

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

ESCUELA DE BIOANÁLISIS

DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN BIOANÁLISIS CLÍNICO

VERIFICACIÓN DE UN MÉTODO ENZIMÁTICO PARA LA DETERMINACIÓN
CUANTITATIVA DE GLUCOSA HEXOQUINASA EN SUERO EN EL LABORATORIO
CLÍNICO DEL CENTRO DE ATENCIÓN AMBULATORIA CENTRAL DEL INSTITUTO
ECUATORIANO DE SEGURIDAD SOCIAL – QUITO

LESLY DAYANA RUIZ SANIPATIN

DIRECTOR

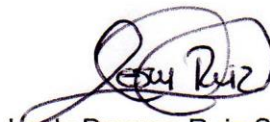
DR. LENIN VILLALTA

QUITO, 2016

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo Lesly Dayana Ruíz Sanipatín de CI 1003351986, autora del trabajo de graduación titulado "Verificación de la validación de un método enzimático para la detección cuantitativa de glucosa hexoquinasa en suero, en el laboratorio clínico del Centro de Atención Ambulatoria Central del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social – Quito, previo a la obtención de grado académico de LICENCIADA EN BIOANÁLISIS CLÍNICO de la Escuela de Bioanálisis.

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior de entregar a la SENECYT en forma digital una copia del referido trabajo de graduación, el mismo que será integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación del Ecuador para difusión pública respetando los derechos de autor.
2. Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo y graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.



Lesly Dayana Ruiz Sanipatín.

CI. 1003351986

DEDICATORIA

Con todo mi cariño y amor para las personas que hicieron posible que yo pudiera lograr este gran sueño, en especialmente:

A mi madre Leila Sanipatín, fuente inagotable de amor, abnegación y sacrificio; a mi padre Darío Ruiz, ejemplo de trabajo y perseverancia quienes con su apoyo incondicional y paciencia me alentaron en las largas jornadas de trabajo hasta culminar esta etapa.

A mi hermano Damián Ruiz, por su aliento diario al desarrollo y culminación de esta disertación, la que espero se constituya un ejemplo a seguir.

“Cuando mayor sea el esfuerzo, mayor es la gloria”

Pierre Coneille

AGRADECIMIENTO

Son muchas las personas especiales a las que quisiera agradecer por brindarme su amistad, cariño, apoyo y compañía.

A Dios por darme sabiduría, perseverancia y fortaleza a lo largo mi vida estudiantil y no dejarme rendir ante ninguna circunstancia adversa.

También quiero dejar constancia de mi más sincera gratitud y estima al **Dr. Lenin Villalta**, quién como director de tesis contribuyó con su valioso apoyo intelectual para el desarrollo de esta disertación.

Un reconocimiento especial a la **Dra. Lorena Mora**, jefa del Laboratorio Clínico del Dispensario Central IESS, por brindarme su amistad durante la realización de este trabajo, además por el interés, apoyo y confianza en todo momento.

De igual manera agradezco a todo el grupo de trabajo del Laboratorio Clínico del Dispensario Central IESS, por la paciencia y sus aportes en este arduo trabajo.

TABLA DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
LISTADO DE GRÁFICOS	ix
LISTADO DE ANEXOS	x
LISTA DE SIGLAS	xi
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xv
CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 JUSTIFICACIÓN.....	1
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.3 OBJETIVOS.....	5
1.3.1 Objetivo general.....	5
1.3.2 Objetivos específicos.....	5
1.4 HIPÓTESIS.....	6
CAPÍTULO II	7
MARCO REFERENCIAL Y TEÓRICO	7
2.1 MARCO REFERENCIAL.....	7

2.1.1 ANTECEDENTES	8
2.2 MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL	9
2.2.1 Generalidades	9
2.3 Control de calidad en el laboratorio clínico	11
2.4 Verificación de métodos analíticos	12
2.4.1 Definición y propósito	12
2.4.2 Introducción	12
2.4.3 Método analítico	13
2.4.4 Clasificación de los métodos analíticos	14
2.4.5 Implantación de una prueba de rutina	15
2.4.6 Evaluación metodológica	16
2.5 Evaluación instrumental	17
2.5.1 Introducción	17
2.5.2 Evaluación del sistema analítico	17
2.5.2.1 Especificaciones básicas	17
2.5.2.2 Selección de equipos automáticos	18
2.5.2.3 Evaluación de analizadores automáticos	19
2.5.2.4 Evaluación de los módulos analíticos	20
2.5.3 Reactivos y materiales	21
2.5.3.1 Agua	21
2.5.3.2 Tipos de agua según su grado reactivo	21

2.5.3.3 Características de productos químicos y reactivos	22
2.6 Selección de instrumentos	23
2.6.1 Calibración analítica de instrumentos de medida	24
2.7 Parámetros de desempeño de un método analítico	24
2.7.1 Imprecisión	25
2.7.2 Linealidad	25
2.7.3 Comparación de Métodos	26
2.7.4 Veracidad.....	26
2.7.5 Incertidumbre.....	27
2.8 Marco conceptual.....	28
CAPÍTULO III	33
MARCO METODOLÓGICO.....	33
3.1 Tipo de estudio	33
3.3 Operalización de variables.....	34
3.4 Plan de análisis de datos	36
3.5 Materiales y métodos.....	36
3.5.1 Metodología de análisis	36
3.5.3 Preparación de muestra control	37
3.5.4 Preparación de calibrador	38
3.5.5 Reactivo glucosa hexoquinasa GLUC3	38
3.5.6 Preparación pool de sueros:.....	39

3.5.7 Muestras de estudio	39
3.6 Precisión del método	40
3.7 Linealidad del método	40
3.8 Comparación de métodos	42
3.9 Valoración de veracidad por un material de referencia certificado	43
3.10 Evaluación de veracidad utilizando comparación de métodos	43
3.11 Evaluación de Incertidumbre con el uso de valores de control interno y externo	44
CAPITULO IV	45
RESULTADOS	45
CONCLUSIONES	60
RECOMENDACIONES	61
BIBLIOGRAFIA	62
ANEXOS	66

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1	Variables principales de la investigación	34
Tabla 2	Variables secundarias de la investigación	35
Tabla 3	Preparación de diluciones	41
Tabla 4	Resultado de la concentración de la dilución respectiva	41
Tabla 5	Validación del intervalo reportable	43
Tabla 6	Evaluación de linealidad del método	46
Tabla 7	Evaluación de precisión del método. PreciControl Clin Chem Multi 1	48
Tabla 8	Evaluación de precisión del método. PreciControl Clin Chem Multi 2.....	49
Tabla 9	Criterio de aceptabilidad precisión PreciControl Clin Chem Multi 1	50
Tabla 10	Criterio de aceptabilidad precisión PreciControl Clin Chem Multi 2	50
Tabla 11	Evaluación de la veracidad del método de acuerdo al error relativo y porcentaje de recuperación	52
Tabla 12	Evaluación de la veracidad de acuerdo a la comparación de dos métodos de Glucosa Hexoquinasa.....	53
Tabla 13	Resultados de la comparación entre los dos métodos enzimáticos para Glucosa Hexoquinasa.....	56
Tabla 14	Evaluación de veracidad de acuerdo a los puntos de interés médico.....	58
Tabla 15	Estimación de nivel de incertidumbre	59

