociente entre el número de casos favorables para que se produzca el resultado y el de todos los posibles resultados del experimento.

$$p = \frac{h}{N}$$

donde h son los casos favorables y N los casos posibles. En un ejemplo práctico la probabilidad de que al tirar un dado se produzca un determinado resultado (da igual cuál, pues en principio son sucesos equiprobables) sería $1/6$, ya que el dado tiene 6 caras y hay 6 posibles resultados. La probabilidad toma valores comprendidos entre 0 y 1.

Existen varias leyes teóricas que se ajustan a la mayoría de las distribuciones experimentales. Las principales son:

1. **Distribución binomial:** se usa para estudiar sucesos dicotómicos, es decir en los que solo hay dos posibles resultados (éxito, con probabilidad p , y fracaso, con probabilidad $q=1-p$).
2. **Distribución de Poisson:** es un caso particular de distribución binomial aplicable a situaciones en las que la probabilidad de aparición de un suceso es muy pequeña. Por ello se conoce también como ley de la probabilidad de sucesos raros.
3. **Distribución normal o gaussiana:** la distribución normal o de Gauss-Laplace es una distribución teórica en la que media, mediana y moda coinciden. Gráficamente tiene forma de campana, que se conoce como campana de Gauss. Las distribuciones gaussianas se denominan paramétricas. En el intervalo comprendido entre la media y una 1 DS(s) a cada lado de la media se halla el 68,2% de los datos, mientras que en el intervalo $\pm 2s$ tenemos el 95,5% de los datos y dentro de $\pm 3s$ el 99,7% de los datos.

■ INFERENCIA ESTADÍSTICA. CONTRASTE DE HIPÓTESIS

Ya dijimos que es completamente inviable medir una magnitud en toda la población para poder determinar nuestro valor medio poblacional. Una vez que hemos definido cómo describir las muestras, según su dispersión, posicionamiento, etc., nos tendríamos que plantear si las características de esta muestra podrían ser iguales en otra población que sea semejante a nuestra población de estudio. Esto es lo que trata la inferencia estadística. En estadística poblacional los parámetros estadísticos como la media o la desviación estándar en lugar de escribirse por la notación habitual en estadística descriptiva ($\bar{X}$, s) se designan por letras griegas (μ para la media y σ para la desviación estándar).

Se define intervalo de confianza como una pareja de números que acotan un intervalo entre el cual se encuentra el valor verdadero de la variable con una probabilidad de error determinada o, dicho de otra manera, el valor verdadero se encuentra dentro del intervalo de confianza con una probabilidad de error que se debe indicar cuando se describa un intervalo de confianza. Si quisiéramos saber la altura de los individuos de una población, cogeríamos una muestra representativa, realizaríamos una medición de esta y expresariamos nuestros resultados extrapolando los resultados a la población de la siguiente manera: $\mu = 175 \pm 15$ IC 95% sería $\rightarrow (160-190)$.

Contraste de hipótesis

Uno de los principales objetivos del método científico se basa en contrastar diferentes teorías, para ello la herramienta que utilizamos en estadística es el “contraste de hipótesis”.

El primer paso que tenemos que dar es definir dichas hipótesis. Partimos de una hipótesis, la cual la contrastaremos con la contraria. A esta última la llamaremos hipótesis nula (H_0), dicha hipótesis corresponde a una situación estándar o normal, mientras que la otra hipótesis, la hipótesis alternativa (H_1), corresponde a una situación diferente a la estándar, y la manera de relacionarlas es por medio del contraste de hipótesis, que no es más que el conjunto de cálculos estadísticos que haremos para discernir cuál de las dos hipótesis es la cierta, aceptando/rechazando H_0 , y en consecuencia, rechazando/aceptando H_1 , respectivamente.

Si aceptamos H_1 , o lo que es lo mismo, rechazamos H_0 estoy cometiendo un error α , mientras que si rechazamos H_1 y aceptamos H_0 se comete un error tipo β . Por tanto en el contraste de hipótesis se pueden cometer dos tipos de errores:

- Rechazar H_0 cuando es cierta $\rightarrow$ Error tipo I $\rightarrow$ Error α .
- Aceptar H_0 cuando es falsa $\rightarrow$ Error tipo II $\rightarrow$ Error β .

Normalmente en los tests estadísticos los criterios óptimos son que $\alpha=0,05$, es decir un 5% de posibilidades de cometer un error α . Este error es el que se expresa en todos los contrastes junto al resultado. Está α es el que solemos encontrar en las publicaciones como “ p ”, y hay que recordar que es la probabilidad de error que se comete al rechazar la hipótesis nula.

Comparación estadística de medias

En Biomedicina es muy frecuente comparar poblaciones. Por ejemplo en un ensayo clínico damos a un grupo de pacientes un fármaco que se quiere testar y a otro grupo similar una sustancia inactiva (placebo) y comparamos las variables obtenidas en ambos grupos. Otro ejemplo sería investigar la influencia de la hemólisis en la determinación de un test de laboratorio (potasio, glucosa, etc.), para lo cual añadiríamos un hemolizado a una mezcla de sueros y evaluaríamos los resultados de la prueba de laboratorio en el suero hemolizado frente al suero sin hemolizar. En todos estos casos resulta tremendamente útil la comparación estadística de medias.

Siempre que la distribución de los datos sea gaussiana, la prueba que debe usarse para comparar medias es la t de Student, que permite determinar si existen diferencias significativas entre las medias de ambos grupos. El estadístico t se obtiene a partir de la diferencia de las medias de las dos muestras que se quieren comparar mediante la ecuación:

$$t = \frac{\overline{X_1} - \overline{X_2}}{\sqrt{\frac{S_1^2}{N_1} + \frac{S_2^2}{N_2}}}$$

El valor de t calculado se compara con el valor tabulado para la probabilidad deseada. Si el valor de t calculado es mayor que el de la tabla la diferencia entre las dos medias es estadísticamente significativa. En la práctica ya no se recurre a tablas sino que los cálculos se realizan mediante programas estadísticos como el SPSS (*Statistic Package for Social Sciences*).

