

Notes d'història de les ciències de laboratori clínic

Publicació commemorativa
de l'acte acadèmic organitzat amb motiu de la jubilació del

Dr. Xavier Fuentes Arderiu

Hospital Universitari de Bellvitge

8 d'octubre de 2012

ÍNDEX

	pàgina
Introducció Dolors Dot Bach	3
Història de la indústria del diagnòstic <i>in vitro</i> Francisco Javier Barreiro González	6
Història del control intern de la qualitat en les ciències de laboratori clínic Francesca Canalias Reverter	12
Història de la metrologia en les ciències de laboratori clínic F. Javier Gella Tomás	17
Història de la teoria del valor semiològic en les ciències de laboratori clínic Jaume Miró Balagué	24
Històries dels valors de referència Josep Maria Queraltó Compañó	29
Epíleg Dolors Dot Bach	42

Introducció

a càrrec de

Dolors Dot Bach

Hospital Universitari de Bellvitge

Bon dia i benvinguts. Els agraeixo la seva presència en aquest acte acadèmic organitzat amb motiu de la jubilació del Dr. Xavier Fuentes.

En primer lloc, vull donar les gràcies al Dr. Fuentes per la confiança que ha dipositat en mi per tal que actüi com a moderadora d'aquest acte; m'honora en gran manera.

L'acte constarà de 5 ponències que versaran sobre la història de diferents aspectes en l'àmbit de les Ciències de Laboratori Clínic i en els quals el Dr. Fuentes ha desenvolupat les seves activitats professionals, científiques i docents al llarg de la seva trajectòria.

En Xavier Fuentes Arderiu és doctor en Farmàcia, especialista en Bioquímica Clínica i en Anàlisis Clíniques, acadèmic numerari de la Reial Acadèmia de Doctors de Catalunya des del 1996 i acadèmic corresponent de l'Acadèmia de Farmàcia de la Regió Murciana des de l'any 2006. És també professor visitant de la Federació Internacional de Química Clínica a diferents països de l'Amèrica llatina.

Va començar les seves activitats professionals en l'àmbit de les ciències de laboratori clínic com a analista clínic l'any 1975 a l'ambulatori de Ripoll, més tard, al Servei d'Anàlisis Clíniques de l'ambulatori Manso de Barcelona, a l'Hospital de Sant Llorens-ambulatori de Viladecans i posteriorment a l'Hospital de la Creu Roja de l'Hospitalet.

Des de l'any 1981 la seva activitat professional està vinculada a l'Hospital de Bellvitge, primer com a adjunt i posteriorment com a cap de secció del Servei de Bioquímica Clínica i responsable de la secció de Control de la Qualitat. Ha estat coordinador qualitològic del Servei de Bioquímica Clínica i des del 2005 coordinador del Laboratori Clínic. Des de l'any 2010 és director del programa de Diagnòstic *in vitro* de l'Hospital Universitari de Bellvitge.

Va ser tutor docent de l'especialitat de Bioquímica Clínica de la Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge durant 16 anys, professor associat mèdic del Departament de Bioquímica i Biologia Molecular de la Facultat de Farmàcia de la Universitat de Barcelona.

Durant aquests anys ha dirigit 10 tesis doctorals.

Ha organitzat, dirigit i impartit cursos de postgrau, ha participat com organitzador, moderador, ponent o conferenciat en un gran nombre de reunions científiques, i congressos nacionals i internacionals.

És autor de més de 300 articles, la majoria d'ells, en revistes de reconegut prestigi internacional i factor d'impacte. Ha publicat diversos llibres i n'ha dirigit l'edició d'altres.

Durant aquesta trajectòria ha rebut diverses beques per a la recerca com a investigador principal i ha obtingut també dos premis a la recerca.

És avaluador d'articles científics de revistes nacionals i internacionals i ha format part com a director o membre del comitè de redacció de diverses revistes.

Ha estat president o membre de nombrosos comitès tècnics i comissions de diferents organitzacions internacionals, com ara: la Unió Internacional de Química Pura i Aplicada (IUPAC), la Federació Internacional de Química Clínica (IFCC), l'Organització Internacional de Normalització (ISO), Associació Espanyola de Normalització i Certificació (AENOR), i del Comitè Europeu de Normalització (CEN), així com també de societats científiques d'àmbit estatal com la Societat Espanyola de Bioquímica Clínica i Patologia Molecular.

Va ser vicepresident i fundador de l'Associació Catalana de Ciències de Laboratori Clínic i durant 8 anys va ser-ne el president.

Va ser coordinador del Comitè d'Homologació de Dades i Procediments del Programa Especial de Laboratoris Clínics del Departament de Sanitat i Seguretat Social de la Generalitat de Catalunya membre del Consell Assessor sobre els Laboratoris Clínics del Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya.

Les seves aportacions a les Ciències de Laboratori Clínic inclouen un gran nombre de temes entre els que voldria assenyalar-ne alguns d'ells, com ara:

- Les corresponents al camp de la terminologia, nomenclatura i unitats de les propietats biològiques i en el terreny de l'estandardització als Laboratoris Clínics i de l'estadística aplicada a les Ciències de Laboratori Clínic.
- Cal destacar la seva contribució amb els aspectes relacionats amb la qualitat metrological en totes les seves vessants, des del control de la qualitat, l'estudi de la incertesa de mesura i l'establiment de requisits metrologicals.
- Destaca també la seva contribució en el camp de la interpretació dels resultats, lligat a l'estudi de valors de referència així com també al de la significació del canvi.
- En cap cas podem deixar d'esmentar la seva dedicació en el terreny de la certificació i l'acreditació dels laboratoris clínics segons la norma ISO 15189, i, que amb el seu afany i dedicació, l'esforç i la implicació dels professionals, l'impuls de la direcció del laboratori i

el suport per part de la direcció del centre, va convertir l'any 2008, el Laboratori Clínic de Bellvitge, en laboratori pioner a Catalunya en la implantació d'aquesta norma i en el laboratori clínic, que té el conjunt més gran, de tot l'Estat espanyol, d'anàlisis acreditades.

Amb aquest resum es poden fer càrrec que la trajectòria professional del Dr. Xavier Fuentes, desenvolupada al llarg de la seva carrera, està inclosa ja en les pàgines de la història "recent" de les Ciències de Laboratori Clínic i és en aquest sentit, que tindran lloc les següents intervencions d'aquest acte.

En aquesta publicació s'ha fet un recull de les conferències que van tenir lloc durant l'acte i que gràcies a la gentilesa dels autors s'han reproduït en aquesta publicació seguint l'estricta ordre en que es van pronunciar.

Història de la indústria del diagnòstic *in vitro*

Conferència a càrrec de

Francisco Javier Barreiro González

Roche Diagnostics

El meu agraïment al doctor Xavier Fuentes per haver-me invitat a participar en aquest esdeveniment amb motiu de la seva jubilació. És per a mi un honor.

Mirant la història i l'evolució dels laboratoris clínics, trobem dues importants coincidències amb el doctor Fuentes: que el van iniciar farmacèutics i que el gran avanç es va produir per les millores en els sistemes de qualitat, aspecte en el que ell és un referent internacional.

La indústria del diagnòstic *in vitro*, com qualsevol altre sector, procura cobrir les necessitats que el mercat necessita i les empreses que volen liderar el sector, inverteixen en la recerca, el desenvolupament i la innovació (R+D+I) i col·laboren amb els seus clients per innovar i generar valor afegit. Amb el doctor Fuentes hem tingut l'oportunitat de poder col·laborar durant molts anys amb la finalitat de millorar els productes amb avaluacions pre-màrqueting. També li he consultat un gran nombre d'aspectes de diferents projectes i dels que ell sempre ha donat la seva honesta opinió. El meu agraïment per tants anys de col·laboració.

Els Laboratoris clínics van començar fa més de 200 anys. En l'any 1803, a Halle (Alemanya), Johann Christian Reil va suggerir que en els hospitals s'havien instal·lar petits laboratoris, on "l'apotecari" analitzés les excrecions, l'orina i les "descàrregues" dels malalts, per tal d'investigar la naturalesa de les malalties. Va sorgir així a la *Schola Clinica de Halle* un "departament d'investigació químic-clínica", per al qual es va nomenar com a director un farmacèutic. Les proves es realitzaven a la capçalera del malalt, eren senzilles i necessitaven pocs instruments. N'hi ha prou citar com a exemple, la prova de Bright per determinar l'albumina en orina que només requeria emprar una cullera i una espelma. Posteriorment, es van estendre pels hospitals d'altres països amb la finalitat d'ajudar al diagnòstic dels malalts i on el farmacèutic va adquirir un paper protagonista.

Durant les primeres dècades del segle XX es va estendre l'ús de la xeringa hipodèrmica per obtenir espècimens de sang. La generalització de la punció venosa va facilitar i estimular els estudis químics en sang humana. Es van descriure mètodes colorimètrics sensibles per a l'anàlisi quantitativa de moltes magnituds biològiques utilitzant volums petits de sang i orina. El suec Ivar Bang i els nord-americans Otto Folin i D. Van Slyke van exercir un paper destacat en el desenvolupament d'aquests mètodes.

A partir de 1940, va sorgir un important avanç dels laboratoris analítico-clínic, a causa d'un conjunt de factors:

- Es van començar a descriure els primers mètodes d'anàlisi clíniques que es van publicar en revistes especialitzades de recent aparició, entre les quals destacava la *Clinical Chemistry*.
- Es van fundar les primeres associacions de professionals experts en el laboratori clínic, van difondre mètodes d'anàlisi i els errors inherents a aquests, i establint els errors màxims admissibles per tal de controlar la qualitat (avaluació externa de la qualitat i gràfiques de control).
- Es van produir grans avenços en les tècniques instrumentals que van trobar aviat aplicació en els laboratoris clínics: mètodes de separació com la cromatografia, la ultracentrifugació i la electroforesi, i mètodes òptics com la fotometria de flama, la refractometria i la fluorimetria, així com el desenvolupament de l'enzimologia.

Una altra innovació introduïda a mitjan segle XX, va ser la de la metodologia coneguda com "kit" en la que tots els reactius necessaris per a una determinació d'una magnitud biològica es comercialitzen empaquetats, llestos per al seu ús i amb instruccions del procediment a seguir. D'altra banda, el 1957, Leonard Skeggs va publicar a la revista *American Journal of Clinical Pathology* un treball titulat "*Un mètode automatitzat d'anàlisi colorimètrica*" que va representar el començament de l'era de l'automatització. Skeggs descrivia, en aquest treball, l'acoblament de diversos mòduls amb tasques específiques, el que va constituir un sistema analític de flux continu. Un any després es comercialitzava el primer analitzador automàtic monocanal; el preu va ser llavors de 3500 dòlars. La seva difusió, però, no va ser important fins a la dècada dels anys 80 en què l'automatització amb multicanals selectius va suposar un canvi profund dels laboratoris clínics.

El concepte *TLA* (*Total Laboratory Automation*) és de 1981 i parteix de la idea d'automatització total que el professor Sasaki va definir al principi com *TLS* (*Total Laboratory System o Systemization*). *TLA* és l'automatització a gran escala dels processos productius del laboratori. Des del moment en què una mostra, identificada per codi de barres, es situa en una cinta transportadora, aquesta pot ser automàticament centrifugada, destapada, aliquidada, distribuïda als analitzadors i dirigida cap a processos postanalítics (repeticions, proves addicionals, emmagatzematge i recuperació).