LISTADO DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Implantación de una prueba de rutina.....	54
Gráfico 2	Evaluación de linealidad del método.....	57
Gráfico 3	Comparación de dos métodos enzimáticos de Glucosa Hexoquinasa	150
Gráfico 4	Diferencias de la comparación de métodos enzimáticos para determinar Glucosa Hexoquinasa.....	153

LISTADO DE ANEXOS

Anexo 1 Carta de Aprobación de IESS C.A.A Central Quito	67
Anexo 2 Calificación de equipo Cobas c- 311	69
Anexo 2 1 Certificado de calibración de pipeta ajustable 100-1000 µL	78
Anexo 2 2 Certificado de calibración pipeta ajustable de 10-1000 µL	80
Anexo 2 3 Análisis microbiológico de agua de destilador	82
Anexo 2 4 Análisis químico ambiental de agua de destilador	83
Anexo 2 5 Medición de ruido y mapa distributivo	84
Anexo 2 6 Informe de instalación	91
Anexo 2 7 Temperatura ambiental y humedad	102
Anexo 3 Curvas de control interno para Glucosa Hexoquinasa	105
Anexo 4 Temperatura de almacenamiento reactivo GLUC3	109
Anexo 5 Temperatura de almacenamiento muestras de pacientes	115
Anexo 6 Inserto de Glucosa Hexoquinasa	123
Anexo 7 Inserto Precicontrol Clinchem Multi 1	129
Anexo 8 Inserto PreciControl ClinChem Multi 2	130
Anexo 9 Resultados evaluación externa MLE	131
Anexo 10 Muestras utilizadas en parámetros de validación	132

LISTA DE SIGLAS

CAA	Centro de Atención Ambulatoria
CAP	Colegio Americano de Patólogos
CCE	Control de Calidad Externo
CCI	Control de Calidad Interno
CLIA	Clinical Laboratory Improvement Amendments
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CV	Coefficiente de Variación
DE	Desviación Estándar
DIV	Industria de diagnóstico In Vitro
EA	Error Aleatorio
EMA	Entidad Mexicana de Acreditación
ES	Error Sistemático
ETM	Error Total Máximo
FDA	Administración de Medicamentos y Alimentos
IESS	Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social
IFCC	Federación Internacional de Química Clínica
ILAC	Cooperación Internacional de Acreditación de Laboratorios
ISO	Organización Internacional de Normalización
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleótido de Hidrógeno
OMS	Organización Mundial de la Salud

OPS	Organización Panamericana de Salud
SAE	Servicio de Acreditación Ecuatoriano
SEQC	Sociedad Española de Química Clínica
SGC	Sistema de Gestión de Calidad

RESUMEN

Actualmente los laboratorios clínicos han implementado un Sistema de Gestión de Calidad, el cual permite a una organización demostrar su habilidad para entregar productos que cumplan con los requerimientos de sus clientes y con los requisitos aplicables descritos en normativas ISO.

Hay que destacar la importancia de la norma ISO 15189:2012 que hace referencia a los “REQUISITOS PARTICULARES RELATIVOS A LA CALIDAD Y LA COMPETENCIA”, la misma que es utilizada para confirmar o reconocer la competencia por parte de autoridades reguladoras y organismos de acreditación.

En esta se detalla requerimientos tales como: calificación de instrumentos, requisitos de calidad, validación/verificación de métodos, planificación de control de calidad interno, control de calidad externo. El cumplimiento de estos requisitos de calidad permite entregar en forma consistente resultados técnicamente validados.

La calificación de instrumentos verifica la correcta operación de equipos, la planificación de control de calidad asegura la utilidad clínica de los resultados, controla la estabilidad del sistema analítico y se encarga de conocer el desempeño del método en condiciones estables y el porcentaje de error permitido. Para finalmente efectuar la validación/verificación del método en estudio.

Tomando en cuenta estos aspectos se llevo a cabo la validación de un método analítico, aplicando protocolos de evaluación publicados en guías internacionales EMA (Entidad Mexicana de Acreditación), con el objetivo de verificar el correcto rendimiento del método enzimático para la detección cuantitativa de Glucosa hexoquinasa en suero.

Se evaluaron parámetros de desempeño del método tales como: linealidad, precisión, veracidad e incertidumbre.

Mediante un diseño experimental se realizó la evaluación estadística de los resultados obtenidos y tomando en cuenta los criterios de aceptación descritos en la EMA se obtuvieron los siguientes resultados:

El método de Glucosa Hexoquinasa es **lineal** $R^2=0,999$, **preciso** utilizando muestras control normal cuyo rango de referencia es (90.3 a 125 mg/dl), tomando en cuenta los valores descritos por el fabricante: la repetibilidad (C.V hasta 1.0%) y la reproducibilidad (C.V hasta 1.30%). Los valores obtenidos en este estudio son C.V <1% y la reproducibilidad C.V < 1.30%.

Con muestras control patológico cuyo rango de referencia es (186 a 258 mg/dl), tomando en cuenta los valores descritos por el fabricante: la repetibilidad (C.V hasta 0.9%) y la reproducibilidad (C.V hasta 1.1%). Los valores obtenidos en este estudio son C.V < 0.9% y la reproducibilidad C.V < 1.10%.

Además es veraz de acuerdo al porcentaje de error relativo 2.66 y porcentaje de recuperación 97.41. Al realizar la comparación de métodos el sesgo calculado es < 3 %. Tomando en cuenta los niveles de decisión médica descritos en las tablas de Westgard el porcentaje de bias calculado es < 1 %. Finalmente el valor obtenido de la incertidumbre de medida es 5,79 con margen del 95% de confiabilidad.

De esta forma se establece que las características de desempeño analítico cumplieron con las especificaciones estipuladas por el fabricante, además el método analítico es adecuado para obtener y emitir resultados clínicamente útiles.

Palabras Claves: Bias, Glucosa Hexoquinasa, Incertidumbre, Linealidad, Precisión, Sesgo, Veracidad, Verificación.

ABSTRACT

Nowadays clinical laboratories have implemented a Quality Management System, which allows an organization to demonstrate this ability to deliver products that meet customer requirements and applicable regulatory requirements described in ISO.

The importance of ISO 15189:2012 is noteworthy refers to the "REQUIREMENTS RELATING TO THE QUALITY AND COMPETITION", the same that is used to confirm or acknowledge the competition by regulatory authorities and accreditation : instrument rating, quality requirements, validation / verification methods, planning internal quality control, external quality control: This requirements such as detailed. Compliance with these quality requirements can consistently deliver technically validated results.