Cuando abordamos la comparación de dos poblaciones se nos pueden plantear dos situaciones: una comparación de muestras independientes o apareadas. De un modo general, dos muestras se dice que son independientes cuando las observaciones de una de ellas no condicionan para nada las observaciones de las otras, siendo dependientes en caso contrario. Un ejemplo: si queremos estudiar el efecto de un fármaco presuntamente antihipertensivo, lo podríamos realizar tomando 20 individuos hipertensos al azar, aplicando el fármaco a 10 de ellos y dejando sin tratamiento a los otros 10. Trascurrido un tiempo, se toman las presiones sanguíneas de ambos grupos y se contrasta la hipótesis nula $H_0 \equiv m_1 = m_2$, para así evaluar si las medias son iguales o no. Dado que las dos muestras están formadas por individuos distintos sin relación entre sí, se dirá que son independientes. Esta misma experiencia se podría planificar de otra manera, administrando el fármaco a los 20 individuos y anotando su presión sanguínea antes y después de administrar el fármaco. Ahora los datos vienen por parejas (antes, después) y parece lógico que tales datos se encuentren relacionados entre sí (valores altos antes se corresponden con valores altos después). Las muestras son apareadas, pero a partir de ellas se pretende responder a la misma pregunta: es cierta $H_0 \equiv m_1 = m_2$. Cuando las muestras son independientes las varianzas de las dos muestras deben ser iguales para poder aplicar la prueba de la t de Student.

Análisis de la varianza

El estudio de la varianza se realiza mediante el estadístico F , creado en honor de Ronald Fisher. El valor del estadístico F viene dado por el cociente de las varianzas de las dos muestras

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2}$$

El llamado análisis de la varianza (ANOVA) se obtiene mediante paquetes estadísticos como el referido SPSS, entre otros.

Estadística no paramétrica

Es bastante frecuente sobre todo en Biomedicina que la distribución de los datos no sea gaussiana. En estos casos debe recurrirse a la estadística no paramétrica o de distribución libre. Este tipo de pruebas pueden usarse cuando no se conozca la distribución de la población y puede aplicarse tanto a datos cuantitativos como semicuantitativos y categóricos. Es más complicada desde el punto de vista de los cálculos.

La prueba no paramétrica de comparación de medias más sencilla es la de Wilcoxon. Esta prueba se puede usar cuando las variables no son normales permitiendo efectuar el test para $H_0 \equiv m_1 = m_2$ con independencia de que los tamaños muestrales sean grandes o pequeños. En realidad, esta técnica es válida para cualquier variable aleatoria y por ello es un método no paramétrico o libre de distribución. Como además en su realización interviene el número de orden (rango) de los valores ordenados de las muestras se dice que es un método no paramétrico con rango. Consiste en ordenar las diferencias entre las muestras a comparar y calcular la suma de rangos que resulte.

■ REGRESIÓN Y CORRELACIÓN

Cuando se quiere estudiar el grado de asociación entre dos variables cuantitativas se utilizan la regresión y la correlación. El estudio de la relación entre dos o más variables tiene una gran importancia en el Laboratorio Clínico. Además de las aplicaciones en investigación básica, aplicada y clínica, los problemas de calibración, validación y comparación metodológica son corrientes en el día a día.

El primer paso para el estudio de la relación entre las variables consiste en la construcción y observación de un diagrama de dispersión. El problema de la regresión se concreta entonces en ajustar una función a la nube de puntos representada en dicho diagrama. Esta función permitirá entonces obtener, al menos de forma aproximada, una estimación del valor de una de las variables a partir del valor que tome la otra.

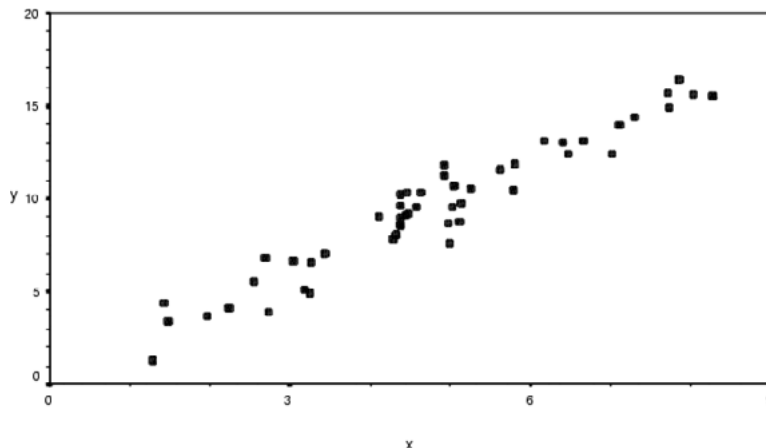


Figura 2.5. Diagrama de dispersión obtenido al representar los valores de dos variables.

Las técnicas de regresión permiten hacer predicciones sobre los valores de cierta variable Y (dependiente), a partir de los de otra X (independiente), entre las que intuimos que existe una relación. La regresión trata de buscar la línea que se ajuste a esa nube de puntos. Se conoce como línea de regresión a la representación gráfica de la función que se ajusta a la nube de puntos del diagrama de dispersión. Un primer problema para el estudio de la regresión es la elección del tipo de línea de regresión. Efectivamente, esta podrá adoptar diferentes formas funcionales, y el tipo de línea se elegirá a partir de la forma de la nube de puntos. Cuando dicha nube se distribuya aproximadamente a lo largo de una línea recta ajustaremos una rec-

ta de regresión. Sería el caso particular de la regresión lineal. El modelo de regresión lineal indica que la relación entre las variables X e Y se ajusta a una línea recta, cuya ecuación sigue una expresión del tipo: $Y=aX+b$, en donde a es la pendiente de la recta y b la intersección u ordenada en el origen. En el siguiente ejemplo mostramos un estudio llevado a cabo en nuestro laboratorio consistente en la comparación de dos métodos analíticos para la medida de la troponina I cardiaca (DIMENSION *vs* STRATUS). El ajuste de la nube de puntos por el método de regresión corresponde a una línea recta. El trazado de la recta corresponde a la línea más probable que pasa por todos los puntos, o aquella en que la distancia de los puntos a la recta es mínima.