Actualment ens trobem a l'època de la proteòmica, genòmica, matrius (*arrays*), seqüenciació massiva, etc., que es convertiran, en els propers anys, en una rutina. Properament també el laboratori tindrà una important participació en la *medicina personalitzada*. Cal avançar en models organitzatius que permetin la sostenibilitat del sistema, com ara la creació de xarxes

integrades de laboratoris interconnectant laboratoris centrals amb laboratoris satèl·lit i les anàlisis al costat del pacient; en el desenvolupament dels sistemes d'informació: sistemes experts proactius en les fases preanalítica i postanalítica, així com en la gestió de la demanda mitjançant l'ús d'algorismes i guies clíniques. Això permetrà als laboratoris atendre el procés assistencial amb la màxima eficàcia que requereixen els pacients, la màxima efectivitat que requereixen els clínics i la màxima eficiència que requereixen els gestors. Al nostre país, els laboratoris clínics van sorgir en l'àmbit de diverses càtedres, departaments, instituts o escoles de les Facultats de Farmàcia i després també de Medicina. Més tard s'hi van incorporar els biòlegs i els químics (FIR, MIR, BIR, QIR) Fent un paral·lelisme amb el desenvolupament professional del doctor Fuentes, es podria resumir l'evolució dels laboratoris en 4 etapes caracteritzades pel desenvolupament tecnològic.

La primera etapa comprèn la dècada dels setanta i es caracteritza per la creació, dins de les institucions sanitàries, de laboratoris amb independència física i organitzativa, i dotats d'espai, personal i material propis. Sorgeix així la necessitat de més professionals creant les primeres places d'aquesta especialitat a l'Insalud i comencen a obrir-se nombrosos laboratoris privats, dirigits, majoritàriament, per llicenciats en Farmàcia. Es converteix aquesta especialitat en una de les sortides professionals més atractives.

La segona etapa del desenvolupament del laboratori clínic que comprèn la dècada dels vuitanta, es caracteritza per l'aparició i posterior consolidació dels sistemes automatitzats i segueix marcant un avanç important de les tècniques instrumentals. S'utilitzen ja instruments automatitzats per gairebé totes les mesures, capaços d'analitzar diverses magnituds biològiques simultàniament en una mostra de sang, sèrum, plasma o d'orina i atendre l'increment de la demanda de sol·licituds. El material de vidre gairebé no té utilitat en el laboratori clínic, sempre s'utilitzen pipetes automàtiques i flascons dosificadors. El creixement de la indústria química, porta a moltes de les indústries dedicades al diagnòstic *in vitro* a produir equips de reactius per a un gran nombre de procediments. Es van estandarditzar així, d'alguna manera, els mètodes i es va aconseguir una certa comparabilitat entre els laboratoris.

L'automatització del laboratori, amb la combinació de la productivitat i la qualitat, va passar a ser una eina indispensable. A finals dels anys 70, un laboratori clínic d'un hospital generava aproximadament 10.000 resultats per tècnic i any. 25 anys després, al començament del segle XXI, el mateix laboratori genera 100.000 resultats per tècnic i any, amb un nombre de mètodes superior.

És també en aquesta dècada dels vuitanta on s'inicia la informatització dels laboratoris. Al principi amb la intenció de lliurar els resultats mitjançant un informe imprès i poder portar una estadística de l'activitat. Posteriorment, es van desenvolupar mòduls de qualitat, de microbiologia, estadístics, de validació, petició electrònica, connectivitat amb els sistemes informàtics de gestió hospitalaris, etc., fins esdevenir un element crític per a la funcionalitat del laboratori clínic.

La tercera etapa del desenvolupament dels laboratoris clínics, que comprèn la dècada dels noranta, ve marcada per l'aparició dels autoanalitzadors d'immunoanàlisi, l'inici de la robòtica, la introducció de tècniques de biologia molecular en la rutina del laboratori clínic i els sistemes d'informació del laboratori. S'impulsen també les anàlisis prop del pacient tant a la capçalera del pacient (HosPOC en quiròfans i UVI), com d'autocontrol de les seves malalties cròniques com ara el tractament amb anticoagulants oral (TAO) o la diabetis, que s'han convertit ja en imprescindibles. El catàleg de prestacions d'un laboratori clínic s'ha incrementat molt a causa de la investigació sobre la patogènesi fonamental de les malalties i al desenvolupament de les pròpies metodologies. La innovació en aquest camp es pot observar, per exemple, en el premi Nobel de 1984 concedit a Koehler i Milstein per la seva obtenció dels anticossos monoclonals i en el concedit el 1993 a Karry Mullis per la introducció de les tècniques d'amplificació d'àcids nucleics. Sense aquestes investigacions, molts immunoanàlisi i mètodes de genètica molecular haguessin estat impossibles de desenvolupar.

En aquesta època també es comença a no només garantir la qualitat analítica sinó també a gestionar l'economia del laboratori per tal d'establir estratègies de diagnòstic amb adequada relació cost / eficàcia.

La quarta etapa del desenvolupament dels laboratoris està començant amb els desafiaments imposats al laboratori clínic en els primers anys del segle XXI, amb la implantació de laboratoris totalment automatitzats en els que es connecten diversos analitzadors a un sistema de transport de mostres de diferents especialitats amb excepció de la microbiologia i parasitologia. Aquests laboratoris centralitzats, al seu torn, es troben en connexió amb unitats en què es mesuren magnituds biològiques d'una manera descentralitzada; a la capçalera del pacient, tant en unitats d'hospitalització, unitats de crítics o en quiròfans.

Comença l'etapa de l'automatització de l'àrea de microbiologia i l'expansió de les tècniques de biologia molecular, de l'anàlisi d'imatge, del desenvolupament de biomarcadors i del desenvolupament dels sistemes d'informació amb estacions clíniques que permeten un millor seguiment del procés del pacient i en les que intervé la informació del laboratori (en el 70% dels processos).

Hi ha una gran preocupació sobre la seguretat del pacient, la dels professionals i l'impacte mediambiental.

Aquesta etapa, es pot considerar també l'etapa de la gestió. Davant la constant pressió per la moderació dels costos, la creixent demanda assistencial i l'exigència de qualitat en les institucions sanitàries apareixen nous models d'organització. Es tracta de realitzar una gestió dels recursos (tècnics, econòmics i humans) i una gestió de la qualitat, entesa no només amb criteris qualitatològics, sinó per l'adequació de l'ús i la satisfacció de l'usuari. Es promouen estudis sobre la variabilitat en la pràctica clínica i de cost-efectivitat. Encara que avui en dia, i esperem que només sigui conjuntural degut a la crisi econòmica que patim, la contenció dels costos s'està convertint en un objectiu més important que la relació de cost-efectivitat.

En resum, en el procés assistencial els laboratoris d'anàlisis clíniques han hagut d'evolucionar notablement en els últims anys per atendre, amb uns recursos limitats i de vegades decreixents, la demanda assistencial de la seva àrea de salut.

Es pot dir que el laboratori eficient és el que subministra resultats amb un grau satisfactori de fiabilitat dins del termini adequat de lliurament i el menor cost possible. Els canvis organitzatius per poder incrementar la seva eficiència s'han anat produint gradualment en funció de criteris tecnològics (millora en la qualitat dels reactius, automatització dels processos analítics i preanalítics, perfeccionament dels sistemes d'informació), i els laboratoris més evolucionats i que estan més preparats per abordar el competitiu futur són aquells que han sabut aprofitar millor els avantatges que l'evolució tecnològica els aporta a les seves organitzacions.

No s'ha d'oblidar que la missió del laboratori és la gestió de la informació útil, precisa i a temps per a servir de suport a la clínica en la prevenció i el seguiment terapèutic de les malalties.

Sorgeix la reflexió que l'important *no és saber per saber en si*, sinó *saber per saber fer*. Per això quan alguns diuen que som a l'era del coneixement (especialment per la necessitat d'aprendre ràpid davant el vertiginós avanç tecnològic), altres contesten que on som és a l'era de l'acció: *en el saber fer*. També es predica i s'accepta comunament que *en el fer* és tan important el talent com el tarannà, els canvis organitzatius requereixen de la participació de la majoria del personal i la seva capacitat d'adaptació a la innovació. És en el com es condueix l'equip a l'adaptació al canvi on hi ha la clau, ja que és propi de les organitzacions i institucions obertes a l'aprenentatge que es fomenti el treball en equip i que es vulguin liderar els canvis.

I és l'estímul de l'aprenentatge, l'exigència en la formació, el treball en equip i el rigor en la metrologia, la qualitat i en la normalització de l'informe del laboratori clínic, on el doctor Xavier Fuentes és un referent.

Història del control intern de la qualitat en les ciències de laboratori clínic

Conferència a càrrec de

Francesca Canalias Reverter

Laboratori de Referència d'Enzimologia Clínica

Departament de Bioquímica i Biologia Molecular

Universitat Autònoma de Barcelona

El concepte de qualitat ha variat al llarg dels anys en el laboratori clínic. En un principi, cap el 1950, només es parlava de “control de la qualitat”, entenent-se com a tal únicament el control intern de la qualitat. El 1994 a les normes ISO ja sorgia el concepte d’“assegurament de la qualitat”, i posteriorment cap el 2000 es va passar a “sistema de gestió de la qualitat”, per continuar amb la “gestió de la qualitat total”. El concepte de qualitat s’aplica a les tres fases típiques en que se sol dividir l’activitat del laboratori clínic: preanalítica, analítica i postanalítica, però la meua exposició se centra únicament a parlar de la història del Control Intern de la Qualitat (CIQ) de la fase analítica i de les propietats quantitatives.

El CIQ ha estat definit en diferents guies i normes, però una de les millors definicions és la que consta a la guia de l’Associació Catalana de Ciències de Laboratori Clínic (ACCLC)¹ que el defineix com: “Conjunt de procediments usats per detectar errors atribuïbles a una fallida d’un sistema analític, a condicions ambientals adverses o a variacions en la manera de fer de l’operador, així com per al seguiment de la veracitat i la precisió dels sistemes de mesura al llarg del temps”.

Es va començar a parlar de CIQ al laboratori clínic l’any 1950 quan S. Levey i E.R. Jennings van adaptar, per el laboratori clínic, el sistema proposat per W.A. Shewhart el 1939 per el control dels processos industrials de productes manufacturats. L’evolució va seguir a la dècada dels 70 quan T.P. Whitehead i J.O. Westgard van publicar les primeres estratègies per al control intern de la qualitat, seguides, a la dècada dels 80, pel conjunt de regles específiques proposades per J.O. Westgard i conegudes per tothom com a regles o algorismes de Westgard. Finalment, a la dècada dels 90 es van començar a introduir millores en les estratègies de control com les gràfiques OPSpecs o el sistema Sis SigmaTM.

¹ ACCLC. Guia per al control intern de la qualitat de la mesura de magnituds biològiques utilitzant materials de control. *In vitro veritas* 2006;7:<<http://www.acclc.cat/invitroveritas/vol7/art88.pdf>>

El principi fonamental del CIQ és la mesura d'una magnitud biològica en un material de control estable i la comparació del resultat obtingut amb el resultat conegut i l'interval de valors acceptables del material. Com a resultat d'aquesta comparació es poden donar dues situacions: (1) que el resultat obtingut es trobi dins de l'interval de valors, aleshores el laboratori pot assegurar que el procediment funciona adequadament i pot validar la sèrie analítica i els resultats dels pacients, o (2) que el resultat obtingut es trobi fora de l'interval de valors, alertant-se al laboratori sobre la possibilitat de problemes en el sistema analític i fent que no es pugui validar la sèrie analítica.

Per implantar el CIQ al laboratori clínic es requereix d'una planificació que consta de les següents etapes:

- Etapa 1. Definir els requisits de qualitat analítica en forma d'error màxim permisible (EMP).
- Etapa 2. Estimar la imprecisió i la veracitat del procediment de mesura.
- Etapa 3. Escollir el material de control i les regles de control, i elaborar els gràfics de control.
- Etapa 4. Establir la probabilitat de detecció d'errors i la probabilitat de fals rebuig.

A partir d'aquí, se selecciona l'estratègia de control que permeti complir amb els requisits establerts i s'implanta un procediment per el tractament d'alarmes i rebuigs (no conformitats).