The rating instrument verifies the correct operation of equipment, planning quality control ensures the clinical usefulness of the results controls the stability of the analytical system and is responsible for knowing the performance of the method in stable condition and the percentage of permissible error. Finally make the validation / verification method under study.

Taking into account these aspects carried out the validation of an analytical method, using evaluation protocols published in international guidelines EMA (Mexican Accreditation Entity), in order to verify the correct performance of the enzymatic method for the quantitative detection of glucose hexokinase serum

An experimental design using statistical evaluation of the results was performed and taking into account the acceptance criteria described in the EMA the following results were obtained: linearity, precision, accuracy and uncertainty: performance parameters such as method were evaluated.

The method Glucose Hexokinase is linear $R^2 = 0.999$, accurate using samples normal control whose reference range is (90.3 to 125 mg / dl), taking into account the values described by the manufacturer: repeatability (CV to 1.0%) and reproducibility (CV to 1.30%). The values obtained in this study are C.V. <1% and the C.V. <1.30% reproducibility.

With control samples whose pathological reference range is (186-258 mg / dl), taking into account the values described by the manufacturer: repeatability (C.V. up 0.9%) and reproducibility (C.V. up 1.1%). The values obtained in this study are C.V. <0.9% and C.V. <1.10% reproducibility.

It is also true according to the percentage of relative error 2.66 and 97.41 percent recovery. When comparing methods calculated bias is <3%. Taking into account the levels of medical decision described in Westgard tables calculated the percentage of bias is <1%. Finally the value obtained from the measurement uncertainty margin is 5.79 with 95% confidence.

Thus it is established that the characteristics of analytical performance met the specifications set by the manufacturer, plus the analytical method is suitable for and deliver clinically useful results

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 JUSTIFICACIÓN

La presente investigación se realiza dentro del proceso de titulación de Verificación de un Método Analítico en el que se analizan los parámetros de desempeño para la determinación de glucosa hexoquinasa en suero.

Actualmente con la implementación de nuevos métodos analíticos y la automatización se recomienda realizar verificaciones y validaciones del método de análisis con el fin de mejorar la exactitud, la precisión, y el rendimiento analítico en cada laboratorio clínico, los mismos que están obligados a preocuparse por los resultados que reportan para generar confianza en el médico y pueda tomar decisiones diagnosticas y terapéuticas adecuadas y acertadas. (Gregory Cooper W. Et al, 2007)

Esto únicamente se logrará si se dispone de un sistema de gestión de calidad (SGC), que describa aspectos sobre el adecuado funcionamiento de un laboratorio en todas las fases analíticas, además de cumplir con normas de calidad internacionales y sistemas de mejora continua de calidad, que evalúan resultados y proporcionan satisfacción tanto al cliente como al profesional además de rentabilidad social y económica del servicio que este presta.

Se debe recalcar que al cumplir con requisitos descritos en normas de calidad adaptables a laboratorios de análisis se obtendrá la certificación con ISO 9001:2008 o acreditación con la ISO 15189 que los otorga únicamente los organismos de certificación o acreditación respectivamente.

En un apartado de la Norma INEN – ISO 17025 – 2005 se define a la validación como: “La confirmación, a través de un examen y aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen

requisitos particulares para un uso específico” (ISO / IEC, Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y de Calibración, 2005)

Así mismo la Norma INEN – ISO 15189 – 2009, manifiesta que un laboratorio debe utilizar solamente procedimientos validados para confirmar que los procedimientos analíticos sean adecuados para su uso previsto, es decir estas validaciones deben cumplir las necesidades de la aplicación o campos de aplicación dados. (ISO/IEC, 2009)

Haciendo referencia a lo descrito anteriormente se escogió el método cuantitativo de glucosa hexoquinasa, el mismo que es uno de los analitos de mayor demanda a nivel de laboratorio clínico y por su importancia en el diagnóstico de la Diabetes Mellitus, que de acuerdo a los datos estadísticos actualmente existen 366 millones de personas con diabetes y 280 millones con alto riesgo de desarrollarla, a lo largo de los próximos años se calcula que aumentará la cifra hasta alcanzar los 552 millones. (FEDERACIÓN INTERNACIONAL DE DIABETES, 2011)

El Ministerio de Salud Pública refiere que enfermedades crónicas no transmisibles como la diabetes mellitus fue la primera causa de mortalidad en el país afectando a 3. 291 habitantes, con una variación en cuanto al sexo siendo mayor en mujeres. (Lucio, Ruth.Et al, 2011)

A parte de los datos estadísticos es importante recalcar que Laboratorio Clínico del C.A.A Central cuenta con un Sistema de Gestion de Calidad además de ser un laboratorio certificado con la ISO 9001:2000 por el organismo de certificación SGS del Ecuador S.A.

Se efectúa esta investigación con la finalidad de que se convierta en un proyecto piloto, en el que se describe un protocolo de verificación que incluye procedimientos paso a paso, igualmente se le considerará una herramienta útil para otros laboratorios estatales que deseen acreditarse y demostrar formalmente la competencia técnica, aceptación y confianza de los resultados es decir clínicamente útiles.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En países desarrollados el 70% de los diagnósticos emitidos se basan en los resultados de laboratorio; actualmente hay más exigencia en los laboratorios clínicos especialmente en la implantación de sistemas de gestión de calidad ISO y el reconocimiento de la competencia técnica para reportar resultados con alto índice de confianza. (ILAC, 2011)

La importancia de emitir resultados útiles y confiables hace necesario verificar el funcionamiento y rendimiento del método que se utiliza en la rutina diaria, estos se reportarán de acuerdo a la aplicación médica y valores señalados en la CLIA'88. Con el paso de los años se han desarrollado diferentes métodos para determinar glucosa. En la actualidad, los métodos reductores y químicos se encuentran obsoletos, por lo cual se hará referencia únicamente a los métodos enzimáticos, que se caracterizan por poseer gran especificidad ya que utilizan enzimas purificadas que actúan únicamente sobre molécula de glucosa.

Demostrar que el laboratorio cuenta con competencia técnica para obtener resultados confiables, comparables y clínicamente útiles es indispensable porque a diario se crean nuevos laboratorios; de acuerdo a datos obtenidos en el 2010 en la Región de las Américas existen aproximadamente 30.000 laboratorios de diagnóstico que en su mayoría son privados y el resto asociados a centros hospitalarios públicos. (Burbano, 2007)

En el Ecuador no existe un dato estadístico al 2015 que indique la cantidad de laboratorios clínicos, se hará referencia a los datos estadísticos obtenidos en el 2010 establecen la existencia de alrededor de 1001 laboratorios en las diferentes provincias, de los cuales el 46% no tiene ningún permiso de funcionamiento. Si analizamos minuciosamente el estudio realizado en el laboratorio C.A.A Central IESS en el año 2013, según Mora Delgado (2013) “se atendieron alrededor de 89.690 pacientes en sus diferentes áreas, del total de pacientes, el 79.69% pertenecieron a consulta externa, 6.15% dispensarios anexos y 14.16% emergencia, realizándose 658.821 determinaciones. Según datos referentes al 2013 se realizaron 37.095 exámenes de glucosa basal, 10.539 glucosa post prandial, 14 sobrecarga en embarazo, 174 sobrecarga en 2 horas y 142 curva de glucosa” (p.78-79).