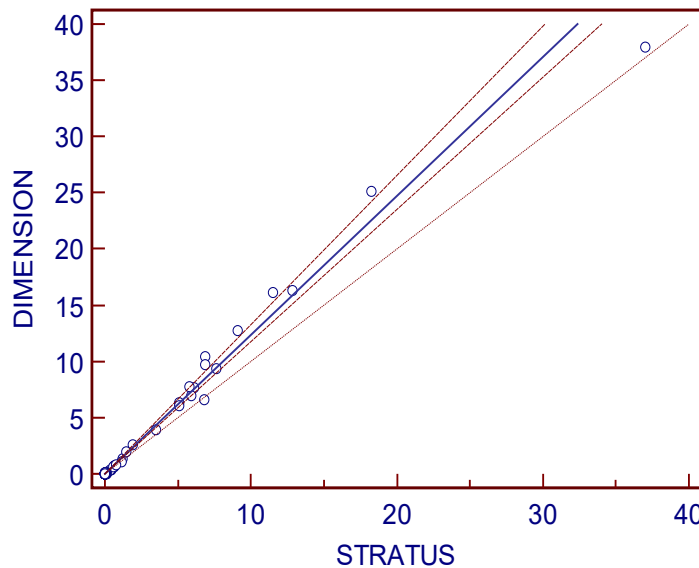


Figura 2.6. Regresión lineal para los valores de concentración de troponina I cardiaca obtenida con dos aparatos de medición.

Nótese que en este caso la ordenada en el origen es cero, porque la recta pasa por el origen de coordenadas.

Un concepto muy relacionado con la regresión es la correlación. Mientras en la regresión la relación entre las variables no es simétrica (hay que designar una variable como independiente X , y otra como dependiente, Y), en la correlación no hay distinción entre las variables, ya que son ambas interdependientes. Es decir, estudiar la correlación significa analizar hasta qué punto es significativa la dependencia de una variable con la otra. De esta manera, por ejemplo, cuando exista una dependencia funcional entre ambas variables diremos que tenemos una correlación perfecta. El caso de correlación que más nos interesa y a su vez el más sencillo es la correlación lineal. Cuando al crecer la variable x , la variable y tiende también a aumentar (pendiente positiva de la recta de regresión), diremos que tenemos una correlación positiva o directa. Cuando ocurra lo contrario, la correlación sería negativa o inversa.

La correlación sirve para:

- a. Explorar la existencia de la relación particular estadísticamente significativa entre las dos variables, es decir, si los cambios en una son consistentes en la otra.

- b. Conocer si la relación es positiva o negativa.
- c. Cuantificar el grado de significación estadística de la relación, es decir, la confianza (estadística) relacionada con dicha relación.
- d. Averiguar qué parte de la variación de una variable es explicada por la otra.

Numéricamente el grado de asociación entre dos variables viene definido por el llamado coeficiente de correlación lineal de Pearson, en honor a Karl Pearson, conocido universalmente como r . Este coeficiente se calcula como sigue:

$$r = \frac{\sum (X - \bar{X})(Y - \bar{Y})}{\sqrt{(\sum (X - \bar{X})^2) (\sum (Y - \bar{Y})^2)}}$$

Este coeficiente es adimensional, es decir no tiene unidades, ya que surge del cociente de dos variables expresadas en las mismas unidades. Toma valores comprendidos entre 1 y -1. El signo del coeficiente dependerá del sentido de la asociación, que se expresa gráficamente con la pendiente de la recta. Si la correlación es negativa r será negativo y si es positiva r será positivo. El valor óptimo en una correlación positiva es $r=1$, mientras que cuando los valores se apartan gradualmente de la unidad, es indicio de que los puntos comienzan a desviarse de la recta ideal. Un coeficiente de correlación pequeño no indica necesariamente que hay poca relación entre las variables, porque puede estar reducido si la relación entre estas variables no es lineal.

Frecuentemente se confunde la correlación entre variables con la concordancia o grado de acuerdo. La concordancia entre variables es de sumo interés en la práctica clínica habitual. La concordancia entre mediciones puede alterarse no solo por la variabilidad de los observadores, sino por la variabilidad del instrumento de medida o por el propio proceso a medir si se realiza en momentos diferentes. Con frecuencia ha sido utilizado el cálculo del coeficiente de correlación de lineal (r) de Pearson como índice de concordancia. Sin embargo, esta no resulta una medida adecuada del grado de acuerdo entre dos mediciones, ya que si dos instrumentos miden sistemáticamente cantidades diferentes uno del otro, la correlación puede ser perfecta ($r=1$), a pesar de que la concordancia sea nula. No se debe olvidar que el coeficiente de correlación de Pearson no proporciona información sobre el acuerdo observado, y solamente mide la asociación lineal entre dos variables. Desde el punto de vista matemático, el índice más apropiado para cuantificar la concordancia entre diferentes mediciones de una variable numérica es el llamado coeficiente de correlación intraclase (CCI). Dicho coeficiente estima el promedio de las correlaciones entre todas las posibles ordenaciones de los pares de observaciones disponibles y, por lo tanto, evita el problema de la dependencia del orden del coeficiente de correlación. Los valores del CCI pueden oscilar entre 0 y 1, de modo que la máxima concordancia posible corresponde a un valor de CCI=1.

Un sencillo procedimiento gráfico para evaluar la concordancia entre dos sistemas de medida es el propuesto por Bland y Altman. Dicho procedimiento consiste en representar gráficamente las diferencias entre dos mediciones frente a su media. El método de Bland-Altman ha tenido gran aceptación y es muy usado cuando se lleva a cabo un estudio comparativo de

una magnitud en dos sistemas de medida. Un aspecto muy importante de la metodología de Bland y Altman es que proporciona además unos límites de concordancia a partir del cálculo del intervalo de confianza para la diferencia de dos mediciones. Como es bien sabido, el intervalo de dos desviaciones estándar alrededor de la media de las diferencias incluye el 95% de las diferencias observadas. Estos valores deben compararse con los límites de concordancia que se hayan establecido previamente al inicio del estudio para concluir si las diferencias observadas son o no clínicamente relevantes.