En relació a l'Etapa 3, els materials de control han de complir una sèrie de característiques: han de ser estables, commutables i homogenis, això s'aconsegueix segons la presentació, líquids o liofilitzats, i l'origen de la matriu, biològica o definida. Els valors de les magnituds que tenen assignats han de ser propers als valors de decisió clínica (fisiològic i patològic), i si són materials que tenen com a finalitat estimar la veracitat, el valor assignat ha de ser traçable i acompanyat de la incertesa. La magnitud en el material de control es mesura n vegades, en n dies o sèries; s'estima la distribució de valors del material de control; es calcula la mitjana i la desviació estàndard; s'estableixen les regles de control (habitualment amb un resultat de control per sèrie són la 1_{2s} , que correspon al 95,5 % dels valors, o la 1_{3s} , que correspon al 99,7 % dels valors); i s'elaboren les gràfiques de control de Levey-Jennings, identificant-se els valors que estan fora dels intervals (Figura 1).

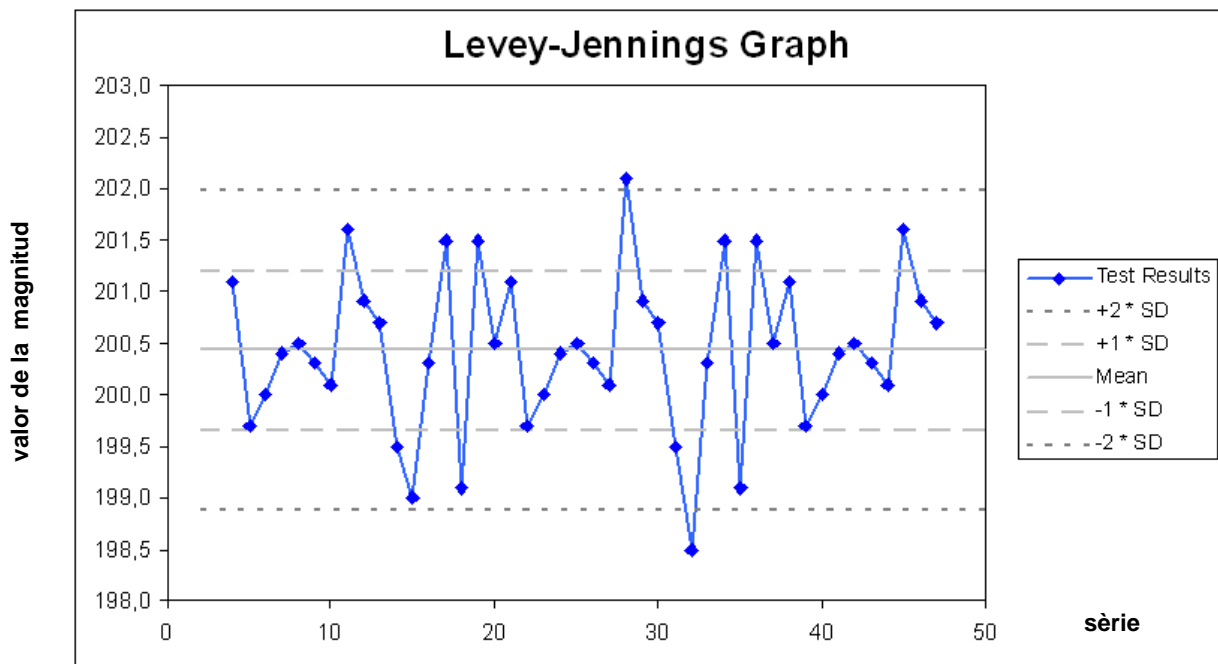


Figura 1.- Gràfica de Levey-Jennings

Per tal de millorar la probabilitat de detectar els errors sense augmentar la probabilitat de fals rebuig es van generar les conegudes com a *regles de Westgard*, que consisteixen en utilitzar la regla 1_{2s} com a regla d'alarma, no de rebuig de resultats, i aplicar seqüencialment la resta de regles, 1_{3s} , 2_{2s} , R_{4s} , 4_{1s} i 10_{xm} .

A les dècades dels 80 i 90 van aparèixer noves eines estadístiques per a la selecció de regles, moltes d'elles provenien de la indústria. Les més utilitzades són el *CUSUM* (1980), que suma les desviacions acumulades de cada resultat respecte al valor convencional assignat al material de control, i *la mitjana mòbil amb ponderació exponencial* (1997) (Figura 2), que es basa en l'estudi de sèries temporals de dades i utilitza les mitjanes (o les variàncies) dels valors de control. Les dues són molt útils per a la detecció de l'error sistemàtic. Una altra eina molt útil, en aquest cas per establir les probabilitats de detecció d'errors i de fals rebuig (falses alarmes), que es va començar a utilitzar a partir dels anys 70, van ser les *corbes de potència* (Figura 3).

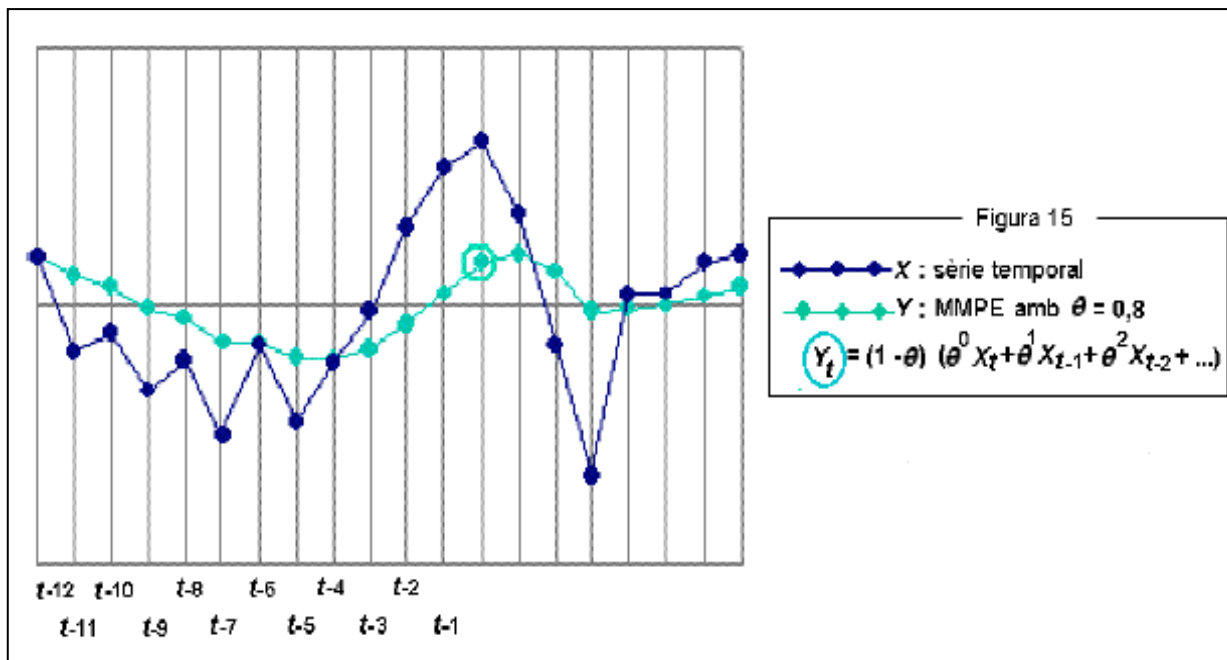


Figura 2.- Mitjana mòbil amb ponderació exponencial

Les noves estratègies de control es poden resumir en dues: les *gràfiques OPSpecs* (especificacions d'operació) (Figura 4) que permeten establir una relació entre els requisits de qualitat (EMP), la precisió i la veracitat del procediment i la probabilitat de detecció d'errors, i l'*estratègia Sis SigmaTM*, que prové del camp del màrqueting i pretén millorar la rendibilitat dels processos industrials. Sis SigmaTM és un conjunt d'activitats, basades en principis estadístics, destinades a disminuir la variabilitat dels productes i els processos per aconseguir una disminució dels seus defectes (no conformitats). És una eina de millora de la qualitat i pot aplicar-se al disseny dels procediments de control intern de la qualitat.

Per últim, no cal oblidar la relació entre la norma d'acreditació dels laboratoris clínics, la ISO 15189, i el CIQ. En alguns dels apartats de la norma es diu específicament que:

4.2.2 El sistema de gestió qualitològica ha d'incloure, entre d'altres, el control intern de la qualitat [...]

5.6.1 El laboratori ha de dissenyar sistemes de control intern de la qualitat que verifiquin que s'assoleix la qualitat prevista dels resultats [...]

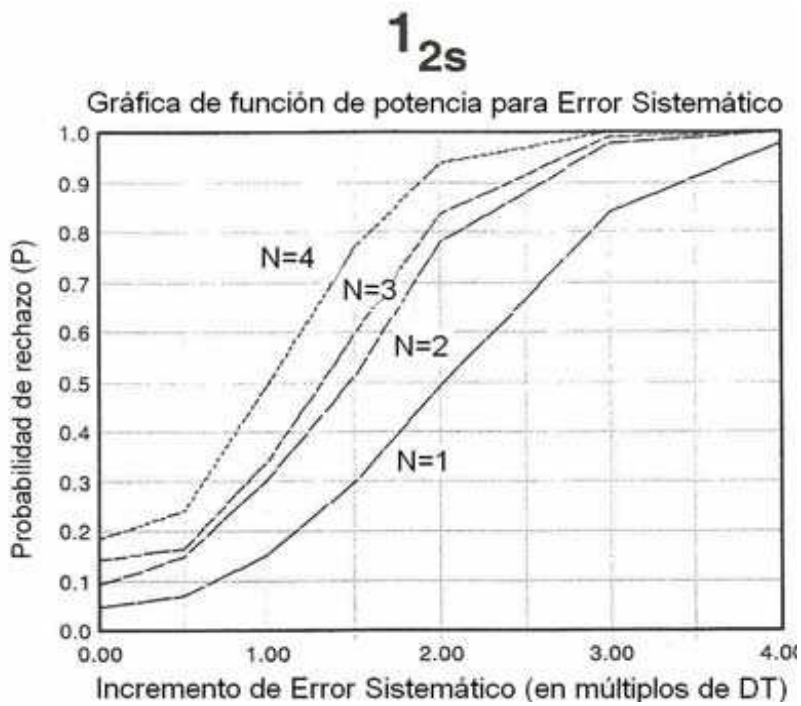


Figura 3.- Corbes de potència.

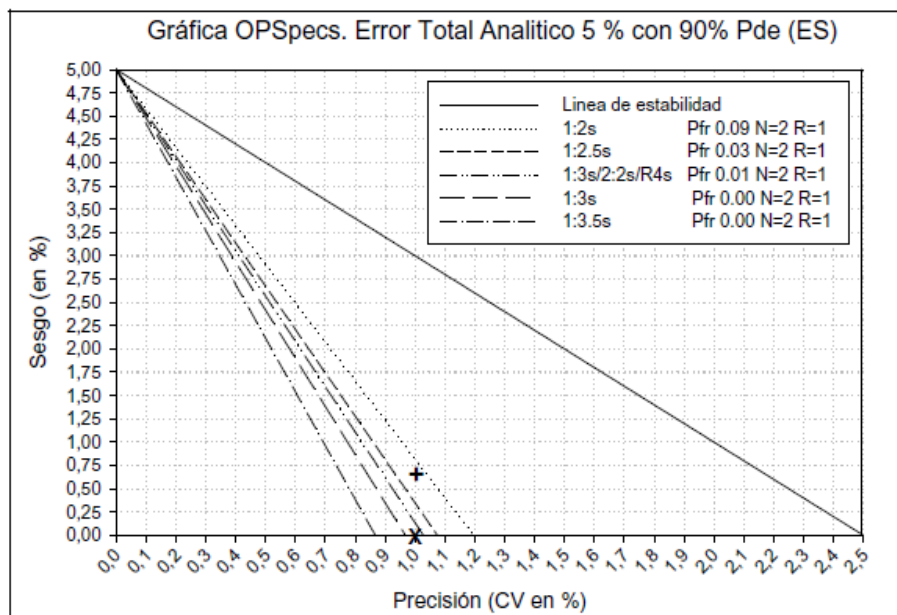


Figura 4.- Gràfica OPSpecs.

Història de la metrologia en les ciències de laboratori clínic

Conferència a càrrec de

F. Javier Gella Tomás

Biosystems, S.A.

