

Procedimientos sugeridos y ayuda para la Fase 0

Identificación del Laboratorio (en el Web)

Una vez recibido el aviso de alta del laboratorio en el estudio, al ir a la página:

<http://web-sanac.org/sanac1/estabilidad/default.asp>

Y Seleccionar el ítem del menú desplegable:
Metodología // FASE 0 // Datos Fase 0

Os aparecerá la página de login (específico para el estudio). Poner el Login y contraseña proporcionados por el coordinador. Si queréis que se recuerde vuestro login y no os lo pida más, seleccionar “Login automático hasta que haga logout”. Clicar en el botón login y os aparecerán, en el menú de la parte izquierda, las tablas a implementar.

En el centro os aparecerá el registro de vuestro laboratorio. Clicar en  y aparecerá el formulario de identificación.

En él podéis cambiar vuestra contraseña e implementar el resto de campos. Los campos con * son obligatorios.

Identificación de las Determinaciones (en el Web)

La identificación de las determinaciones para el estudio se realiza en la página Web:

<http://web-sanac.org/sanac1/estabilidad/default.asp>

Se debe seleccionar el ítem del menú desplegable:
Metodología // FASE 0 // Datos Fase 0

Seleccionando la tabla “Determinaciones” aparece un listado con las determinaciones propuestas.

Tener en cuenta que las determinaciones están en DOS PAGINAS. Para acceder al resto de determinaciones podeis pasar de página, o bien cambiar el número de registros por página. Esto se puede hacer en los controles que están encima de la tabla:

Página   1   of 2 Registros Por Página

Registros 1 a 20 of 24

Clicando en el icono  se puede implementar el código SEQC. Clicando en  aparece un formulario de la determinación donde se pueden implementar todos los datos.

Para seleccionar el código SEQC, clicar en el vínculo “Buscar código SEQC” y se abrirá una ventana emergente donde seleccionarlo por aparato y metodología.

Obtención de los coeficientes de variación

Dependiendo de los procedimientos de control de cada laboratorio, los coeficientes pueden obtenerse bien del programa de control de calidad, de las anotaciones del mismo o bien de los registros de control de las máquinas. Los coeficientes deben ser de los meses inmediatamente anteriores al estudio.

Los valores de los CV aconsejados por el estudio deben ser menores que la mitad del coeficiente de variación intraindividual. Estos coeficientes se presentan en la tabla "Unidades" de la sección "Metodología // FASE 0 // Datos". El cumplir estos coeficientes es aconsejable, pero NO imprescindible para el estudio.

Equipos para mantenimiento de las temperaturas (Metodología a seguir):

- a) **Temperatura ambiente (T_{+20}):** Para conservar las muestras a temperatura ambiente, lo adecuado es usar un baño maría termostatzado, ajustado a 20°C. Si no se dispone de un baño, o se usa el único que hay, sólo para las muestras a 37°C, es suficiente el sumergir los tubos, perfectamente cerrados, en un volumen de agua del grifo, no inferior a 1 litro. El agua tiene una gran inercia térmica, y mantendrá la temperatura bastante constante a lo largo del estudio, independientemente de las oscilaciones de la temperatura del aire de la habitación. El nivel del agua del recipiente debe **cubrir** el nivel alcanzado por el suero dentro del tubo. Es, lógicamente, imprescindible medir esa temperatura y registrarla.
- b) **Nevera (T_{+4}):** se usará una nevera tipo doméstico o una cámara frigorífica, en la que se alcance una temperatura cercana a los 4°C, y no superior a los 10°C. También es conveniente, para evitar oscilaciones de temperatura a lo largo del estudio, el sumergir los tubos en un recipiente con agua que haya permanecido al menos 24 horas antes en la nevera, para que alcance la temperatura adecuada. No se debe olvidar que la temperatura del aire en una nevera o en una cámara frigorífica varía de forma notable según la zona en se mida (las zonas bajas suelen ser más frías), y de la frecuencia con que se abre la puerta. Por eso se recomienda sumergir los tubos en un recipiente con agua, y medir la temperatura de ésta.
- c) **Treinta y siete grados C (T_{+37}):** Lo ideal es usar un baño maría con agitación del agua, y con mecanismo de regulación termostatzado. No debe olvidarse que el agua se evapora a lo largo de los días, y se debe vigilar su nivel.