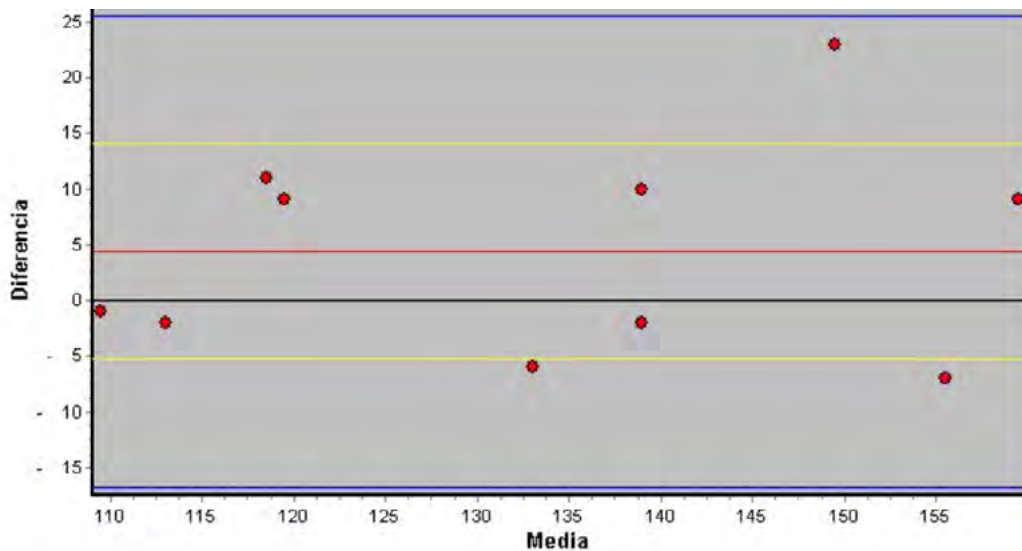


Figura 2.8. Diagrama de Bland-Altman usado en la evaluación de la concordancia entre dos sistemas de medida.

En el caso de que no haya error sistemático los puntos se distribuirán de forma aleatoria a uno y otro lado de la recta correspondiente a la diferencia 0 entre medidas (línea horizontal negra). La línea roja representa la media de las diferencias. Las líneas azules representan los límites de confianza del 95% para esa diferencia (1,96 DS), y se denominan *límites de concordancia*.

■ BIBLIOGRAFÍA

1. Schwartz D. *Métodos estadísticos para médicos y biólogos*. Barcelona, Editorial Herder, 1991.
2. Daniel WW: In *Biostatistics: a foundation for analysis in the health sciences*, ed 7, New York, 1999, John Wiley & Sons.
3. Momeni, A, Pincus MR, Libien J: *In introduction to statistics for pathologists*, New York, 2017, Springer.
4. Linnet K, Boyd JC: Selection and analytical evaluation of methods with statistical techniques. In Burtis CA, Bruns DE, editors: *Tietz Textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*, ed 5, St. Louis, 2012, Elsevier pp 7-47.
5. Cotton. *Estadística en medicina*. Masson-Salvat. Barcelona 1992.

6. Martín Calderón JL, Álvarez Gregori J, Bustos Guadaño F, González Cuevas E, Durán Ducón Laura, Tuesta Reina LR. Epidemiología de las intoxicaciones agudas por drogas de abuso en las urgencias de un hospital del Centro de España basada en datos de análisis toxicológico de orina *Rev. Hosp. Ital. B.Aires.* 2018; 38 (1): 11-18.

3

CALIDAD Y CONTROL DE CALIDAD EN EL LABORATORIO CLÍNICO

■ CALIDAD EN EL LABORATORIO

La preocupación por la calidad del producto comienza con la Revolución Industrial, cuando los artesanos dejan de tener control sobre todos los pasos de la producción, entrando todo proceso de producción a formar parte de una cadena, en la que cada uno es responsable de una pequeña parte de dicho proceso. En este nuevo escenario debe haber un responsable que controle el producto final. En todo proceso productivo, como es un laboratorio de diagnóstico clínico, se debe pretender más, que producir mucho, hacerlo con un alto grado de calidad. En el mundo empresarial hay desde hace décadas introducidos métodos de control de calidad, lo que permite elaborar productos cada vez más competitivos. Estos métodos se intentan extrapolar al campo de la salud, lo cual es una tarea compleja.

El concepto de calidad en los servicios de salud ha sufrido una importante evolución, debido a la irrupción en el mundo sanitario de ideas provenientes del mundo de la empresa. En principio el concepto de calidad puede definirse en función de las características del producto, así como del grado de adecuación entre los objetivos previstos y el resultado alcanzado.

En el ámbito sanitario el producto que se pretende conseguir es la salud. Se trata de un producto difícil de cuantificar, ya que está influenciado por múltiples circunstancias sanitarias y no sanitarias. El concepto de calidad ha ido evolucionando desde la utilización por las industrias del Control de Calidad, que tenía una finalidad únicamente de evaluar el producto terminado. Posteriormente se comenzó a hablar de Garantía de Calidad, que incluye la formación continuada de los trabajadores y la descentralización de las decisiones, lo que implica que se responsabiliza a los trabajadores directamente de la calidad de su parcela de trabajo. Este concepto evoluciona al de Mejora continua de Calidad, que supone una inquietud continua de mejorar, con el fin de satisfacer al cliente. Pretende incorporar la calidad a los procesos desde su diseño, construyendo “procesos de calidad”. De aquí surgió el concepto de Calidad Total como un planteamiento que entiende que la calidad afecta a todos los procesos del sistema y que todo el mundo puede y debe contribuir a ella. La Gestión de Calidad Total es un proceso de gestión integral de todas las actividades de una organización con el objetivo de satisfacer con eficiencia las expectativas del cliente, tanto interno (profesionales sanitarios) como externo (pacientes).

Existe una triple visión de la calidad, según se tenga en cuenta cada uno de los tres vértices que componen el sistema, a saber, profesionales, gestores y usuarios.