Comissió de Metrologia

Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular

Orígens de la metrologia moderna

Els sistemes primitius de pesos i mesures estaven basats en la morfologia humana (unitats antropomòrfiques): colze, iarda (o cúbit), peu, etc. Per tant, no eren unitats "fixes", variaven segons la ubicació, ocupació o l'objecte que es mesurava.

L'inici de la metrologia moderna segurament es pot situar cap el 1795, quan l'Assemblea Nacional francesa adopta el *sistema mètric decimal*, basat en dues unitats fonamentals: el *metre* i el *kilogram*. A més a més, els múltiples i submúltiples de cada unitat estan relacionats entre si per múltiples o submúltiples de 10.

La Revolució francesa de 1789, amb la seva ideologia oficial de la raó pura, va estimular el concepte que les unitats de mesura han d'estar basades en les constants de la natura (en principi, immutables en el temps). Així, el *metre* es va definir com la deumilionèsima part del quadrant del meridià terrestre. A aquest efecte, es va mesurar la longitud del meridià que va des de la torre de la fortalesa de Montjuïc (Barcelona) fins a Dunkerque.

Durant les següents dècades, molts països van adoptar oficialment el *sistema mètric decimal*, entre ells Espanya el 1849.

La revolució industrial i la creixent globalització del comerç durant el segle XIX van impulsar la necessitat de disposar d'unitats de mesura fiables i d'acceptació a tot el món. Això va portar a un tractat diplomàtic internacional l'any 1875 anomenat "Convenció del Metre" pel qual es creava l'Oficina Internacional de Pesos i Mesures (Bureau International des Poids et Mesures BIPM). Aquest tractat el van signar 17 estats, encara que posteriorment s'hi van unir altres, fins a 51 estats membres actuals. El BIPM té com a funcions la definició d'unitats i assegurar, a tot el món, la uniformitat dels mesuraments i la seva traçabilitat.

El 1960, durant els 11^a Conferència General de Pesos i Mesures, es va establir el *sistema internacional d'unitats* (SI), hereu del *sistema mètric decimal*, i que està basat en 6 unitats fonamentals: *metre, kilogram, segon, kelvin, candela i ampere*; posteriorment (1971) s'hi va afegir el *mol*.

Les unitats SI constitueixen un referent internacional de les indicacions d'instruments de mesura. Això permet aconseguir l'equivalència de les mesures realitzades en llocs distants o en diferents moments.

Entre els anys 2006 i 2009 el SI es va unificar amb la norma ISO 31 per tal d'instaurar el *sistema internacional de magnituds* (ISO/IEC 80000, amb les sigles ISQ).

A part de la creació de la BIMP i del desenvolupament del SI, l'aparició durant el segle XX dels organismes de normalització, va contribuir decisivament a l'establiment de la metrologia moderna.

Els Estats Units d'Amèrica van ser pioners en aquest camp quan van crear l'Oficina Nacional de Normalització (National Bureau of Standards, NBS) l'any 1901, substituint la seva Oficina de Pesos i mesures. El 1988, van canviar-li el nom essent a partir de llavors Institut Nacional de Patrons i Tecnologia (National Institute of Standards and Technology, NIST). La missió d'aquesta organització és promoure la innovació i la competitivitat industrial mitjançant els avenços de la ciència de les mesures, la normalització i la tecnologia amb la finalitat de millorar la seguretat econòmica i la qualitat de vida.

El 1947, delegats de 25 països, van crear l'Organització Internacional de Normalització (ISO) per tal de facilitar la coordinació internacional i unificar les normes industrials.

El 1975 es van iniciar oficialment les activitats del Comitè Europeu de Normalització (CEN), que és l'única organització europea que té la capacitat per establir normes per a la Unió Europea.

A l'Estat espanyol, el 1986 es va crear l'Associació Espanyola de Normalització i Certificació (AENOR), membre oficial del CEN i de l'ISO, i el 1989 el Centre Espanyol de Metrologia.

L'organització internacional de metrologia

La metrologia té una organització internacional creada l'any 1875 en l'anomenada "Convenció del Metre", en què es va crear el BIPM. L'Assemblea General de Pesos i Mesures (CGPM) reuneix periòdicament als representants dels estats membres per aprovar i actualitzar el sistema d'unitats. El Comitè Internacional de Pesos i Mesures (CIPM)

supervisa el treball de la BIPM i coopera amb altres organitzacions internacionals, com ara la ISO.

La feina del BIPM és distribuïda arreu del món en una sèrie d'organitzacions regionals de metrologia: EUROMET a Europa, NORAMET al Nord i part de l'Amèrica Central, ANDIMET reuneix diversos països andins, SURAMET a la resta d'Amèrica del Sud, etc. A més a més, cada país té un Institut Nacional de Metrologia (alguns països en tenen diversos) que el representa en el camp de la metrologia i es preocupa per difondre localment les unitats i els patrons (Figura 1).

De manera similar i paral·lela, a més de l'ISO existeixen organitzacions regionals de normalització, com ara el CEN, i una organització de normalització a cada país (AENOR a Espanya).

A més s'han creat una sèrie de grups de treball conjunts de la BIPM amb altres organitzacions internacionals; entre ells hi trobem el Comitè Conjunt de Traçabilitat en Medicina de Laboratori (JCTLM). També cal destacar el Comitè Conjunt per a Guies en Metrologia constituït per 8 organitzacions internacionals que prepara i promou la *Guia per a l'expressió de la incertesa en la mesura* (GUM) i el *Vocabulari Internacional de Metrologia* (VIM).

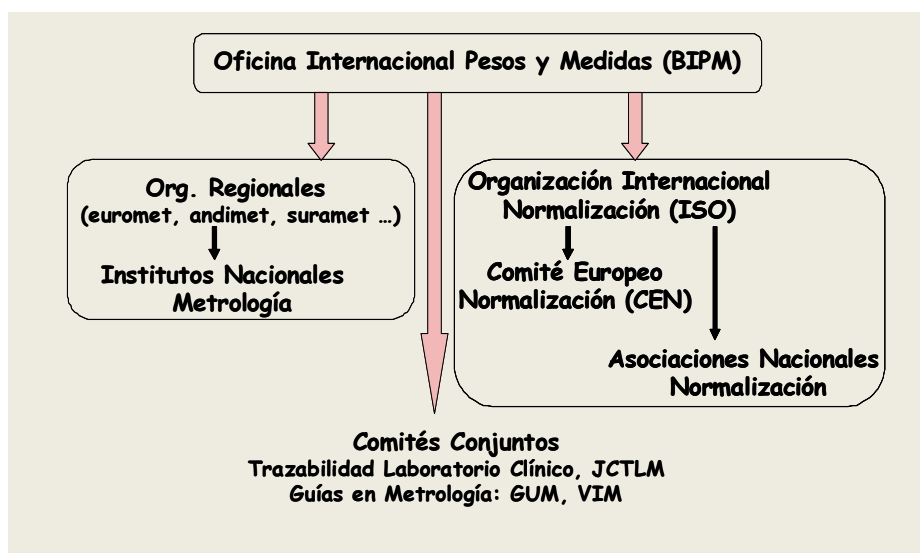


Figura 1.- L'organització internacional de metrologia.

La metrologia i el laboratori clínic

D'acord amb la teoria moderna de metrologia, l'exactitud d'un resultat de mesura es defineix per la incertesa i la seva traçabilitat. La incertesa és una expressió numèrica del grau d'inexactitud (o dubte) del resultat i la traçabilitat relaciona el resultat amb referències establertes, permetent així la seva reproductibilitat en el temps i entre laboratoris.

Per a relacionar el resultat d'una mesura amb referències establertes, es requereixen una cadena de comparacions (de traçabilitat). Es posa en forma d'una jerarquia descendent (Figura 2), de la referència de metrologia més elevada, fins el resultat de la mostra del pacient. La cadena de traçabilitat pot tenir més esglaons que els que es mostren en l'exemple de la figura

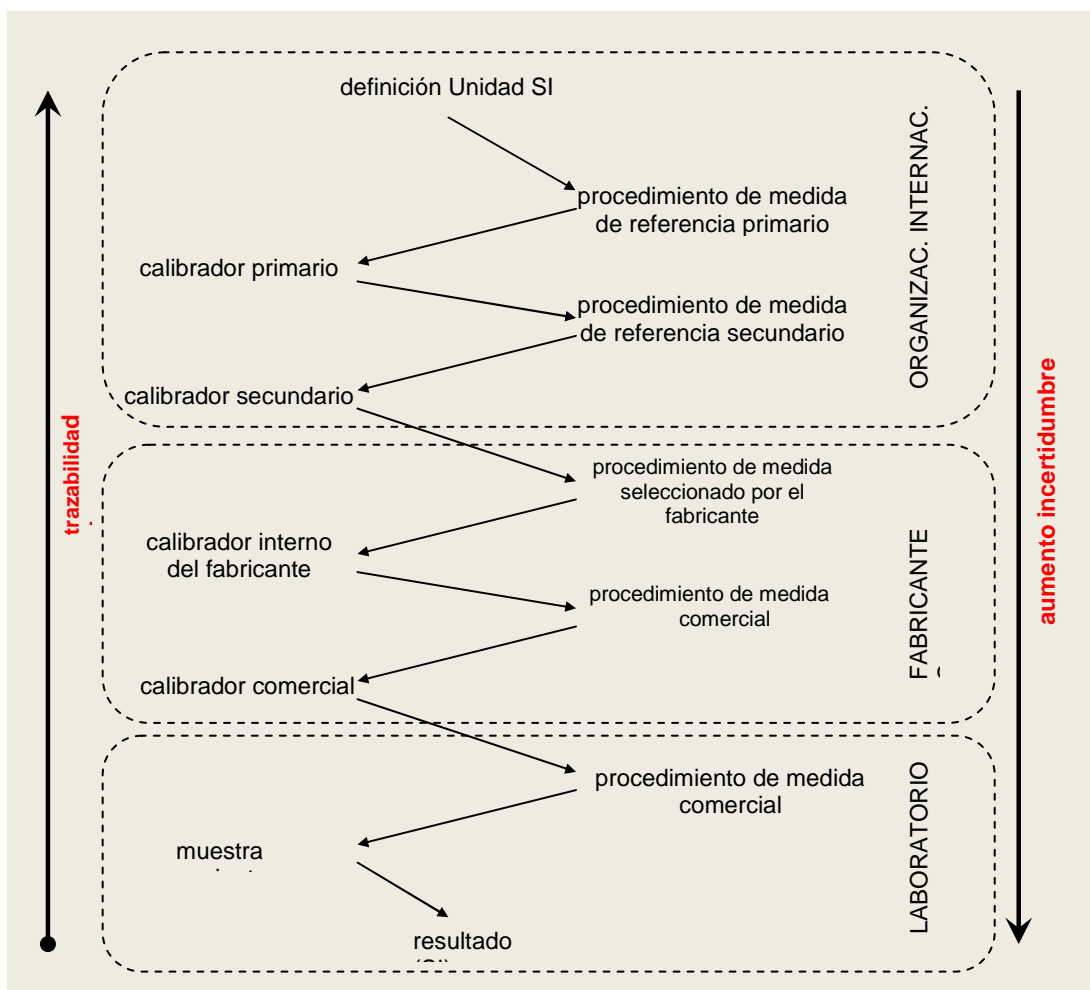


Figura 2.- Cadena de traçabilitat

La història de la metrologia en el laboratori clínic està principalment relacionada amb l'establiment o la preparació de *procediments de referència* i de *materials de referència*.

Els primers treballs en aquest sentit van ser fets pel NBS/NIST que, des de l'any 1914, va establir establert *mètodes normalitzats* (Standard Methods in Clinical Chemistry) per mesurar diversos analits, i els corresponents *materials de referència normalitzats* (Standard Reference Materials, SRM), entre els que s'hi troben: la glucosa, el pH (fosfats), el colesterol, la bilirubina, la urea, l'urat, la creatinina, etc.