Los beneficiados son los usuarios internos y externos que acuden al laboratorio C.A.A Central a retirar sus resultados, así mismo el personal que brinda este servicio tendrá la capacidad de demostrar que son aptos para desempeñar competencia técnica al reportar resultados precisos y exactos. De acuerdo a los referenciado se busca que este laboratorio estatal sea el pionero en demostrar el cumplimiento de la norma ISO 15189 *Laboratorios Clínicos Requisitos particulares relativos a la calidad y la competencia*, lo que especialmente dependerá de la participación de todos los integrantes del laboratorio para demostrar la ventaja competitiva de los operadores y el desarrollo de los parámetros de desempeño del método de rutina seleccionado que se utiliza en ese laboratorio.

Con estos antecedentes surge la siguiente pregunta:

¿Se encuentran en un nivel aceptable los parámetros de desempeño analítico seleccionados en el proceso de verificación para la cuantificación de glucosa sérica por el método enzimático de glucosa hexoquinasa utilizado en el Laboratorio Clínico C.A.A Central del IESS?

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo general

- ✓ Demostrar la calidad analítica de los resultados en la determinación cuantitativa de glucosa en el laboratorio clínico mediante la verificación del método de glucosa hexoquinasa utilizado en el Laboratorio Clínico C.A.A Central.

1.3.2 Objetivos específicos

- ✓ Identificar parámetros de desempeño aplicables al método seleccionado y de utilidad clínica.
- ✓ Determinar los parámetros de desempeño del método glucosa hexoquinasa en forma individual, aplicables a esta prueba diagnóstica cuantitativa.
- ✓ Establecer un adecuado monitoreo y control de elementos que pueden influir en el desempeño del método analítico
- ✓ Elaborar un informe de verificación del desempeño analítico del método de glucosa hexoquinasa para la cuantificación de glucosa sérica.

1.4 HIPÓTESIS

Ho: El método enzimático de referencia con hexoquinasa para la determinación de glucosa sérica utilizado en el C.A.A Central IESS – Quito es pertinente para obtener y emitir resultados clínicamente útiles.

H1: El método enzimático de referencia con hexoquinasa para la determinación de glucosa sérica utilizado en el C.A.A Central IESS – Quito no es pertinente para obtener y emitir resultados clínicamente útiles.

CAPÍTULO II

MARCO REFERENCIAL Y TEÓRICO

2.1 MARCO REFERENCIAL

En los últimos años la tendencia global en los laboratorios clínicos, es ofrecer más calidad, más servicios, más seguridad y a su vez un mayor control en los costos, ya que cada laboratorio debe proporcionar información precisa y exacta. Estos también se ven obligados a ser más productivos y eficientes. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Sin duda alguna la historia de los laboratorios clínicos es un ejemplo de constante progreso y evolución especialmente en la aplicación de métodos eficaces, además de los cambios tecnológicos como la automatización. Por esta razón se debe verificar la validación del método que se utiliza de acuerdo a las especificaciones del fabricante.

En la determinación de las pruebas de glucosa, el método analítico que se utiliza debe ser monitoreado midiendo materiales de control para comprobar los valores obtenidos con los esperados, de esta manera se puede identificar errores analíticos durante el proceso y evitar informes erróneos para el paciente. (Maestre Hernández & Pereira Contreras, 2010)

Los laboratorios requieren validar métodos para demostrar el desempeño analítico de estos, frente a las características descritas por el fabricante o lo requerido por el laboratorio. Además es necesario aplicar un proceso de validación, el cual debe ser planificado con anterioridad e incluir: objetivos y alcance de la validación, etapas de la validación, el diseño experimental, los parámetros a validarse, los criterios de aceptación y rechazo y los cronogramas de trabajo. (CLINICA, 2012)

2.1.1 ANTECEDENTES

La Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla – México, Integrantes del Laboratorio de Investigaciones, realizaron una publicación sobre “*Planeación de un sistema de control de calidad para un método de determinación en glucosa*”; en esta investigación se definieron los requerimientos de calidad del método que utilizaron, la evaluación del desempeño analítico, la verificación de las características analíticas del método utilizado que permite conocer su error total, la selección del procedimiento de control de calidad y la adopción de una estrategia de control de calidad para finalmente asegurar los resultados obtenidos y emitidos con este método analítico. La aceptación o rechazo de un método analítico depende del cumplimiento de estándares de calidad de acuerdo a las necesidades médicas. Además una vez verificado un método el siguiente paso es seleccionar un procedimiento de control de calidad, para monitorear la calidad del método en condiciones de rutina. (Brambila, Eduardo. Et al, 2008)

En Junio del 2010 fue presentado en la Facultad de la Universidad de Oriente Núcleo Bolívar de Venezuela, el trabajo de grado titulado “*Control de Calidad Aplicado en la Determinación de Glucosa Sérica en Laboratorios Clínicos del Municipio Caroní*”; esta investigación refiere que los análisis clínicos y resultados producidos por algunos laboratorios son útiles para el diagnóstico y control del desarrollo de actividades para finalmente conocer la evolución del tratamiento aplicado. Recalca que verificar un método no solo certifica un buen procedimiento y exactitud de los resultados sino un servicio de calidad y confiabilidad ante los clientes. Reitera que cada laboratorio debe proveer resultados con mayor confianza y fiabilidad, lo que se consigue con la aplicación de programas de aseguramiento de la calidad que incluyen control de calidad interno (CCI) y control de calidad externo (CCE), útiles para llevar a cabo evaluaciones individuales e interlaboratorios, con el interés de verificar un método analítico y definir parámetros como precisión, exactitud, límite de detección entre otros; sirven para medir la aptitud de diferentes laboratorios con un cierto grado de precisión en una o varias características de ensayo. (Maestre, Elsy. Et al, 2010)