- a. **Los profesionales:** su capacitación para desarrollar la asistencia está validada académicamente, por lo que no es una cuestión sujeta a evaluación. Sin embargo estos profesionales tienen que actualizar sus conocimientos periódicamente, por lo que la formación continuada tiene gran importancia. Por otro lado las instalaciones donde se presta la asistencia deben ser adecuadas y la tecnología instrumental deberá ser lo más avanzada posible.
- b. **Los gestores:** desde el punto de vista de la gestión la característica más destacable de la calidad será la eficiencia. Si pueden conseguirse iguales objetivos con menor coste se pueden dedicar más recursos para cubrir otras necesidades asistenciales.
- c. **Los usuarios:** la satisfacción de los usuarios depende, sobre todo, de la eficacia con que se resuelvan sus necesidades, la accesibilidad a los servicios que requiera, la continuidad de la asistencia y la agilidad con que se atiende su proceso.

■ GESTIÓN DE LA CALIDAD. MÉTRICA SIGMA

Según un clásico estudio del Instituto de Medicina (IOM) se estima que en Estados Unidos hay un millón de errores graves al año en asistencia sanitaria, de los cuales 98.000 tienen el resultado de muerte. En lo que se refiere al laboratorio clínico, según las series publicadas estos errores se distribuyen del siguiente modo: 46-68% en la fase preanalítica, 7-13% en fase analítica y 18-47% en fase postanalítica.

Como ya se indicó al principio del capítulo, el concepto de calidad referido a la atención sanitaria ha experimentado una gran transformación, especialmente en la última década, desde el uso de los controles externos de calidad del producto final hasta la visión más moderna de calidad total (*Total Quality Manegment*). En la actualidad han perdido interés las evaluaciones de aspectos parciales o referidas a un solo estamento profesional, para dar paso al desarrollo de sistemas globales de garantía y mejora de la calidad total de la atención sanitaria. El concepto de Calidad Total se refiere a un proceso continuado y dinámico de mejora permanente de la calidad asistencial, tanto en los aspectos clínicos como en los administrativos y de servicios generales. Aún persiste un doble enfoque al plantear el desarrollo de programas de calidad: (1) el modelo tradicional, más arraigado entre los profesionales de la salud, que se concreta en los llamados programas de garantía de calidad; (2) el modelo de gestión extrapolado del mundo de la empresa que da lugar a los denominados programas de mejora continua de la calidad.

Programas de garantía de calidad

Se realizan con el ciclo evaluativo tradicional o ciclo de mejora, según el cual se evalúa una triada de factores que son: los medios que se emplean (estructura), la metodología aplicada (proceso) y el resultado obtenido (resultado). Estos programas también se pueden llevar a cabo mediante el procedimiento de monitorización, algo más complejo, que consiste en medir sistemáticamente determinados aspectos esenciales de la atención a través de los denominados indicadores clínicos. Estos indicadores deben situarse permanentemente por debajo de un nivel umbral establecido previamente, siendo el establecimiento de estos umbrales una de las dificultades del sistema. Cuando en la medición se supere el umbral estaremos

ante un deterioro de la calidad asistencial. En consecuencia habrá que estudiar los motivos y aplicar las medidas correctoras mediante el ciclo evaluativo.

Programas de mejora continua de la calidad o calidad total

Estos programas pretenden desde una visión global construir procesos de calidad con la participación de todos los profesionales. Con la aplicación de estos programas se implica en el proceso a los trabajadores del hospital, en un campo que anteriormente era competencia exclusiva de los gestores. Estos programas tienen una doble característica: (i) implican a todos los trabajadores del centro, sea cual sea su categoría; (ii) abarca todas las áreas y servicios de la institución.

Una vez detectado el proceso a mejorar se constituye un equipo multidisciplinar que, tras estudiar el problema, propondrá posibles soluciones, que habrá que aplicar monitorizando los resultados. La gran novedad que suponen los programas de calidad total es la concepción de la institución sanitaria como un todo, en el que para introducir modificaciones se debe contar con cada una de las partes que la integran.

La gestión de la calidad total (TQM) pone el énfasis en el control estadístico de los procesos para obtener la satisfacción del cliente. Para ello se deben medir indicadores como son: (1) tiempo de respuesta del laboratorio; (2) identificación de especímenes; (3) identificación de pacientes. La TQM tiene cinco estadios denominados por el acrónimo PDCA:

1. Planificar (*plan*).
2. Llevar a cabo el plan (*do*).
3. Control de calidad (*check*).
4. Evaluación del proceso (*check*).
5. Mejora continua de calidad (*assessment*) .

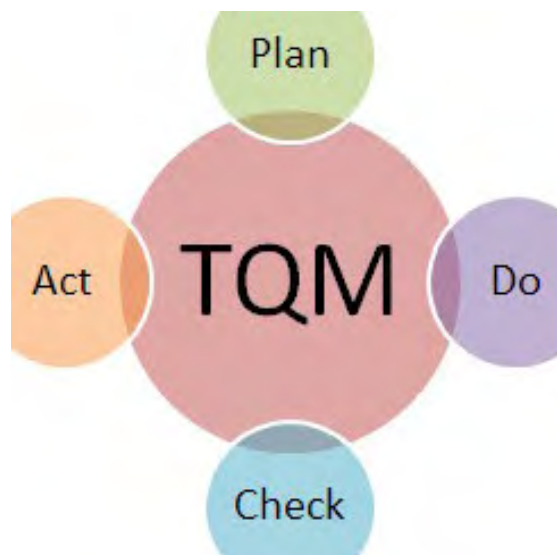


Figura 3.1. Gestión de la calidad total (TQM).

Métrica sigma. Modelo seis sigma

Nos hemos referido antes a los errores producidos en la asistencia sanitaria, muchos de ellos evitables. Un modelo de gestión aparentemente exigente consistiría en permitir el 1% de errores. Este modelo llevado a la práctica en cualquier tipo de procesos implicaría por ejemplo 15 minutos al día sin teléfono o internet, 15 minutos al día sin médicos de urgencia, un corte de luz de más de 1 minuto cada dos horas, que un coche falle en la frenada cada 15 km o 10 errores de resultado en cada 1.000 determinaciones de laboratorio. No parece lógico que nos podamos permitir esto.