Un altre tipus de *materials de referència* són els *patrons internacionals* (PI). Aquests materials són elaborats sota la supervisió del Comitè d'Experts en Patrons Biològics (ECBS) creat el 1924 per la Lliga de Nacions i que va ser acollit per l'Organització Mundial de la Salut (OMS) el 1947. Els dipositaris dels patrons són Laboratoris Internacionals de Patrons Biològics establerts en diversos països. Tots ells distribueixen gratuïtament mostres a institucions nacionals i a les indústries, però no als laboratoris individuals.

Els PI sovint tenen valor assignat expressat en *unitats internacionals* (UI). Les UI són un concepte desenvolupat per l'OMS. S'assigna un valor arbitrari en UI (generalment 100 UI) al primer lot de material que es prepara. Quan s'esgota, és substituït per un altre lot al que se li assigna valor amb referència a l'anterior, anomenant-lo llavors *patró internacional 2ⁿ*, *3^{er}*, etc..

Els PI han estat especialment útils per a aquells analits que difícilment es poden mesurar en el *sistema internacional d'unitats*, com és el cas de diferents antígens i anticossos. No obstant això, alguns PI (proteïnes de sèrum) han estat, amb el temps, substituïts per *materials de referència certificats* amb valor assignat en unitats de concentració de massa.

En les dècades dels 70 i 80, el NBS/NIST va establir primer els *mètodes de referència* i posteriorment els *mètodes definitius*, basats en l'espectrometria de masses i la dilució isotòpica. Els *mètodes definitius* ocupen la posició més elevada en la jerarquia metrological (procediments de mesura primaris) i es van desenvolupar per a la mesura de diversos compostos sèrics com ara el calci, la glucosa, la urea, l'urat, el colesterol i els triglicèrids. Al mateix temps també es van desenvolupar *mètodes de referència i definitius* per diversos del sèrum: calci, clorur, liti, magnesi, potassi i sodi.

A més dels *materials de referència* (SRM) *primaris*, el NBS/NIST ha preparat diversos SRM *secundaris* amb matriu sèrica. Entre ells, destaca el 909 SRM, certificat per a 11 analits mitjançant la utilització de *mètodes definitius*.

El 1968, va ser fundada als Estats Units d'Amèrica el Comitè Nacional per a la Normalització del Laboratori Clínic (National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS), dedicat a l'elaboració de normes en les diverses àrees del laboratori clínic.

Una fita important en la història de la metrologia és la introducció el 1974 d'un programa europeu anomenat Oficina Comunitària de Referència (Bureau Communautaire de Référence, BCR), acollit a l'Oficina Central per a Mesures Nuclears (Central Bureau for Nuclear Measurements, CBNM) de la Comunitat Econòmica Europea. El programa BCR tenia com a finalitat la preparació de *materials de referència certificats* (Certified Reference Materials, CRM) i realitzar estudis de comparació entre laboratoris (interlaboratorials). Els primers CRM van ser d'interès per a la indústria, però ben aviat també es va desenvolupar un bon nombre de CRM d'interès pel laboratori clínic i per les anàlisis ambientals.

El 1995, BCR i CBNM desapareixen i les seves activitats es reflecteixen en el nou Institut per a Materials de Referència i Mesures (Institute for a Reference Materials and Measurements, IRMM). En l'actualitat, l'IRMM ofereix un ampli catàleg de CRM aplicables a les diferents activitats.

En el moment d'iniciar el segle XXI, ja hi ha un bon nombre de *materials de referència certificats* de diferents tipus (primaris, secundaris) elaborats per diversos organismes i d'aplicació al laboratori clínic. També, s'han descrit *procediments de mesura de referència primaris* (o *mètodes definitius*) per a molts analits. Recentment (2002), s'ha creat el Comitè Conjunt de Traçabilitat en el Laboratori Clínic (JCTLM) per acord entre el Comitè Internacional de Pesos i Mesures (CIPM), la Federació Internacional de Química Clínica (IFCC) i la Cooperació Internacional d'Accreditació de Laboratoris (ILAC). El JCTLM ha preparat llistats sobre *materials de referència* i *procediments de mesura de referència* d'acceptació internacional. Una altra funció important de l'JCTLM és la d'establir xarxes de laboratoris de referència amb la competència adequada per assignar valors als *materials de referència* primaris i secundaris. Exemples d'aquestes xarxes reconegudes internacionalment són aquelles existents per a analits com el colesterol, l'hemoglobina A_{1c} i per a determinades concentracions catalítiques.

El 2005, el NCCLS canvia la seva denominació per la d'Institut per a la Normalització Clínica i del Laboratori (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI). El CLSI ha continuat la labor de publicació de normes i guies de la NCCLS. Algunes d'elles són aplicables a l'estudi de les característiques metroològiques dels procediments de mesura.

Lectures recomanades

- BIPM-brief history of measurement <http://www.bipm.org/fr/convention/wmd/2004/history.html>
- R Schaff, GN, Melville RS Bowers. History of NIST's contributions to development of standard reference materials and reference and definitive methods for clinical chemistry. Clin Chem 1995; 41:1306-12.
- IRMM 50th Anniversary 1960-2010. Institute for Reference Materials and Measurements, Geel, Belgium
http://irmm.jrc.ec.europa.eu/about_IRMM/50/Documents/irmm_50th_brochure_web.pdf
- About Clinical and Laboratory Standards Institute
http://www.clsi.org/AM/Template.cfm?Section=About_CLSI

Història de la teoria del valor semiològic en les ciències de laboratori clínic

Conferència a càrrec de

Jaume Miró Balagué

Associació Catalana de Ciències de Laboratori Clínic

La teoria del valor semiològic en les ciències de laboratori clínic consisteix en un conjunt d'estratègies, basades en fets objectius, que donen pautes per a la interpretació i aplicació dels resultats dels exàmens *in vitro* de les propietats biològiques. El valor semiològic d'una propietat biològica estudiada amb un sistema examinadori determinat es defineix com la seva capacitat de subministrar informació útil per a la prevenció, el diagnòstic, el pronòstic i el seguiment de l'evolució d'una malaltia (1).

El terme *semiologia*, que prové de les paraules gregues σημειου (*semeion*) i λογος (*logos*), «tractat dels signes», es deu al lingüista suís Ferdinand de Saussure (1857–1913), «pare» de l'estructuralisme lingüístic, que és qui va definir la semiologia com la ciència que estudia el paper dels signes en les relacions socials. Semiologia és equivalent a *semiòtica*, terme molt més antic que prové de σημειοτικοζ (*semeiotikós*), «observador dels signes». Un signe és un atribut associat a una realitat a la que fa referència. Els signes poden ser icones, indicis o símbols en funció de la relació que tinguin amb allò a què es refereixen. Les icones són representacions simplificades, com ara dibuixos, els indicis són components o efectes d'aquesta realitat i els símbols només hi tenen una relació arbitrària. En semiologia, *significat* és allò que es vol expressar i *significant* el mitjà amb el que s'expressa. El valor d'un signe depèn de la capacitat informativa que tingui (2).

L'estudi dels signes es remunta a les fonts de la filosofia i la ciència de la Grècia clàssica, essent tractada per Hipòcrates en el camp de la medicina i per Plató en el de la filosofia. Ja en l'època moderna, el terme *semiòtica* va ser emprat pel metge i filòsof anglès Henry Stubbe l'any 1670 per referir-se a la branca de les ciències mèdiques dedicada a la interpretació dels signes clínics (3). Des de principis del segle XX el terme *semiologia* ha tingut una gran implantació l'àmbit de les Ciències de la Salut, especialment en les llengües llatines. En les Ciències de la Salut, els signes representen una indicació objectiva d'alguna característica biològica que indica l'estat de salut, i es diferencien dels símptomes, que són característiques subjectives percebudes pels pacients i que no poden ser mesurades ni detectades per un observador (4). Així, doncs, la febre és un signe, el mal de cap un

síntoma. La semiologia quantitativa s'ocupa de la quantificació de les probabilitats que es compleixi una hipòtesi, com ara la presència o absència d'una malaltia (5).

Les propietats biològiques examinades al laboratori clínic cal considerar-les com a signes lligats al diagnòstic, pronòstic i seguiment de les malalties. Atès que, com s'ha dit, el valor d'un signe depèn de la seva capacitat informativa, el valor semiològic d'una propietat biològica indica el grau d'informació que el seu examen subministra al metge. Cal destacar que ja l'any 1913 aquestes consideracions ja es feien al nostre país com demostra el fet el tema central del primer Congrés dels Metges de Llengua Catalana fos la *vàlua semiològica de l'examen de sang*. Entre les ponències presentades, una bona part es dedicaren a estudiar l'interès clínic d'estudis de laboratori que s'efectuaven en aquell temps, com ara: *estudi comparat de la urea de la sang i de l'orina per a determinar la funció ureica dels ronyons, valoració quantitativa de la reacció de Wassermann o la leucocitosi leucoblàstica-promielocítica* (6).

En el nostre àmbit geogràfic, la implantació del terme *valor semiològic* i el seu desenvolupament com a teoria aplicada a les Ciències de Laboratori Clínic és deu en bona part a Xavier Fuentes Arderiu. L'any 1984, seguint els passos de la Societat Francesa de Biologia Clínica (SFBC), va fundar la Comissió de Valor Semiològic de la Societat Espanyola de Química Clínica (SEQC) (7). Aquest grup, que va ser actiu fins a l'any 1990, va elaborar vuit documents en els que va establir el que pot ser considerat com a *corpus* doctrinal de la teoria del valor semiològic en les Ciències de Laboratori Clínic (8-10). Posteriorment, en múltiples documents, articles i capítols de llibre, aquest autor ha fet una gran difusió i aportacions sobre la terminologia, els conceptes i les aplicacions de l'esmentada teoria (11), de la que a continuació es citen les fites més rellevants.

Els fonaments de la teoria del valor semiològic aplicada a les Ciències de Laboratori Clínic van ser establerts per Robert S. Galen i S. Raymond Gambino quan l'any 1975 van proposar l'ús d'indicadors epidemiològics, com ara sensibilitat diagnòstica, especificitat diagnòstica, eficàcia diagnòstica i valor predictiu, per establir una valoració probabilística de la presència o absència de processos patològics (12), més enllà dels criteris de normalitat usuals en aquells temps. Poc després, l'any 1978, un comitè d'experts de la Federació Internacional de Química Clínica (IFCC) va presentar la teoria dels valors de referència que té com a principal objectiu l'estimació objectiva de l'interval de valors fisiològics (13).

L'estudi de la variabilitat biològica intra i interindividual va ser el fonament de la proposta d'Eugene K. Harris de principis dels vuitanta, en la que va introduir estratègies capaces d'avaluar longitudinalment el valor semiològic de les propietats biològiques a partir de

l'estimació de la significació dels canvis entre dues mesures consecutives d'una magnitud biològica (14).

L'enfocament multivariat utilitza algorismes que permeten el tractament combinat dels valors de dues o més propietats biològiques. Aquesta estratègia, que permet una millora en el rendiment de la informació proporcionada pel laboratori clínic, va ser proposada a finals dels anys vuitanta, i té especial interès per a l'estudi del pronòstic de patir una malaltia (15). Entre les seves aplicacions, cal destacar la gran implantació assolida de l'estimació del risc que un fetus presenti l'alteració cromosòmica trisomia 21 en funció dels valors de dues o més propietats biològiques maternes (16).

L'establiment de valors discriminants consensuats és una estratègia útil per interpretar els valors de les magnituds biològiques que presenten una distribució unimodal, atès que l'alteració estudiada cursa sense altres signes clínics que permetin distingir les condicions patològiques de les fisiològiques. Aquest és el cas de magnituds com les concentracions de glucosa o de colesterol en el plasma, que són les indicadores de diabetis *mellitus* o de risc d'arteriosclerosi, respectivament. L'any 1979 el Grup Nacional de Dades sobre la Diabetis dels Estats Units d'Amèrica (NDDG) va consensuar valors discriminants per al diagnòstic i classificació de diabetis *mellitus*, basats en estudis prospectius (17). Posteriorment, la mateixa institució n'ha fet diverses actualitzacions, i l'Organització Mundial de la Salut (OMS) les ha assumit amb petites variants (18). Un altre grup de magnituds biològiques que tenen principalment valor pronòstic són les concentracions de diferents lípids en el plasma, de les que el Programa Nacional per a l'Educació sobre el Colesterol dels Estats Units d'Amèrica (NCEP) n'ha establert els valors discriminants (19).