Existen otros estudios que son herramienta útil para llevar a cabo la verificación de métodos y primordiales en el cumplimiento de Normas ISO aplicables al Laboratorio de Análisis. Según la Entidad Mexicana de Acreditación (EMA), en su *Guía para la validación y la*

verificación de los procedimientos de examen cuantitativo empleados por el laboratorio clínico, 2008, puntualiza que la validación y verificación de los procedimientos es indispensable durante la evaluación de la competencia técnica, además se requiere aplicación de criterios técnicos y consistentes para lograr que el método en estudio sea verificado, de esta manera los laboratorios clínicos ofrecerán servicios con validez técnica, cuyos resultados reflejarán calidad y confiabilidad para el paciente. Es decir la calidad de los servicios debe especificar confiabilidad y uniformidad de las mediciones (trazabilidad e incertidumbre). En esta guía se describen los pasos para el aseguramiento de las mediciones que se realizan a diario en los servicios acreditados y también evalúan la competencia técnica de los laboratorios. (EMA, 2008)

El Servicio de Acreditación Ecuatoriano (SAE) describe en *su Guía de validación de métodos de ensayo en laboratorios clínicos 2011*, las recomendaciones para la aplicación de la norma ISO 15189 *Laboratorios Clínicos Requisitos particulares relativos a la calidad y la competencia*, específicamente a la validación de métodos y para demostrar la competencia técnica; con el fin de satisfacer las recomendaciones del desempeño “in situ” de las técnicas analíticas o dispositivo diagnóstico médico que se utiliza en el laboratorio clínico. Estas deben aplicarse a todos los métodos analíticos ya sean cuantitativos, cualitativos y semicuantitativos para demostrar su adecuación para el uso además de asegurar la “validez” de los resultados emitidos previo al reporte a los usuarios. (OAE, 2011)

2.2 MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.2.1 Generalidades

La planificación y mejora de la calidad es el principal objetivo de los laboratorios clínicos que desean promover y garantizar la excelencia, eficiencia y efectividad en los resultados. Esto implica seguir una serie de procedimientos, que forman parte del Sistema de Aseguramiento de la Calidad, en el que también se describe el cumplimiento de requisitos descritos en normas ISO. Uno de ellos es la validación y verificación de un método analítico, el cual es indispensable para conocer las características del método que estamos utilizando

y su error analítico, para comparar con las especificaciones de calidad descritas por el fabricante. (EMA, 2008)

En nuestro país a diario el término “verificar un método” ha tomado importancia de acuerdo a la aplicación y desarrollo de sistemas de gestión de calidad y evaluación de los mismos en cada laboratorio clínico, que incluyen certificación y acreditación, con el fin de proporcionar confianza y seguridad.

Se recomienda verificar cada vez que se implemente un método analítico en el laboratorio, para obtener beneficios tales como:

- Incremento del índice de satisfacción de los clientes al otorgar resultados clínicamente útiles,
- Confianza en los resultados de estudios de glucosa hexoquinasa y los relacionados con las diferentes áreas del laboratorio clínico,
- Satisfacer las demandas del cliente en tiempo de atención y nivel de servicio,
- Mejorar los procesos que utiliza el laboratorio, como resultado de disminuir costos, desperdicios, repeticiones de pruebas y gastos extras ya se de reactivos y diferentes insumos. (Baptista, H. Et al, 2009)

Desarrollo de los métodos diagnósticos para determinación de glucosa sérica

Los nuevos métodos analíticos para diagnóstico clínico se han desarrollado con el fin de mejorar la exactitud y precisión de los métodos existentes, además tienen el propósito de permitir la utilización de equipos automatizados ya sea para reducir los costos de los reactivos o de mano de obra o para medir un compuesto nuevo. Se debe tomar en cuenta que para implementar un nuevo método se debe verificar experimentalmente el rendimiento analítico en el laboratorio clínico.

Clásicamente se han clasificado estos métodos en 3 grupos diferentes: métodos reductores, métodos químicos y métodos enzimáticos.

En la actualidad los más utilizados son los enzimáticos, se caracterizan por presentar gran especificidad, utilizan enzimas purificadas que actúan únicamente sobre la molécula de glucosa sin interferir con los demás hidratos de carbono presentes en los líquidos biológicos.

2.3 Control de calidad en el laboratorio clínico

La calidad se comenzó a adoptar en el laboratorio clínico después de conseguir un desempeño más preciso y exacto de las pruebas realizadas, ya que estas son importantes para la toma de decisiones médicas y beneficio del paciente. La Organización Mundial de la Salud (OMS) y Federación Internacional de Química Clínica y Medicina de Laboratorio (IFCC) implantó este nuevo concepto que con el tiempo ha ido evolucionado. En la actualidad se aplican normas y estándares mundiales, los mismos que contienen requisitos o guías específicas sobre control de calidad, cumplir estos requisitos cuando sean aplicables es responsabilidad de cada laboratorio. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

El primer paso para contar con un Sistema de Control de Calidad exitoso es implementar el uso diario de controles de calidad, que se deben entender como una inversión en el mejor cuidado del paciente, si este es simple y efectivo ayudará a reportar resultados confiables.

El participar en programas de control externo juega un papel fundamental en el aseguramiento de la calidad en el laboratorio, este refleja información valiosa que únicamente es relevante en un momento en específico por tal motivo se debe complementar con control de calidad diario, para obtener un panorama completo del desempeño del ensayo, para reducir la imprecisión y la inexactitud de las determinaciones. (BIO-RAD, 2009)

La selección del método y equipos de medición, calibración, mantenimiento, elección de controles de calidad adecuados son indispensables para la detección de errores analíticos, control de precisión y exactitud y correcto desarrollo de la técnica de medición. (Sáenz, Silvia. Et al, 2006)

La mayoría de laboratorios se fijan objetivos acorde a las exigencias de calidad que deseen cumplir e implementar, las mismas que se encuentran descritas en cada norma ISO adaptable al laboratorio de análisis clínico, con el fin de reportar resultados validados,

mismos que generan confianza. De esta forma el médico tratante puede tomar una decisión diagnóstica acertada. (S.E.Q.C, 2006)

2.4. Verificación de métodos analíticos

2.4.1 Definición y propósito

La verificación de un método analítico es un requerimiento importante en la práctica de análisis químico, se trata de un proceso que define un requisito y confirma que el método empleado es apto para lo que la aplicación requiere. Se deben evaluar los parámetros de desempeño como parte del desarrollo del método.

Cada laboratorio debe verificar los métodos no normalizados que diseña y desarrolla, los normalizados empleados fuera del alcance previsto y ampliaciones y modificaciones de métodos normalizados y de esta manera confirma que estos son aptos para un fin previsto, es decir que el resultado sea lo suficientemente confiable y cualquier decisión basada en esta sea útil y fácil de interpretar.(ISO / IEC, Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y de Calibración, 2005).

El laboratorio, una vez que escoja e implemente un método, es responsable de asegurar la adecuada validación del mismo y del proceso; de elaborar un protocolo, procedimiento o instructivo en el que se debe detallar minuciosamente los pasos y resultados obtenidos en un documento ya sea protocolo, procedimiento o instructivo, el mismo que se debe adjuntar al manual de calidad.