Para optimizar los procesos y minimizar la aparición de errores la compañía Motorola introdujo a principios de los años noventa la métrica sigma, que consiste en evaluar la variabilidad del proceso y utilizar un umbral de mínima variabilidad. Esta variabilidad se cuantifica mediante la desviación estándar (σ). En el caso de los datos de laboratorio el nivel σ se cuantifica mediante la siguiente fórmula, siendo ET el error total y Sd la desviación estándar:

$$\sigma = \frac{ET - \text{Sesgo}}{Sd}$$

Por tanto a mayor nivel sigma menor será la desviación típica y la variabilidad del proceso. La métrica sigma se basa en estimar la probabilidad de un defecto mediante el cálculo de errores por millón de oportunidades (DPM). El objetivo de excelencia sería obtener un alto nivel sigma, que se ha cuantificado en 6 σ , que equivaldría a una tasa de errores del 0,0003%, o 3,4 defectos por millón de oportunidades. El modelo 6 σ se fundamenta en la medida estadística de la variabilidad del proceso, el análisis de los defectos y de sus posibles causas y su corrección.

Valor nominal $\pm$ tolerancia
(objetivo $\pm$ LEI, LES)

Nivel σ	DPMO	% Defectos	% Rendimiento
0	933.193	93%	7%
1	690.000	69%	31%
2	308.537	31%	69%
3	66.807	7%	93%
4	6.210	0,14%	99,86%
5	233	0,02%	99,98%
6	3,4	0,0003%	99,9997%
7	0,02	0,000002%	100,0000%

Figura 3.2. Métrica sigma. Defectos y rendimiento obtenido concada nivel sigma.

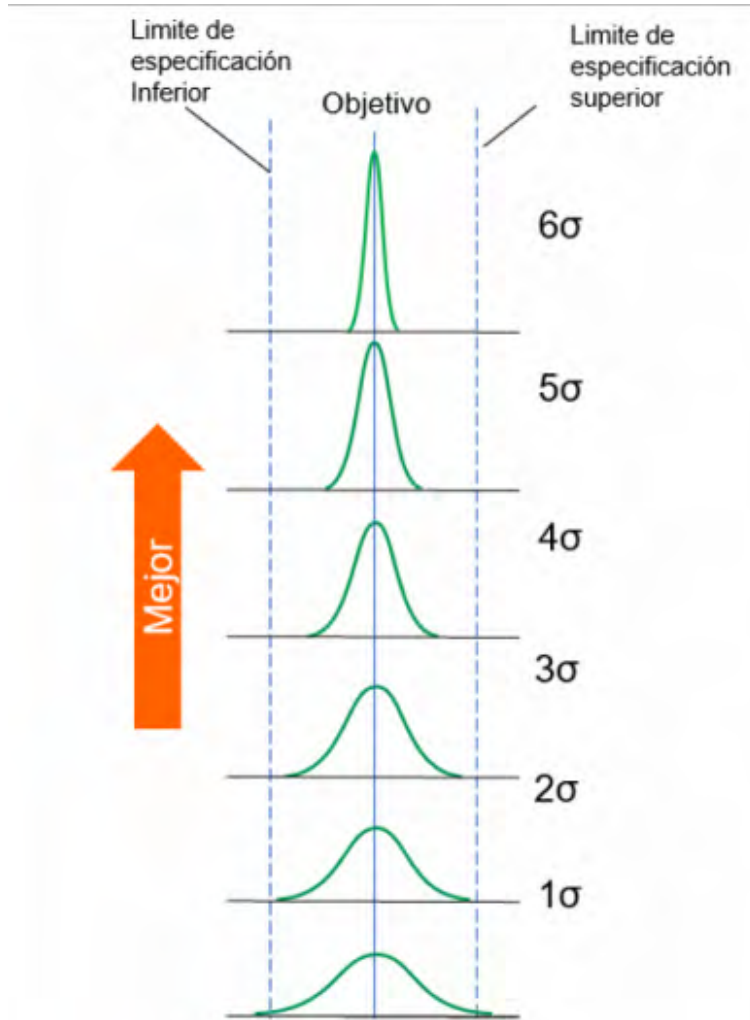


Figura 3.3. Representación gráfica de la métrica sigma. Cuanto mayor es el nivel sigma menor es la variabilidad del proceso.

Para conocer el nivel sigma de un método analítico se debe conocer el error total permisible, el sesgo y el coeficiente de variación. Por ejemplo para un test de colesterol cuyo error total sea del 9%, un sesgo del 1% y un coeficiente de variación del 2% tenemos un nivel de 4 σ . Sin embargo si para ese mismo método el coeficiente de variación y el sesgo suben al 3% se baja a 2 σ . Los métodos con métrica sigma inferior a 3 σ se consideran de baja aceptabilidad.

En la práctica el modelo six sigma es un ideal de alta exigencia casi inalcanzable en la práctica diaria del laboratorio. La mejor tasa de errores registrada para informes de laboratorio es 0,047% (477 DPM), lo que equivale a 4,8 σ .

Otro modelo usado en la mejora continua de la calidad es el método *Lean* (magro), basado en las ideas de Henry Ford y posteriormente adoptado por Toyota en la producción de automóviles. Consiste en ajustar la producción prescindiendo de todas las actividades innecesarias que consumen tiempo y recursos. Con esto se consigue una reducción de cos-

tes y un aumento de productividad. Algunas empresas, incluidos laboratorios clínicos, han utilizado modelos mixtos aunando la metodología *Lean* y la 6 σ , dando lugar al modelo six sigma Lean.

■ CONTROL DE CALIDAD EN EL LABORATORIO CLÍNICO

El laboratorio de diagnóstico clínico tiene que proporcionar los análisis que le son solicitados con el máximo de fiabilidad. Para ello debe disponer de procedimientos que controlen la calidad de sus métodos. El control de calidad son los procedimientos por medio de los cuales se mantiene el funcionamiento de forma adecuada. El control de calidad en el Laboratorio Clínico parte del modelo de Edward Demming, un estadístico americano que propuso que el aumento de la calidad conduce a la mejora de la productividad, ya que elimina la repetición de trabajos por errores del proceso. Según las ideas de Demming la mejora de la productividad conduce a un menor coste al ahorrarse tiempo y materiales al eliminar las repeticiones inútiles de trabajos mal realizados.