L'aplicació de les corbes de rendiment diagnòstic (corbes ROC) permet conèixer la capacitat discriminant de les magnituds biològiques per al diagnòstic dels processos patològics, així com estimar els valors discriminants més eficients, tal com queda especificat a la guia de l'any 1993 del Comitè Nacional de Normes de Laboratori Clínic dels Estats Units d'Amèrica (NCCLS, actualment anomenat Institut de Normes Clíniques i de Laboratori o CLSI) (20).

En les dues darreres dècades els aspectes teòrics, així com la seva implantació en l'àmbit assistencial, no han progressat gaire respecte de l'estat de la ciència presentat l'any 1992 pel Projecte Nòrdic per a la Química Clínica dels Països Escandinaus (NORDKEM) en un esplèndid número monogràfic de la revista de la societat escandinava de química clínica (21). Cal tenir en compte, però, que la norma ISO 15189 inclou entre els seus requisits que els laboratoris clínics han de proporcionar assessorament fisiopatològic, o sigui, semiològic,

als seus clients (22). Aquesta exigència, tot i ser ambigua, pot donar lloc, si els equips auditors volen aprofundir-la, a un revifament de l'aplicació i el desenvolupament de la teoria del valor semiològic

Bibliografia

1. Fuentes Arderiu X. Diccionaris d'especialitat. Bioquímica Clínica. Barcelona: Edicions de la Universitat de Barcelona; 1999.
2. Ullmann S. Language and style. Oxford (Regne Unit): Basil Blackwell, 1964.
3. Stubbe, H., The Plus Ultra reduced to a Non Plus ... Londres, 1670.
4. King, Lester S. Medical Thinking: A Historical Preface. Princeton, NJ: Princeton University Press; 1982.
5. Chatellier G, Ménard J, Degoulet P. Introduction to quantitative semiology. Rev Prat. 1996 Feb 1;46:291-7.
6. Pawlow J.J. Congrés de Metges de Llengua Catalana (1:1913, Barcelona). Arxius de l'Institut de Ciències 1914; 2/3: 54-85
<<http://taller.iec.cat/cmibllc/cerca.asp?cerca=1r&select=publicacio&button=Cercar%21>> (accés: 2012-11-15)
7. Fuentes J, Casas E, Martinez M, et al. Concepto de valor semiológico de las determinaciones bioquímicas. Quim. Clin. 1984; 3: 51-2.
8. Fuentes J, Casas E, Macià M, et al. Capacidad discriminante. Quim. Clin. 1985; 4: 129-32.
9. Fuentes Arderiu J, Casas Regany E, Juan Pereira L, et al. Influencia de la imprecisión y de la inexactitud analíticas sobre la capacidad discriminante de una magnitud bioquímica. Quím Clín 1986;5: 305-6.
10. Fuentes Arderiu J, Casas Regany E, Frey González E, et al. Interpretación del cambio de dos valores consecutivos de una magnitud bioquímica. Quím Clín 1989; 8: 357-61.
11. Fuentes Arderiu X, Queraltó Companyó JM. Teoria semiológica. A: Fuentes Arderiu X, Castiñeiras Lacambra, Queraltó Compañó, dirs. Bioquímica clínica y patología molecular. Barcelona: Reverté; 1998.
12. Galen RS, Gambino SR. Beyond normality: the predictive value and efficiency of medical diagnoses. New York: John Wiley; 1975.
13. Expert Panel on Theory of Reference Values de la International Federation of Clinical Chemistry. The concept of reference values Clin. Chim. Acta 1978; 87: 459F-465F.
14. Harris EK, Yasaka T. On the calculation of a reference change for comparing two consecutive measurements. Clin Chern 1983;29:25-30.

15. Albert A, Harris EK. Multivariate interpretation of clinical laboratory data. New York: Marcel Dekker; 1975.
16. Haddow JE, Palomaki GE, Knight, GJ et al. Prenatal Screening for Down's Syndrome with Use of Maternal Serum Markers. N Engl J Med 1992;327:588-593.
17. The Expert Committee on the diagnosis and diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. Report on the diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 1997; 20:1183-97.
18. Albert KM, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. Diabet Med 1998;15:539-53.
19. Goodman DS, Hulley SB, Clark LT. Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults Arch Intern Med 1988;148:36-69.
20. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Assessment of clinical accuracy of laboratory tests using receiver operating characteristics (ROC) plots; Tentative guideline. NCCLS document GP10-T. Vilanova, Pa: NCCLS; 1993.
21. Magid E. Some concepts of clinical tests evaluation. Introduccion. Scand J Clin Lab Invest 1992; (suppl 208): 9-12
22. Blanco Font A. Implantació de la Norma ISO 15189:2007 en laboratoris clínics certificats. Barcelona: Associació Catalana de Ciències de Laboratori Clínic; 2010.

Històries del valors de referència

Conferència a càrrec de

Josep Maria Queraltó Compañó

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

1. Introducció

La idea dels valors de referència (biològics) gira al voltant de la interpretació dels resultats analítics en el laboratori mèdic. La pregunta inicial que, intuïtivament, es fa el receptor d'una mesura de laboratori és si el resultat és "com el que es veu en una persona que no té cap malaltia". El "no malalt" pot conceptualitzar un ésser humà ideal o un ésser humà "representatiu", en el sentit estadístic i més real. En qualsevol cas, el problema és establir el cànon de "no malaltia" que defineix l'individu i, per tant, el conjunt d'individus a qui referir les característiques observades en un individu concret (1). La història de com es va concebre aquest concepte clau en medicina de laboratori és paral·lela a la història de la pròpia disciplina i, per tant, a la de les ciències de la salut. Per tal d'escriure una història formalment completa de la teoria dels valors de referència caldria remuntar-se, doncs, a la antiguitat filosòfica, a la visió platònica dels éssers humans ideals, o dels tractats mèdics primitius, que ja contrastaven les observacions efectuades en malalts i en no malalts. Igualment, fer notar la coincidència del naixement de les ciències del laboratori mèdic i de la biometria (l'aplicació de la teoria matemàtica de la probabilitat i l'estadística a la biologia i, més exactament, a la fisiopatologia humana). Però, lamentablement, només tenim espai i temps per a recordar que els moderns pares de la medicina de laboratori (Otto Folin, Donald van Slyke) ja utilitzaven informalment el concepte "de valors de referència". Pot ser que la primera publicació que tracta específicament de valors de referència sigui la d'Edwin E. Osgood i Howard D. Haskins a l'any 1923 (2).

2. L'edat d'or 1960-1980

2.1. El triomf de la fase analítica

El control estadístic de la qualitat possiblement fos una conseqüència de l'esforç industrial de la segona guerra mundial. L'aplicació a la medicina de laboratori ens evoca el nom de científics que van assentar les bases de l'actual teoria i pràctica del control de la qualitat: Tom Whitehead, Dankwart Stamm, Johannes Büttner, Michel

Bailly. Sens dubte, l'èxit del control de la qualitat a assegurar una fiabilitat i traçabilitat analítica va suposar un recolzament i un prestigi sense precedent.

Un altre factor que va influir a crear un escenari favorable va ser el progrés en l'automatització. L'abaratiment de processos analítics, l'escurçament dels temps de lliurament de resultats, la millora del rendiment dels resultats, i la reorganització dels serveis van ser la conseqüència de la introducció, primer, dels instruments automàtics i, després, de la informàtica de gestió. També aquí ens venen al pensament les figures de Frederick Mitchell i George Féraud, alguns d'ells hostes dels primers simposis d'automatització realitzats a Barcelona.

Aquests moviments i tendències estaven decididament recolzats per les organitzacions professionals i societats científiques nacionals i internacionals, a través de comitès que, significativament, es van començar a denominar "comitès d'estandardització". Les qüestions científiques i professionals més calentes motivaren la creació de grups de treball per a donar-hi resposta. Cal recordar, per exemple, com es va tancar la polèmica de la temperatura a què realitzar les mesures enzimàtiques. L'efectivitat de les societats científiques i professionals, amb la complicitat de la indústria del diagnòstic *in vitro*, els va reportar un prestigi, autoritat i influència en les especialitats del laboratori mèdic per damunt d'altres organitzacions com universitats o departaments governamentals.

En resum, els laboratoris clínics ja eren capaços de produir quantitats massives de determinacions a bon preu, ràpides, d'alta qualitat, comparables amb altres institucions. Els laboratoris estaven clarament dirigits a la medicina assistencial de la població i, essencialment al diagnòstic, però es començava a apreciar la medicina preventiva i, per tant, el paper del laboratori en el seguiment clínic i terapèutic. Encara no es parlava explícitament de *medicina personalitzada* o *basada en l'evidència*.

Eren temps d'optimisme pels resultats obtinguts, la tecnologia emergent i la seguretat en els resultats. Pot ser el debat més important llavors era com articular l'organització dels laboratoris al voltant de les plataformes analítiques i, la gran novetat: la informatització.

2.2. La reinvençió de la teoria dels valors de referència

Ralph Gräsbeck explicava com la necessitat de redefinir els "valors normals" se'ls va ocórrer en les llargues i avorrides sessions de sauna fina, considerant la polisèmia del concepte *normal* i la seva utilització frívola i superficial per part dels professionals de la clínica i dels laboratoris. La necessitat de redefinir el concepte per tal d'evitar-ne l'ambigüitat va tenir un èxit immediat, només cal revisar l'abundància

d'articles conceptuals i d'opinió a càrrec de Ralph Gräsbeck (3), Robert Zender (4), René Dybkaer (5), Mario Werner (6) entre altres.

A l'entusiasme conceptual es van afegir les inquietuds d'una nova de generació de científics que, a més de l'interès per mantenir a ratlla la incertesa associada al procés analític amb l'ajut del control de la qualitat i l'automatització del procés analític, començaven a valorar tant la influència de la preanalítica com de la interpretació dels resultats. Igualment es va començar a donar valor a l'estudi sistemàtic de les interferències analítiques per factors intrínsecs o externs com els medicaments (7).

Van aparèixer també, simultàniament, una sèrie tant de contribucions originals com en divulgació de les idees ja ben establertes en el camp de la estadística. Especialment les d' Eugene K. Harris (8), i Allen H. Reed (9), que seguien el precedent de L. Herrera (10). Amb molts punts de contacte amb els estudis de la variació biològica com, per exemple, els de George Z. Williams (11), els del mateix Eugene K. Harris (12-13), Ernest Cotlove(14) i Donald S. Young (15). També es comencen a explorar àmbits especialitzats com pot ser l'aproximació intraindividual com contrast de l'aproximació poblacional per Bernard E. Statland (16-20) o l'aproximació multivariant per part de Per Winkel (21) i James C. Boyd (22), front a la convencional aproximació univariant. Aquestes aproximacions es podien qualificar quasi bé de visionàries si es tenen en compte les limitacions en les tecnologies de la informació de l'època.

L'interès per la teoria dels valors de referència es pot calibrar pel nombre de llibres, publicacions i recomanacions que es publiquen i els simposis que es convoquen a nivell internacional i que desborden el marc de la present publicació. La IFCC va crear un comitè d'experts que van presidir Gérard Siest i Helge E. Solberg per produir una sèrie de sis documents amb recomanacions sobre nomenclatura, producció i utilització (23-28). De forma similar societats nacionals com l'Escandinava, Francesa i Espanyola, a través dels corresponents Comitès van completar i difondre les recomanacions de la federació Internacional.

Està clar que la teoria dels valors de referència pertany a la fase postanalítica del procés assistencial del laboratori clínic, on en un context clínic s'interpreta el resultat obtingut. No obstant, pot ser per primera vegada, es pren consciència de la transcendència de controlar la fase preanalítica (29-30), i no solament la fase analítica, sortosament ja sota control.