2.4.2 Introducción

Las verificaciones descritas en los insertos por los fabricantes contemplan diversos procesos, la mayoría están inmersos en la fase analítica; pero existen factores que afectan y deben ser controlados para asegurar la calidad de las medidas realizadas. Estos pueden ser: estabilidad de la corriente eléctrica, temperatura ambiente y humedad, origen del agua, mantenimiento de los equipos analíticos y calibración del material de medida de volumen. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Otro aspecto importante y de fácil acceso es el manual técnico que incluye: especificaciones, características, normas de funcionamiento y calibración de los equipos necesarios en este proceso.

Hay que destacar la importancia que cumple el control de calidad interno CCI en esta etapa ya que ayuda a identificar y corregir errores analíticos ya sea aleatorios que afectan a la precisión o sistemáticos a la veracidad del método. Además la labor del analista es indispensable al momento de interpretar los valores y límites de aceptabilidad y las acciones a seguir en caso que los puntos o valores queden fuera.

La aplicación de la evaluación externa de calidad ayuda a realizar un estudio retrospectivo de los resultados analíticos que se reportan, con el fin de permitir una toma de decisiones oportuna.

Si el laboratorio ha controlado minuciosamente esta serie de aspectos quiere decir que cuenta con un método y proceso confiable.

2.4.3 Método analítico

El método analítico se entiende como el conjunto de instrucciones escritas que van a describir el procedimiento, los materiales, el analizador entre otros, son indispensables para el operador. Para aplicar un método de análisis a materiales de ensayo, se debe conocer las características de rendimiento en el laboratorio y el desempeño del mismo. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Las instrucciones que deben cumplir de forma rigurosa son: (Baeza, J. 2010)

1. Fundamento del método que se va a utilizar.
2. Características técnicas de los instrumentos y del material (debe incluir detalles para que el analista juzgue qué instrumento o modelos de instrumento va a utilizar).
3. Lista de reactivos: debe incluir las concentraciones, origen, nombre comercial, volumen, pureza, preparación, homogenización, tiempo y temperatura de reacción, estabilidad, almacenamiento e interferencias. En el caso de los calibradores se debe indicar todo lo

mencionado anteriormente incluido el método utilizado para asignar valores y los límites de tolerancia.

4. Condiciones del espécimen: volumen, conservantes o anticoagulantes, condiciones de almacenamiento, etc.

5. Descripción de todos los pasos del procedimiento analítico, indicando los pasos críticos y tolerancia que se puede permitir en las mediciones (controles).

6. Procedimiento de calibración.

7. Intervalo analítico, es decir la imprecisión e inexactitud permitidas para aplicar el método.

8. Acciones del analista u operador durante el proceso.

2.4.4 Clasificación de los métodos analíticos

La clasificación de los métodos analíticos descritos por el CLIA/FDA se realiza de acuerdo al nivel de complejidad: método de baja complejidad (Waived test), de moderada y alta complejidad (no-Waived test).

Los Waived test requieren del cumplimiento de las recomendaciones del fabricante (incluyen almacenamiento, aplicación e interpretación) y no necesita de un operador especializado, carece de recomendaciones de validación; se encuentran disponibles en la listas de test calificados del Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA/FDA).

Los ensayos de moderada y alta complejidad se los puede clasificar en base a su naturaleza: cuantitativo, cualitativo y semicuantitativo. (OAE, 2011). En el laboratorio clínico los más frecuentes son los métodos cuantitativos.

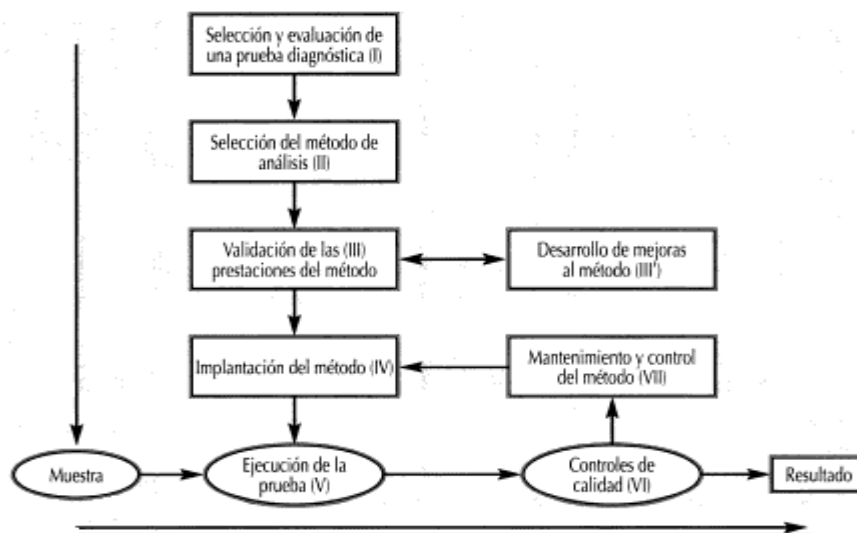
2.4.5 Implantación de una prueba de rutina

Para implementar una prueba de rutina el primer paso se basa en la selección de la prueba diagnóstica (I), se pasa a la etapa de selección del método (II), posteriormente el método de análisis cuya aptitud será validada (III). Cuando las prestaciones y parámetros sean adecuados, el método es implementado (IV) Si estas no son satisfactorias se recomienda seleccionar otro método. (Ver Gráfico 1)

Se realiza la verificación del método y a su vez se desarrolla mejoras del mismo para finalmente implementar en el laboratorio. Para conocer si los resultados del método son óptimos se debe realizar mantenimiento y control del método.

La selección adecuada de un método debe ir acorde a las necesidades y/o requerimientos de cada laboratorio clínico. Se deberán tomar en cuenta características tales como adaptación a las instalaciones, a los operadores, disponibilidad de recursos, demanda de pacientes, etc. Todo esto con el fin de evitar gastar tiempo y dinero en tecnologías que aparentemente son satisfactorias pero no se acoplan a los fines previstos del laboratorio.

Gráfico 1 Implantación de una prueba de rutina



Fuente: (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Existen criterios metodológicos para la selección de una prueba diagnóstica que se deben tomar en cuenta:

- Criterios de aplicación: establecen si la adaptación del método va acorde a las condiciones particulares del laboratorio.
- Criterio metodológico: se refiere a la relación entre la sensibilidad y especificidad del método con la utilidad clínica.
- Especificaciones del método: describen el comportamiento del método.

2.4.6 Evaluación metodológica

Efectuar la evaluación o validación de un método es ratificar que este funciona adecuadamente para los fines previstos y es aceptable para el laboratorio. En esta etapa se debe verificar las especificaciones descritas por el fabricante tales como precisión, veracidad, exactitud, interferencias, rango de medida, linealidad y limitaciones.