En el laboratorio clínico el control de calidad desempeña un papel cada vez más importante. La evaluación de la calidad en el laboratorio es básicamente una evaluación de proceso y/o resultado, estando encaminada fundamentalmente a conseguir unos datos analíticos fiables. Para obtener una buena calidad en nuestros laboratorios son esenciales varios aspectos:

1. Calidad de la instrumentación: es fundamental para obtener unos buenos resultados. Por ello todos los equipos deben encontrarse en perfecto estado de funcionamiento, para lo que debe seguirse el mantenimiento periódico que sea necesario en cada caso.
2. Personal competente y bien entrenado. Para ello el personal debe seguir programas de formación continuada.
3. Se deben controlar tanto las condiciones preanalíticas como las analíticas. En todas las series publicadas la mayoría de los errores que se producen en la actividad del laboratorio son preanalíticos. Las condiciones preanalíticas dependen en muchos casos de factores externos al laboratorio, pero es el laboratorio el que debe controlarlas, para minimizar los factores que conducen a una disminución de la calidad.

Al igual que decíamos al referirnos a la calidad asistencial, el concepto de calidad en el laboratorio clínico ha evolucionado a lo largo del tiempo, estando limitada en un principio solo al control de calidad, proceso mediante el cual muestras con un valor conocido del analito en cuestión son procesadas de modo rutinario y sistemático con el fin de detectar y corregir errores de medida. Con la publicación de la familia de las normas ISO 9000 en el año 1987 por parte de la Organización Internacional de Normalización (ISO), el concepto de calidad se amplió al de aseguramiento de la calidad, que además del control de calidad tiene en cuenta todos los procesos que tienen que ver con la actividad del laboratorio clínico. En la década de los 90 se introduce también en el laboratorio clínico el concepto de gestión de calidad, con la publicación de la Norma ISO 9000 en 1994. Como sabemos la gestión de la calidad comprende todas las actividades que se requieren para dirigir y controlar la calidad de una organización.

Control de calidad en fase preanalítica

Muchas de las variables preanalíticas son difíciles de controlar, ya que radican lejos del control del laboratorio. Los principales aspectos que deben controlarse son:

- Identificación de las muestras: se realiza en la cabecera del paciente, generalmente mediante etiquetas, en las que se escribe el nombre del paciente. Las transcripciones son una fuente de error importante, por lo que el proceso debe ser lo más automatizado posible. Lo ideal es que se adhiera al tubo una de las pegatinas que se generan por ordenador cuando el enfermo entra en el hospital y se registran sus datos en Admisión.
- Obtención de las muestras: es importante que las muestras se recojan en el tubo adecuado y de la manera correcta. Además se debe verificar la identidad del paciente.
- Transporte: es importante que se haga en las condiciones idóneas, especialmente cuando el punto de extracción dista del lugar de análisis. Se debe cuidar la congelación o refrigeración cuando sea necesaria.
- Separación y distribución de las muestras. Este proceso se realiza generalmente en el laboratorio, aunque cuando está muy distante del punto de extracción y la prueba solicitada requiere cuidados especiales se envía para su análisis el suero o plasma conservado como sea preciso. Es un proceso en el que hay que ser especialmente cuidadoso.

Control de calidad de la fase analítica. Variabilidad analítica. Fiabilidad de un método analítico

Si la calidad del laboratorio es óptima los valores que ofrece deben ser los correctos o esperados para una muestra de concentración conocida. Por desgracia esto no siempre es así, debido a la existencia de imprecisiones o errores. Los errores sistemáticos tienen un valor definido o una causa asignable, por lo que pueden ser fácilmente eliminados. Pueden ser constantes o proporcionales. Los errores sistemáticos pueden ser debidos a factores instrumentales (derivados del aparato de medida), errores personales o errores del propio método. Si se representan gráficamente los valores obtenidos en una serie de determinaciones frente a los valores esperados, en el caso ideal obtenemos una recta de pendiente 1, con origen en el origen de coordenadas, pues hay total correspondencia entre los valores registrados y esperados. Cuando el error es constante la recta obtenida es paralela a la ideal, teniendo la misma pendiente, pero cortando a la ordenada en un punto que nos dará el valor del error. El error proporcional producirá un cambio en la pendiente de la recta obtenida. Estas representaciones gráficas se denominan a menudo gráficas operacionales, y las líneas obtenidas, líneas operacionales. Un objetivo fundamental del control de calidad consiste en determinar la línea operacional de un laboratorio en cada método analítico. Muchos procedimientos analíticos están sujetos a desviaciones constantes o proporcionales o bien ambas.

Las pruebas analíticas pueden estar también sometidas a errores de tipo aleatorio, que tienen una causa desconocida. Estos errores se corrigen en gran medida con trabajo cuidadoso y con la automatización del proceso. El conocimiento de los tipos de error y de la variabilidad analítica que afectan un sistema resulta útil para la identificación de sus causas.

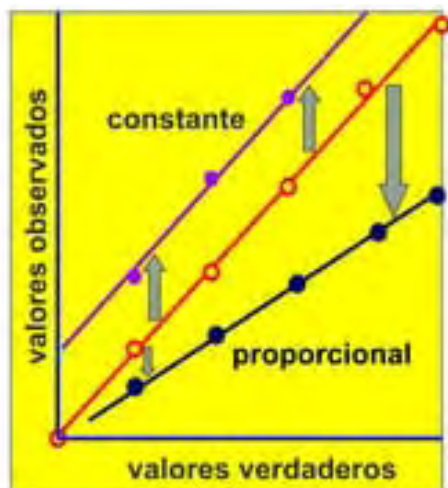


Figura 3.4. Ejemplo de gráfica operacional. Tipos de error sistemático.

Fiabilidad analítica. Características operativas de un método analítico

Dijimos al principio que los resultados emitidos por un laboratorio de diagnóstico clínico han de ser ante todo fiables. El concepto de fiabilidad de un método analítico engloba los conceptos de veracidad, precisión, especificidad, sensibilidad analítica, etc. En la evaluación de todo método analítico nuevo que pretenda introducirse en un laboratorio, se deben validar cada una de las características definidas a continuación conocidas como características operativas.