3. Decadència? (1980-2000)

Al tombant del segle XX, l'escenari del laboratori mèdic contemplava una implantació absoluta de la tecnologia de la informació, que impregnava tota la gestió

de la producció assistencial, i començava a organitzar la fase postanalítica. Des del punt de vista analític, les tècniques de biologia molecular revolucionaven la medicina des del laboratori i des dels principis de la medicina basada en l'evidència, que aviat s'importaria com *el laboratori basat en l'evidència*, i es tornaria a posar llum sobre la medicina personalitzada. Finalment, dues normatives reguladores van sacsejar la professió. En primer lloc, la Directiva Europea del diagnòstic *in vitro*, on finalment s'inclou el requisit de què els valors de referència han de constar en les instruccions d'ús i interpretació, va motivar a la indústria a preocupar-se per aquest tema pot ser per primer cop. L'altre va ser l'evolució de les polítiques de la qualitat cap a la certificació i l'acreditació dels serveis de laboratori. La voluntat de fer visible l'assoliment d'una gestió de la qualitat que anava més enllà de l'assegurament de la qualitat analítica, i que implicava tota la organització, va orientar a l'adopció de certificació per terceres parts dels sistemes de qualitat, segons normes ben conegudes en el món econòmic (ISO 9001). Tanmateix cal dir que, amb una certa insatisfacció, perquè la certificació no contempla l'excel·lència ni la competència en el servei, i cal dir també que els seus orígens industrials semblaven un reforç innecessari als aspectes economicistes de la professió, aportant poc al coneixement o a l'efectivitat clínica. Aquests quatre aspectes afecten a la teoria dels valors de referència. La tecnologia de la informació en facilita el procés de producció i a l'hora permet presentar eficientment els intervals de referència segons particions demogràfiques, quan estiguin indicades. La medicina personalitzada i la biologia molecular presenten reptes semblants als que van presentar la medicina preventiva, pel que fa a redefinir el concepte de *valor de referència*. Els requeriments normatius van posar en relleu la rellevància dels valors de referència.

De fet, les Societats Científiques, Nacionals i Internacionals, havien instaurat comitès per a refinar i difondre la teoria dels valors de referència feia anys i, durant els anys vuitanta, es va publicar una llarga sèrie de recomanacions sobre com interpretar els conceptes, produir els intervals, controlar les variacions analítiques i biològiques, presentar-los als usuaris i transferir-los des d'una institució a l'altre o dintre d'un mateix laboratori que canviés de metodologia. Els llibres de text de medicina de laboratori ja incloïen, en els seus primers capítols, la teoria dels valor de referència com una de les parts en què es fonamentava la disciplina. Alguns aspectes derivats de la teoria bàsica de la variabilitat biològica, com els valors intraindividuals (31-35) o els valors de referència d'un canvi, eren objecte de recerca aplicada i publicacions a les revistes especialitzades (36-40). Sens dubte, facilitats per la presència dels primers ordinadors personals.

Però, en mig d'aquest "entusiasme", apareixen núvols a l'horitzó. En primer lloc, l'ús que en fan els usuaris del laboratori és subòptim. Pot ser perquè des del laboratori no es va ser prou hàbil a transmetre el missatge complet, o perquè la formació dels futurs usuaris ja era deficient en matèria de medicina de laboratori, el fet és que la teoria dels valors de referència es va identificar com un pròleg menor de la teoria de la decisió. El límit de referència era sinònim de límit de decisió. Quan la interpretació grinyolava bé perquè la decisió era complexa, o bé perquè el marcador era més de risc que de diagnòstic, la conseqüència era depreciar-ne el crèdit en comptes de reflexionar sobre l'autèntica significació i aplicació del concepte "valor de referència". De qualsevol manera el tema semblava tan ben establert i consolidat que cada cop atreia menys interès de la comunitat científica i, encara menys, de la comunitat de financers de la recerca i innovació. Tot i que es començaven a veure els primers problemes pràctics d'aplicació (41).

Si la recomanació formal era que cada laboratori havia de produir els valors de referència adequats a la població a qui donava servei, la realitat és que molt pocs ho podien fer. O bé perquè era difícil obtenir mostres d'individus de referència de mida i representativitat suficient o perquè, un cop enterrat l'optimisme econòmic, les noves determinacions del laboratori mèdic eren significatives. Si s'arribava a disposar d'una mostra de mida acceptablement gran, el cost d'aquest considerable volum de determinacions "no facturable" es veia com una despesa de difícil justificació. La solució fàcil i, sovint, l'única possible, era la còpia indiscriminada de valors de referència publicats, sovint amb documentació limitada.

4. Renaixença (2000-2010)

Quan es consolida la patologia molecular i el paper del laboratori mèdic en la medicina de laboratori i, quan s'han d'aplicar normatives com la directiva del diagnòstic *in vitro* o l'acreditació del laboratori segons la norma ISO 15189, reapareix el tema dels valors de referència. Millor dit, el tema del problema de la producció dels valors de referència. Dues forces es combinen: la pressió de la indústria i la pressió de l'assistència.

Una nova complicació s'afegeix al panorama preocupant de la falta "d'individus de referència": les limitacions que sobre "seroteques" i bases de dades imposen les lleis de privacitat i protecció de dades.

Finalment, al 2005, la IFCC reinstal·la el Comitè de Valors de Referència (i "de límits de decisió") per proposar, si calgué, una revisió de les recomanacions per tal de flexibilitzar-ne els requisits, facilitar el compliment normatiu i satisfer els principis del

coneixement. La conclusió es recull en un document (42) conjunt amb el CLIS nord-americà on es reconeix la validesa i actualitat dels principis teòrics, es fa esment a la diferència entre límits de referència i de decisió i es consoliden estratègies que havien estat proposades alternativament per altres Societats o grups de treball. Fruit d'aquest renovat interès són els números suplementaris que la segona revista en difusió del laboratori mèdic, CCLM, va publicar els anys 2004 i 2012.

Entre les possibles solucions apuntades està: potenciar la transferibilitat d'interval de referència entre institucions i, ocasionalment, recorrent a biobancs, i organitzar programes de producció multicèntrica. A més, ha reaparegut la idea de construir intervals de referència a partir de població de pacients. La transferibilitat requereix un exercici acurat de valoració de la variabilitat biològica i analítica, a més de mètodes estadístics rigorosos (43). Metodològicament no és un problema complex i els moviments migratoris d'avui dia dilueixen, pot ser, les diferències poblacionals que s'observaven fa unes dècades entre grups demogràficament diferents. La realització d'exercicis multicèntrics té la dificultat afegida de requerir commutabilitat de procediments analítics. També en aquest cas juga a favor l'experiència en exercicis de validació creuada i intercomparabilitat propiciats per requeriments normatius d'acreditació (44-46). Finalment, els mètodes que utilitzen heterodoxament dades de qualsevol individu, de referència o pacient, reapareix de nou com solució a l'escassetat d'individus de referència pròpiament dits. "Reapareix", perquè es va proposar fa varies dècades i va tenir en cada cas un ressò diferent però discret en general (47-49). Cal dir que, en aquest anys, han aparegut diferents tècniques de recerca d'informació, com la mineria de dades i procediments d'agrupament bayesià que podrien revifar aquesta possibilitat.

Que el tema de la teoria dels valors de referència estava encallat ho desmenteixen contribucions significatives en aquest període que cobrien aspectes poc tractats en les recomanacions originals dels anys setanta; per exemple, en l'àmbit de la metodologia estadística, els càlculs amb mètodes robusts com el bootstrap (50) i d'altres (51-52) o el refinament (53-56) de mètodes de partició de la població proposats (57).

5. Post modernisme

La predicció del futur de la ciència és quelcom impensable i irremeiablement abocat al fracàs, precisament per ser poc o gens científic. Però cal assenyalar algunes tendències actuals que pot ser que el futur consolidi.

La visió global que significa el concepte de *biomarcador* i el seu procés de descobriment i validació inclouen, necessàriament, el desenvolupament i avaluació explícits tant dels valors de referència com dels de decisió en els termes definits a l'actualitat. En la mesura que aquest concepte es va implantant, la funció i la rellevància dels valors de referència s'aniran consolidant en el marc d'utilitat real en clínica.

Si la transcendència de la fase preanalítica ja va ser objecte de les primeres recomanacions nacionals i internacionals (llavors es parlava de "preparació dels individus de referència"), no ha parat de rebre cada cop més atenció. Però, quan es tracta de dissenyar exercicis de transferència de valors de referència, la fase preanalítica adopta una importància considerable pels efectes que pot representar sobre la incertesa global dels resultats. Un front nou s'obre quan es decideix recórrer a adquirir espècimens de referència a un biobanc, sense tenir coneixements, ni de les condicions de "preparació de l'individu" ni de l'estabilitat de conservació i transport de l'espècimen.

La transferència de valors de referència a partir d'uns pretesos valors universals per a una aplicació assistencial particular exigeix una reflexió ponderada dels avantatges, inconvenients i incerteses associades.

Finalment, les relacions entre la teoria dels valors de referència, essencialment descriptiva, i la teoria de la decisió clínica, que inclou l'establiment de valors de decisió, s'han de traslladar a la pràctica diària dels usuaris del laboratori mèdic. Tenint en compte que no sols és un problema de cultura mèdica, sinó també social i, sobre tot, econòmic. Aquesta és una tasca que, davant de la indiferència acadèmica, han d'escometre els laboratoris mèdics si no volen malbaratar la fase postanalítica i, en definitiva, l'activitat dels laboratoris després d'esmerçar tants recursos i esforços a la fase analítica com a la preanalítica.

La història i la reflexió segueixen obertes. Ho demostren recents articles (58-63) on es pot trobar una visió més extensa de l'evolució i les perspectives de futur immediat de la teoria dels valors de referència.

Referències

1. Buttner J. Clinical chemistry: a professional field for physicians and natural scientists in Europe. Eur J Clin Chem Clin Biochem. 1991 Jan;29(1):3-12.

2. Osgood EE, Haskins HD. A new permanent standard for estimation of hemoglobin by the acid hematin method. *J Biol Chem.* 1923;57(1):107-10.
3. Grasbeck R, Fellman J. Normal values and statistics. *Scand J Clin Lab Invest.* 1968;21(3):193-5.
4. Zender R. Valeurs normales ou valeurs fréquentes. *Ann Biol Clin (Paris).* 1970;28:15-6.
5. Dybkaer RR, Gräsbeck RR. Editorial: Theory of reference values. *Scand J Clin Lab Invest.* 1973;32(1):1-7.
6. Werner M, Marsh WL. Normal values: Theoretical and practical aspects. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences.* 1975;6(2):81-100.
7. Siest G, editor. Reference values in human chemistry: effects of analytical and individual variations, food intake, drugs and toxics. Applications in preventive medicine. Proceedings of the second International Colloquium "". *Automatisation and Prospective Biology*; October 10-14 1972; Pont-à-Mousson: S. Karger; 1973.
8. Harris EK, DeMets DL. Estimation of normal ranges and cumulative proportions by transforming observed distributions to gaussian form. *Clin Chem.* 1972 Jul;18(7):605-12.
9. Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. *Clin Chem.* 1971 Apr;17(4):275-84.
10. Herrera L. The precision of percentiles in establishing normal limits in medicine. *J Lab Clin Med.* 1958 Jul;52(1):34-42.
11. Williams GZ, Young DS, Stein MR, Cotlove E. Biological and analytic components of variation in long-term studies of serum constituents in normal subjects. I. Objectives, subject selection, laboratory procedures, and estimation of analytic deviation. *Clin Chem.* 1970 Dec;16(12):1016-21.
12. Harris EK, DeMets DL. Effects of intra- and inter-individual variation on distributions of single measurements. *Clin Chem.* 1972 Mar;18(3):244-9.
13. Harris EK, Kanofsky P, Shakarji G, Cotlove E. Biological and analytic components of variation in long-term studies of serum constituents in normal subjects. II. Estimating biological components of variation. *Clin Chem.* 1970 Dec;16(12):1022-7.
14. Cotlove E, Harris EK, Williams GZ. Biological and analytic components of variation in long-term studies of serum constituents in normal subjects. 3. Physiological and medical implications. *Clin Chem.* 1970 Dec;16(12):1028-32.