Para alcanzar esta evaluación se debe planificar tomando en cuenta lo siguiente:

- Establecer error máximo tolerado.
- Recoger datos experimentales necesarios.
- Hacer cálculos estadísticos para identificar los posibles errores que existen.
- Comparar valores observados con error máximo tolerado.
- Evaluar la aceptabilidad del método. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Hay que tomar en cuenta que el método únicamente puede considerarse apto si su error máximo es menor o igual que el descrito por la norma o criterios vigentes (CLIA'88 o CLSI).

El propósito de esta evaluación es mejorar la veracidad y la precisión de los métodos existentes, reducir costos, acortar tiempo de análisis y de respuesta. Esto únicamente se logrará verificando experimentalmente el comportamiento de cada método en el laboratorio.

Otra de las ventajas es conocer si el rendimiento va acorde a las especificaciones declaradas por el fabricante con el fin de satisfacer al usuario y cumplir los requisitos de calidad establecidos.

2.5 Evaluación instrumental

2.5.1 Introducción

Actualmente se tiende a incrementar la eficiencia con la aplicación de mejores equipos, instrumental y pruebas diagnósticas para finalmente obtener resultados deseados con el nivel de calidad apropiado.

Existen diferentes fases para la evaluación instrumental:

- **Fase de familiarización:** se debe definir el método de garantía de calidad, niveles de detección y criterios de exclusión de datos aberrantes.
- **Fase de estudio inicial:** busca detectar anomalías se realizan estudios de repetibilidad, reproducibilidad y error relativo.
- **Fase de estudio principal:** en esta se efectúan estudios ya sea de reproducibilidad o repetibilidad, intervalo analítico además se toma en cuenta si existe errores sistemáticos, interferencias, estabilidad de reactivos, deterioro de las muestras, etcétera.

2.5.2 Evaluación del sistema analítico

La evaluación del sistema analítico es la comprobación de que lo descrito por el fabricante se cumple; se debe realizar cada vez que se obtenga un nuevo analizador se introduzca un método y depende del entorno del laboratorio, los horarios de trabajo, los operadores, etcétera. Por esta razón es indispensable que los fabricantes o distribuidores proporcionen las especificaciones de sus equipos y sistemas.

2.5.2.1 Especificaciones básicas

Las especificaciones básicas se encuentran detalladas en el manual técnico del equipo de la siguiente manera: sistema de muestreo, sistema de aspiración y dispensación, suministro de energía eléctrica, requerimiento de agua, condiciones ambientales, sistema de reacción,

sistema de reactivos, unidad fotométrica, cubetas y tubos de muestras, especificaciones del sistema informático y códigos de barra.

Cada una de las especificaciones básicas descritas anteriormente cuenta con subcaracterísticas que tienen la misma importancia ya que van a ser indispensables al momento de realizar la calificación del equipo.

- Reactivos: se debe tomar en cuenta el método de preparación, volumen y forma de presentación, tipo de diluyentes, vida útil del reactivo, almacenamiento, número de lote, fecha de preparación, probabilidad de contaminación cruzada, etc.
- Calibración: se debe conocer el sistema de calibración, número mínimo y máximo de calibradores que acepta el equipo, niveles de concentración, tipo y frecuencia de calibración, controles de calibración con probabilidad de aceptación o rechazo de la misma, aceptación de calibraciones.
- Mantenimiento: se debe tomar en cuenta la frecuencia, duración etapas y autonomía, manual de instrucciones, capacitación del personal para realizar, solicitar listado de piezas de recambio recomendadas por el fabricante.

Se debe tomar en cuenta la vida útil propuesta para el sistema analítico, en años y horas de trabajo para el número de procesos analíticos diarios. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

2.5.2.2 Selección de equipos automáticos

Los responsables de los laboratorios deben seleccionar el equipo necesario, que cumpla los requisitos de su ámbito asistencial cuyos criterios van a variar en cuestión del tipo y finalidad de cada laboratorio.

La oferta actual del mercado puede dificultar la selección debido a la existencia de varias opciones de características y costos similares. Para la selección y decisión de compra se debe considerar algunos factores tales como:

Obtener la mayor información posible que permita la preselección de un número limitado de analizadores que se adapten a las necesidades del laboratorio. Existen dos etapas en esta fase:

- **Etapla evolutoria:** se analizan las características de calidad metrológica de los equipos seleccionados inicialmente.
- **Etapla de valoración en el campo de trabajo:** hace referencia a la practicabilidad, tipo de personal necesario, horario de funcionamiento y mantenimiento, consumos en material y recursos económicos, comunicaciones informática, eliminación y tratamiento de residuos.
- Valorarán las prestaciones del analizador en condiciones reales de trabajo. (Bedini,2008)

2.5.2.3 Evaluación de analizadores automáticos

La evaluación de los analizadores automáticos se debe realizar de una manera eficiente, tomando en cuenta las siguientes fases y características: (Mazziotta, D. Et al, 2005)

- Familiarización: se trabaja con un tipo de muestra o material control, los niveles deben estar dentro del valor de referencia del analito estudiado. Finaliza cuando el analista obtiene los resultados esperados y tiene la capacidad para resolver aspectos operativos.
- Preliminar: en esta se detecta anomalías en el equipo, se realizan estudios de repetibilidad y reproducibilidad y error relativo.
- Principal: se verifica si el analizador cumple con los requisitos de calidad analíticos deseables. Se evalúa específicamente errores aleatorios y sistemáticos.
- Evaluación de la practicabilidad: se realiza estudios de un conjunto de cualidades del equipo automatizado, los que van a demostrar la capacidad del analizador para mantener su calidad analítica.
- Infraestructura: se refiere a la dimensión y peso del analizador, toma y potencia eléctrica, necesidad de agua y consumo por hora, generación de ruido, etc.
- Operativa: hace referencia al estudio desde la puesta en marcha del analizador, procesamiento de muestras, identificación de la muestra, aspiración de muestra, reactivos, cubetas de reacción, velocidad de procesamiento, métodos, etc.

- Versatilidad y flexibilidad: valora características dependiendo de si el sistema analítico es abierto o cerrado.
- Control de seguridad: estudia principalmente control de calibración, forma que se evidencias las alarmas y tipos de alarmas que existen.
- Mantenimiento: lavados, suministros necesarios para el correcto funcionamiento, averías más frecuentes, etc.
- Formación de operarios: es necesario conocer sobre el tiempo de entrenamiento de los operadores para que estén aptos al trabajo con el analizador.
- Servicios del fabricante: es de mucha importancia sobretodo el grado de atención, prestaciones, calidad y tiempo de respuesta del soporte técnico y de aplicaciones del fabricante o concesionario. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

2.5.2.4 Evaluación de los módulos analíticos

Cada modulo analítico trabaja de forma independiente y se debe verificar su comportamiento individual, con el propósito de conocer su aporte a los distintos tipos de errores del proceso y tomar medidas para corregirlos.