Si no se dispone de un baño maría termostatzado, una solución factible es la de mantener las alícuotas en una estufa de cultivos como las que se usan en Microbiología, termostatzada a 37°C. En este caso, si el contenedor no esta cerrado y se esperan evaporaciones, puede ser buena idea meter también, junto con el contenedor, una botella de agua de grifo para reponer las evaporaciones con agua ya atemperada.

Será necesario asegurarse en cualquiera en los dos casos, que los tubos permanecen herméticamente cerrados durante el periodo de estudio, para evitar evaporaciones del suero.

- d) **Congelador:** se usará un congelador de calidad (los pequeños congeladores que se encuentran en la parte superior de las neveras tipo doméstico de una sola puerta, difícilmente alcanzan los veinte grados bajo cero recomendados para este estudio). Para homogeneizar la temperatura (y facilitar su medición), se pueden sumergir los tubos en algún recipiente que contenga alcohol previamente enfriado. Será necesario asegurarse que ni el alcohol ni la congelación alteran el marcado o etiquetado de los tubos, y que luego sea imposible identificarlos.

Se debe elegir el lugar y los contenedores donde poner las muestras. Hay que tener en cuenta para ello, que los contenedores ocuparan un espacio significativo, estarán llenos de agua (o alcohol en caso del congelador), permanecerán un tiempo relativamente largo (2 - 3 semanas) y se deberá acceder a ellos al menos una vez al día. También hay que contar con la longitud de la sonda termométrica, ya que debe medirse la temperatura con la puerta del dispositivo cerrada.

En caso de utilizar un recipiente de agua sin termostatar para la temperatura ambiente es necesario ponerlo en un lugar donde nunca le dé el sol directamente y esté alejado de lugares de paso frecuente de personas y de corrientes de aire. Un lugar que podría ser ideal sería el almacén de consumibles a temperatura ambiente.

En todos los casos, antes de empezar a registrar las temperaturas, es conveniente que los contenedores con líquido permanezcan uno o dos días en los aparatos, para que alcancen su temperatura de estabilidad.

Identificación de dispositivos (en el Web).

La identificación de los aparatos de temperatura es opcional. En ningún caso es necesario identificar la marca y modelo de cada aparato.

Quizás pudiera ser interesante, de manera secundaria y quizás para posteriores estudios, comparar las temperaturas obtenidas utilizando nevera o cámara fría, baño a temperatura ambiente termostatizado o no, y baño termostatizado a 37°C frente a estufa de cultivos.

Medición de las temperaturas reales alcanzadas (Metodología a seguir):

Es necesario medir las temperaturas a las que realmente se han sometido las muestras, pues el cálculo posterior estará basado en las diferencias de la **velocidad de degradación** de la magnitud bioquímica a estudiar, que está directamente relacionada con la temperatura (stress térmico).

No es necesario que los dispositivos de temperatura tengan una temperatura exacta de -20, 4, 20°C, pudiendo diferir en ± 3 o 5 °C. Lo importante es que esta temperatura SEA SIEMPRE CONSTANTE.

En el caso del dispositivo de 37°C, tampoco es importante que se alcancen temperaturas MENORES, siempre que permanezcan constantes a lo largo del estudio. Sin embargo, temperaturas mayores podrían producir desnaturalización de proteínas, lo que invalidaría el estudio.

Por ello habrá que determinar la temperatura a que se ha sometido cada uno de los grupos de muestras. Se suministrará por parte de SANAC a cada Laboratorio participante un termómetro digital con sonda metálica, de amplio rango de medida (al menos entre -40°C y +100°C).

Los laboratorios que disponen de Dimension, cuentan ya con un termómetro digital con sonda metálica de MEJOR calidad que el proporcionado por SANAC, ya que viene suministrado por la casa como accesorio.