Precisión analítica

Se refiere a la concordancia de las medidas repetidas sobre la misma muestra. Es un término conceptual que no posee valor numérico, cuantificándose mediante la imprecisión, que es el verdadero concepto cuantitativo y que se define como la desviación estándar o el coeficiente de variación de los resultados de un conjunto de medidas repetidas,

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

$$CV = 100 \bullet \frac{S}{x_m}$$

En los estudios de precisión, que se hacen al evaluar un método analítico, debe hallarse la imprecisión intraensayo (intraserie) y la imprecisión interensayo (interserie):

- La imprecisión intraensayo, también llamada repetibilidad se obtiene analizando muestras (generalmente para tres niveles del analito, bajo, medio y alto) de forma repetida (de 10 a 20 veces), obteniéndose los coeficientes de variación para cada nivel.

Generalmente proporciona buenos resultados, ya que en el análisis de una misma serie no suele haber variaciones en los factores que pueden generar imprecisión (lotes de reactivos, personal, curva de calibración, etc.)

- La imprecisión interensayo, llamada a veces reproducibilidad se obtiene con las mismas muestras (niveles bajo, medio y alto de analito), separándose de 10 a 20 alícuotas de cada nivel, que se congelan y se va descongelando una cada día para proceder a su análisis durante sendos días consecutivos de trabajo. A partir de los resultados se calcula el coeficiente de variación para cada nivel. La imprecisión interensayo proporciona un valor más aproximado a la realidad sobre la imprecisión de un método, ya que incluye los factores que pueden condicionar la variabilidad analítica.

Para evaluar la imprecisión en el laboratorio se usa el protocolo EP05-A2 del CLSI (*Clinical Laboratory Standard*), se realizará el análisis por duplicado en dos series analíticas de cada nivel de control, durante 20 días. Con los datos obtenidos se calcula la imprecisión intraserial e interserial. El método será aceptable si los coeficientes de variación totales son menores o iguales a la mitad del coeficiente de variación biológico intraindividual, o en su defecto, menor o igual al percentil 20 de un programa de garantía de calidad externo.

Veracidad (accuracy)

Es una medida de la concordancia entre el valor medido para una determinación y su valor real. En el pasado este concepto se refería como exactitud, pero hoy en día la exactitud se considera un concepto más amplio, que comprende la precisión y la veracidad. La veracidad debe estimarse comparando el método a evaluar con otro de exactitud conocida, generalmente un método de referencia. Con este fin se utilizan tres muestras de concentración de analito baja, media y alta, realizando la determinación analítica 20 veces para cada uno de los niveles, tanto en el método a evaluar como en el de referencia.

Frecuentemente no es posible disponer de métodos de exactitud conocida o “patrón oro” (*gold standard*), por lo que se suele recurrir a estimar la veracidad mediante la comparación de la media de los valores obtenidos en el ensayo de precisión, usando al menos dos controles con distintos niveles de analito, con un valor convencionalmente verdadero. Como valor verdadero usaremos el asignado por el fabricante al material de referencia y calcularemos la diferencia entre las medias obtenidas para cada nivel y el valor verdadero. El error sistemático se calcula por la diferencia en valor absoluto entre la media de los valores obtenidos en nuestro laboratorio (X_m) y el valor verdadero asignado por el fabricante

$$ES = |X_m - V_a|$$

También se puede calcular como error relativo

$$ES = 100 \cdot (|X_m - V_a|) / V_a$$

Especificidad

La especificidad de un método es su capacidad para medir únicamente el componente o componentes que pretenden medirse. Todos los métodos analíticos poseen algunas interferencias en mayor o menor grado que darán lugar a una pérdida de especificidad. Los interferentes son sustancias que influyen en la determinación analítica de otras sustancias. La interferencia puede ser positiva o negativa, es decir producir valores más altos o más bajos de la sustancia que se analiza. En general se clasifican las interferencias en exógenas (si son inducidas por fármacos o agentes normalmente ausentes de los especímenes biológicos) o endógenas (debidas a hemólisis, lipemia o bilirrubina).

Recuperación

Es un concepto relacionado con el de exactitud. La recuperación demuestra la capacidad de un método analítico para medir la sustancia pura que se pretende analizar, cuando se añade a las muestras en que se analiza de manera rutinaria. En la práctica se obtiene analizando una muestra que contiene la sustancia que se quiere determinar y en paralelo otra muestra igual, pero a la que se ha añadido una cantidad conocida de la sustancia pura de esa misma sustancia. La recuperación se expresa como porcentaje de la cantidad añadida, con respecto a la concentración final medida,

$$\%R = \frac{C_{medida}}{C_{añadida}} \times 100$$

Las pruebas de recuperación son especialmente útiles en los métodos que implican pasos como extracciones con disolventes, que pueden dar lugar a pérdida de la sustancia, como ocurre muchas veces en los métodos cromatográficos.

Rango de linealidad

Es el rango de medida que comprende las concentraciones entre las que existe una relación lineal entre el valor real y el obtenido con el método. Se obtiene analizando una serie de muestras, normalmente patrones de varias concentraciones y representando la respuesta (absorbancia, diferencia de potencial eléctrico) frente a la concentración. Así se observan los valores de concentración para los que se mantiene la relación lineal. El rango de linealidad del método ha de ser lo suficientemente amplio, de modo que incluya la mayoría de los valores que se obtengan en las muestras de rutina que se analicen sin necesidad de hacer diluciones.

Para estudiar la linealidad en el laboratorio se usa Protocolo EP6-A CLSI. Se deben usar dos mezclas (*pools*) de plasmas, uno con elevada concentración de analito y otro con baja concentración del mismo (diluyente) con valor cero o muy bajo del analito. Se realizarán determinaciones por triplicado en cada muestra. Se obtiene la media por cada nivel y se calcula una recta de regresión en la que el intervalo de confianza debe contener el cero para la ordenada en el origen y el 1 para la pendiente.