15. Young DS, Harris EK, Cotlove E. Biological and analytic components of variation in long-term studies of serum constituents in normal subjects. IV. Results of a study designed to eliminate long-term analytic deviations. *Clin Chem.* 1971 May;17(5):403-10.
16. Bokelund H, Winkel P, Statland BE. Factors contributing to intra-individual variation of serum constituents: 3. Use of randomized duplicate serum specimens to evaluate sources of analytical error. *Clin Chem.* 1974 Dec;20(12):1507-12.
17. Statland BE, Bokelund H, Winkel P. Factors contributing to intra-individual variation of serum constituents: 4. Effects of posture and tourniquet application on variation of serum constituents in healthy subjects. *Clin Chem.* 1974 Dec;20(12):1513-9.
18. Statland BE, Winkel P, Bokelund H. Factors contributing to intra-individual variation of serum constituents. 2. Effects of exercise and diet on variation of serum constituents in healthy subjects. *Clin Chem.* 1973 Dec;19(12):1380-3.
19. Statland BE, Winkel P, Bokelund H. Factors contributing to intra-individual variation of serum constituents. 1. Within-day variation of serum constituents in healthy subjects. *Clin Chem.* 1973 Dec;19(12):1374-9.
20. Winkel P, Statland BE, Bokelund H. Factors contributing to intra-individual variation of serum constituents: 5. Short-term day-to-day and within-hour variation of serum constituents in healthy subjects. *Clin Chem.* 1974 Dec;20(12):1520-7.
21. Winkel P, Lyngbye J, Jorgensen K. The normal region--a multivariate problem. *Scand J Clin Lab Invest.* 1972 Nov;30(3):339-44.
22. Boyd JC, Lacher DA. The multivariate reference range: an alternative interpretation of multi-test profiles. *Clin Chem.* 1982 Feb;28(2):259-65.
23. Solberg HE. IFCC Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1987;25:645-56.
24. Solberg HE. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section, Expert Panel on Theory of Reference Values, and International Committee for Standardization in Haematology (ICSH), Standing Committee on Reference Values. Approved Recommendation (1986) on the theory of reference values. Part 1. The concept of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1987 May;25(5):337-42.
25. Solberg HE, PetitClerc C. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section, Expert Panel on Theory of Reference

- Values. Approved recommendation (1988) on the theory of reference values. Part 3. Preparation of individuals and collection of specimens for the production of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem*. 1988 Sep;26(9):593-8.
26. Solberg HE, Stamm D. International Federation of Clinical Chemistry, Scientific Division: approved recommendation on the theory of reference values. Part 4. Control of analytical variation in the production, transfer and application of reference values. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1991 Aug;29(8):531-5.
 27. Dybkaer R. International federation of clinical chemistry (IFCC)1),2) the theory of reference values. Part 6. Presentation of observed values related to reference values. *J Clin Chem Clin Biochem*. 1982 Nov;20(11):841-5.
 28. PetitClerc C, Wilding P. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section. The theory of reference values. Part 2. Selection of individuals for the production of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem*. 1984 Feb;22(2):203-8.
 29. Alstrom T, Grasbeck R, Hjelm M, Skandsen S. Recommendations concerning the collection of reference values in clinical chemistry and activity report by the Committee on Reference Values of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*. 1975;144:1-44.
 30. Bretauiere JP, Buret J, Favre R, Gueguen R, Petitclerc C, Sachs C, et al. Biological variations in laboratory tests (document D, stage 3). *Ann Biol Clin (Paris)*. 1979;37(4):229-39.
 31. Albert A, Harris EK, Chapelle JP, Heusghem C, Kulbertus HE. On the interpretation of serial laboratory measurements in acute myocardial infarction. *Clin Chem*. 1984 Jan;30(1):69-76.
 32. Harris EK. Some theory of reference values. I. Stratified (categorized) normal ranges and a method for following an individual's clinical laboratory values. *Clin Chem*. 1975 Sep;21(10):1457-64.
 33. Harris EK. Some theory of reference values. II. Comparison of some statistical models of intraindividual variation in blood constituents. *Clin Chem*. 1976 Aug;22(8):1343-50.
 34. Pickup JF, Harris EK, Kearns M, Brown SS. Intra-individual variation of some serum constituents and its relevance to population-based reference ranges. *Clin Chem*. 1977 May;23(5):842-50.
 35. Queralto JM. Intraindividual reference values. *Clin Chem Lab Med*. 2004;42(7):765-77.

36. Harris EK. Reference values for change: an addendum. *Clin Chem*. 1983 May;29(5):997.
37. Harris EK, Yasaka T. On the calculation of a "reference change" for comparing two consecutive measurements. *Clin Chem*. 1983 Jan;29(1):25-30.
38. Padro-Miquel A, Rigo-Bonnin R, Fuentes-Arderiu X. Significance of a change between two consecutive measured values. *Scand J Clin Lab Invest*. 2012 Apr;72(2):169-72.
39. Queralto JM, Boyd JC, Harris EK. On the calculation of reference change values, with examples from a long-term study. *Clin Chem*. 1993 Jul;39(7):1398-403.
40. Trape J, Aliart ML, Brunet M, Dern E, Abadal E, Queralto JM. Reference change value for HbA1c in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Chem Lab Med*. 2000 Dec;38(12):1283-7.
41. Henny J, Petitclerc C, Fuentes-Arderiu X, Petersen PH, Queralto JM, Schiele F, et al. Need for revisiting the concept of reference values. *Clin Chem Lab Med*. 2000 Jul;38(7):589-95.
42. CLSI. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline – Document C28-A3. 3rd ed2010.
43. Fuentes-Arderiu X. Analytical goals for transferability. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1991 Aug;29(8):529-30.
44. Ferre-Masferrer M, Fuentes-Arderiu X, Alvarez-Funes V, Guell-Miro R, Castineiras-Lacambra MJ. Multicentric reference values: shared reference limits. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1997 Sep;35(9):715-8.
45. Fuentes-Arderiu X, Ferre-Masferrer M, Gonzalez-Alba JM, Escola-Aliberas J, Balsells-Rosello D, Blanco-Cristobal C, et al. Multicentric reference values for some quantities measured with Tina-Quant reagents systems and RD/Hitachi analysers. *Scand J Clin Lab Invest*. 2001 Jul;61(4):273-6.
46. Fuentes-Arderiu X, Ferrer-Masferrer M, Gonzalez-Alba JM, Villarino-Gonzalez MI, Arrimadas-Esteban E, Cabrero-Olive D, et al. Multicentric reference values for some quantities measured with the Elecsys 2010 analyser. *Clin Chim Acta*. 2001 Feb;304(1-2):143-6.
47. Ferre-Masferrer M, Fuentes-Arderiu X, Puchal-Ane R. Indirect reference limits estimated from patients' results by three mathematical procedures. *Clin Chim Acta*. 1999 Jan;279(1-2):97-105.

48. Martin HF, Gudzinowicz BJ, Driscoll JL. An algorithm for the selection of proper group intervals for histograms representing clinical laboratory data. *Am J Clin Pathol.* 1975 Sep;64(3):327-34.
49. Martin HF, Gudzinowicz BJ, Fanger H. Normal values in clinical chemistry: a guide to statistical analysis of laboratory data. New York: M. Dekker; 1975.
50. Linnet K. Nonparametric estimation of reference intervals by simple and bootstrap-based procedures. *Clin Chem.* 2000 Jun;46(6 Pt 1):867-9.
51. Horn PS, Pesce AJ, Copeland BE. Reference interval computation using robust vs parametric and nonparametric analyses. *Clin Chem.* 1999 Dec;45(12):2284-5.
52. Horn PS, Pesce AJ. Reference intervals: an update. *Clin Chim Acta.* 2003 Aug;334(1-2):5-23.
53. Lahti A. Partitioning biochemical reference data into subgroups: comparison of existing methods. *Clin Chem Lab Med.* 2004;42(7):725-33.
54. Lahti A, Hyltoft Petersen P, Boyd JC. Impact of subgroup prevalences on partitioning of Gaussian-distributed reference values. *Clin Chem.* 2002 Nov;48(11):1987-99.
55. Lahti A, Hyltoft Petersen P, Boyd JC, Fraser CG, Jorgensen N. Objective criteria for partitioning Gaussian-distributed reference values into subgroups. *Clin Chem.* 2002 Feb;48(2):338-52.
56. Lahti A, Petersen PH, Boyd JC, Rustad P, Laake P, Solberg HE. Partitioning of nongaussian-distributed biochemical reference data into subgroups. *Clin Chem.* 2004 May;50(5):891-900.
57. Harris EK, Boyd JC. On dividing reference data into subgroups to produce separate reference ranges. *Clin Chem.* 1990 Feb;36(2):265-70.
58. Siest G, Henny J, Grasbeck R, Wilding P, Petitclerc C, Queralto JM, et al. The theory of reference values: an unfinished symphony. *Clin Chem Lab Med.* 2012 Nov 24:1-18.
59. Pavlov IY, Wilson AR, Delgado JC. Reference interval computation: which method (not) to choose? *Clin Chim Acta.* 2012 Jul 11;413(13-14):1107-14.
60. Boyd JC. Defining laboratory reference values and decision limits: populations, intervals, and interpretations. *Asian J Androl.* 2010 Jan;12(1):83-90.
61. Henny J. Interpretation of laboratory results: the reference intervals, a necessary evil? *Clin Chem Lab Med.* 2007;45(8):939-41.

62. Friedberg RC, Souers R, Wagar EA, Stankovic AK, Valenstein PN, College of American P. The origin of reference intervals. Arch Pathol Lab Med. 2007 Mar;131(3):348-57.
63. Fuentes-Arderiu X. Biological reference intervals and ISO 15189. Clin Chim Acta. 2006 Feb;364(1-2):365-6.

Epíleg

A càrrec de
Dolors Dot Bach

Vull agrair a tots els ponents la seva participació en aquesta acte i felicitar-los per les seves interessants intervencions de les que hem pogut gaudir gràcies a aquest acte.

També agrair a tots vostès, la seva assistència i la seva atenció.

Per finalitzar, permeteu-me que us llegeixi una breu nota que hem elaborat la Dra. M. José Castiñeiras i jo mateixa per tal d'acomiar institucionalment el Dr. Xavier Fuentes.

Apreciat *Fuentes*,

Ha arribat el dia que tu tantes vegades ens has anunciat en aquests darrers temps “el de la teva jubilació”. Ara toca doncs acomiar-te com cal, com a company i com a *mestre*, atès que *mestres* són els que deixen empremta.

Ens deixes alguna cosa més que records. Al llarg d'aquests anys, has estat l'ideòleg, l'estratega i el líder de nombrosos projectes que han acabat sent els pilars imprescindibles que han fet que "el nostre laboratori" sigui el que és en l'actualitat. Els que aquí seguirem, tenim l'obligació de mantenir i millorar el llegat que ens deixes.

Has deixat també la teva petjada en la formació de nombroses generacions de residents, entre les que tinc la sort de comptar-m'hi, als quals vas inculcar les bases de la professió, que els ha permès de créixer i de convertir-se en especialistes, amb esperit d'estar a l'alçada del que la societat n'espera, gràcies als coneixements que amb ells has compartit.

Sabem que la teva contribució a aquesta professió és el resultat d'un treball constant i d'una plena dedicació.

Encara que aquest és un acte “institucional” no podem, ni volem, desaprofitar l'ocasió per exterioritzar els nostres sentiments personals.

Fuentes, et trobarem a faltar moltes vegades.

Però, no ens hem de posar tristos, al cap i a la fi, només et jubiles de la teva activitat laboral.

Per nosaltres, seguiràs sent un company i per alguns també l'amic, i esperem seguir compartint encara amb tu moltes activitats professionals.

Et desitgem molts i molts anys en actiu.

Ha estat un privilegi compartir aquests anys amb tu.

T'ho repeteixo, et trobarem a faltar!.

Moltes Gràcies, per tot i felicitats pel teu aniversari!

L'Hospitalet, 8 d'octubre de 2012.