En el caso de que se use un recipiente con agua o con alcohol, donde se han puesto los tubos, bastará *sumergir la sonda metálica durante unos 15 minutos, cada mañana, con la puerta de la nevera o el congelador cerradas, y registrar la temperatura para ese sistema y ese día.* Si los tubos no están sumergidos, será necesario colocar al principio del estudio un recipiente adicional con agua (o alcohol en el congelador), para introducir la sonda y medir la temperatura cada día, ya que la sonda no debe tocar las paredes de la nevera o congelador, ni medir la temperatura del aire.

En una primera Fase 0, se deberá medir la constancia de las temperaturas alcanzadas a lo largo de varios días (por ejemplo, una semana). Puede ser incluso conveniente medir las temperaturas varias veces a lo largo del día, ya que el uso frecuente de las neveras o congeladores por las mañanas puede hacer que varíen.

El registro de temperaturas diario puede hacerse en una hoja Excel y hay que traspararlo al formulario Web "Prueba temp." de la sección Metodología // FASE 0 // Datos.

En este formulario los días del estudio están indicados como 1, 3, etc... y se permite el registro de DOS temperaturas diarias, diferenciándolas por el campo "Hora". Se ha puesto así para que los laboratorios que sospechen que sus dispositivos de temperatura puedan variar por influencia en la temperatura del entorno o por su uso, elijan un momento de medida donde la temperatura probablemente sea máxima y otro donde sea mínima.

Por ejemplo, en la cámara fría, el momento de temperatura mínima podría ser a primera hora, antes que el personal comience sus tareas, mientras que el momento de temperatura máxima podría ser justo antes de la hora de desayuno del personal, ya que suelen realizarlo después de hacer los mantenimientos diarios, en los que hay entradas y salidas frecuentes de personal en la cámara en busca de reactivos para reponer las máquinas.

Por supuesto, la elección de los momentos máximo/mínimos depende del aparato y del uso que se dé en cada laboratorio, por lo que la elección de estos momentos, si se considera necesario, se deja a elección de los laboratorios.

Hay que tener en cuenta, que las muestras estarán sumergidas en líquido (agua o alcohol) que tienen gran inercia térmica, por lo que es probable que la temperatura de dicho líquido no sufra grandes variaciones. Por ello, al registrar las temperaturas, siempre se hará sumergiendo la sonda en ese líquido.

Registrar las temperaturas en la página Web

Para registrar las temperaturas en la página Web, se debe ir a la dirección:

<http://web-sanac.org/sanac1/estabilidad/default.asp>

Se debe seleccionar el ítem del menú desplegable:

Metodología // FASE 0 // Datos Fase 0

Y elegir, en el menú de la izquierda, la tabla "Prueba temp." (Nota: esta tabla solo aparece a los usuarios registrados en el estudio, poniendo el login).

En la tabla aparece como primera columna el código del laboratorio, en la segunda columna el día del estudio (1, 2, etc...) en la tercera la hora de toma de temperatura (formato hh:mm) y en las siguientes las columnas de los diferentes dispositivos de temperatura.

Las horas a las que se hagan las temperaturas son libres para cada laboratorio y también, dentro de cada laboratorio, pueden ser diferentes día a día, ya que lo que se trata es de constatar que no existen grandes diferencias a lo largo de un periodo de tiempo similar al del estudio.

Para registrar los datos de cada día, clicar en el icono  y aparecerán las casillas. Una vez terminado, clicar en el icono 

Resultados

Si las temperaturas medidas a lo largo del estudio son bastante homogéneas dentro de cada nivel, se calculará la media de cada nivel, y se anotará en una hoja Excel.

Si son claramente diferentes de un día a otro, y se descarta un error en la medida, será necesario revisar los sistemas de mantenimiento de temperatura (resistencias, termostatos, repetida apertura de puertas, nivel de gas refrigerante, manipulación errónea, etc.) y repetir el estudio cuando las variables estén controladas.

Una vez asegurada la constancia de las temperaturas, se comienza la Fase 1 con las muestras de suero. Pero será necesario seguir registrando las temperaturas (aunque ahora puede ser suficiente una sola lectura al día), para comprobar que no aparece un cambio inesperado.