- Módulo de termostatación: se evalúa error en la temperatura y el tiempo necesario para alcanzar equilibrio.
- Módulo de absorción UV – visible: se evalúa el número de longitudes de onda lo más cercanas a la que se empleará con frecuencia. Además se evalúa la zona crítica del cambio de espectro del UV al visible. Se toma en cuenta la existencia de posibles errores con la fuente lumínica: error de absorbancias en la longitud de onda de la luz difusa o parásita, de linealidad, de repetibilidad de las absorbancias, y y límite de detección espectrométrico.
- Módulo volumétrico de dilución y dispensación: considerado como principal fuente de error en las mediciones analíticas por la utilización de volúmenes muy pequeños y métodos muy sensibles.
- Módulo de lavado: se debe evitar los errores de contaminación de una determinación analítica sobre otra ya sea de la muestra como de los reactivos, solución de lavado o mezcla de reacción.

- Módulo de agitación: la evaluación del grado de eficiencia se realiza empleando soluciones de alta viscosidad.
- Módulo de protección de las muestras: los principales agentes que provocan deterioro en muestras dependiendo del tipo de constituyente y de la matriz son la luz, la difusión de gases y el ambiente inadecuado. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

2.5.3 Reactivos y materiales

Los reactivos y materiales tienen gran importancia después de haber realizado la selección del analizador, es muy importante la selección de reactivos y los materiales para asegurar el buen funcionamiento y desempeño del mismo.

2.5.3.1 Agua

En el laboratorio, el agua constituye el reactivo que se utiliza en mayor volumen por lo tanto se debe tomar en cuenta que de la calidad de agua que se emplee en los análisis dependerá también la calidad de los resultados.

Existen criterios unificados para definir el grado reactivo en base a diferentes normas dependiendo de la institución u organismo que establece los estándares, así la CAP (Comission on Laboratory Inspection and Accreditation of College of American Pathologists) se dedica específicamente al establecimiento de estándares o valores guía para la calidad del agua. (Medina, R. ET al, 2010). Los estándares establecidos determinan que la calidad de agua por conductividad es expresada en microsiemens por centímetro ($\mu\text{S}/\text{cm}$) que es una medida indirecta del contenido de sales en el agua, por lo tanto cuanto más desionizada está un agua menos es su conductividad y mayor su resistividad.

2.5.3.2 Tipos de agua según su grado reactivo

- Tipo I: usada para procedimientos que requieren de máxima exactitud y precisión, se utilizan en determinaciones muy exigentes como laboratorios de biología molecular.
- Tipo II: recomendada para la mayoría de pruebas analíticas y generales de laboratorio

- Tipo III: satisfactoria para algunas pruebas generales de laboratorio, y para la mayoría de análisis cualitativos. (Medina, R. ET al, 2010)

2.5.3.3 Características de productos químicos y reactivos

Los productos químicos que se utilizan en el laboratorio deben tener un grado de pureza que cumpla con los requerimientos del trabajo a realizar. Se entiende por pureza el porcentaje de compuesto que contiene el reactivo y se expresa porcentualmente.

La mayoría de los reactivos son fabricados para la ejecución de un método analítico de diagnóstico *in vitro*. Actualmente existen un sinnúmero de estuches comerciales para cada determinación a realizar, por lo cual es importante establecer criterios adecuados para su elección. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

La selección incluye algunos factores tales como:

- **Fiabilidad:** entendida como el conjunto de especificaciones analíticas que proporciona información clínicamente útil, se expresa como precisión, sesgo, exactitud, límite de detección, sensibilidad analítica y especificidad, vulnerabilidad de deterioro, control de calidad y calidad de las instrucciones. Esta información proporciona el fabricante y debe ser verificada.
- **Complejidad del método:** existen métodos simples de ejecución técnica sencilla que son más fáciles de adaptar al laboratorio; y métodos complejos que son propensos a tener error y van a requerir de mayor adiestramiento, atención y tiempo.
- **Costo:** es la principal característica que se debe tomar en cuenta seguida del tiempo y tipo de personal que requiere, tiempo de preparación de reactivos, control de calidad, calibración, mantenimiento del sistema, etc.
- **Servicio del fabricante:** las instrucciones deben ser claras y completas cuyo propósito sea ayudar y guiar al operador.

Se dará preferencia a reactivos que requieran menos grado de preparación o acondicionamiento previo a su uso. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

2.6 Selección de instrumentos

Se debe seleccionar cuidadosamente y tomando en cuenta las necesidades actuales y futuras de cada instrumento, para lo cual hay que realizar un estudio de requisitos analíticos y recursos disponibles.

Lo primero que se debe tomar en cuenta es la información acerca de los instrumentos o sistemas analíticos que el fabricante oferta; es fundamental comparar las especificaciones técnicas con prestaciones obtenidas en diferentes estudios de evaluación, que sean emitidas por entidades de prestigio.

El conocimiento previo del instrumento es fundamental, se recomienda probarlo en el propio lugar de trabajo (laboratorio) en esta etapa se debe considerar características como: robustez, rendimiento real, sesgo y precisión de las determinaciones analíticas. Además existen otras características que también hay que observarlas: condiciones de uso, facilidad de operación, mantenimiento por el usuario, etcétera.

Los instrumentos que se utilizan en el laboratorio de análisis clínico pueden ser de tipo auxiliar y de tipo analítico; la selección adecuada de estos es importante para garantizar los resultados de tal manera que en función del uso y de la influencia en las medidas que proporcionan es conveniente calibrarlos y someterlos a control periódico

A continuación se detallan algunos de estos instrumentos de acuerdo a su tipo:

- Instrumentación auxiliar: por ejemplo material volumétrico automático o no (pipetas, buretas) termómetros, balanzas, centrifugas, cronómetros, baños termostáticos, etc.
- Instrumentación analítica: en la mayoría de los casos proporcionan mediciones relativas y son instrumentos complejos analizadores automáticos, sistemas analíticos robotizados, espectrofotómetros, etcétera. (Dominguez, 2010)

2.6.1 Calibración analítica de instrumentos de medida

Los laboratorios que aplican un sistema de control de calidad deben demostrar que sus equipos e instrumentos son capaces de alcanzar prestaciones precisas además de cumplir las especificaciones pertinentes. Para ello cada laboratorio deberá establecer cuáles serán calibrados y se los incluirá en un programa de calibración y verificación de equipos e instrumentos.

La calibración de un instrumento debe detallar los valores de incertidumbre, la exactitud, la precisión y la corrección.

2.7 Parámetros de desempeño de un método analítico

Para demostrar cada uno de los parámetros requeridos, se deben aplicar protocolos publicados por Organismos reconocidos Internacionalmente en el ámbito de los Laboratorios Clínicos.

Cada uno de ellos difieren según el alcance del método de ensayo a validar, a su vez demuestran si el método escogido es adecuado para la aplicación que se requiere. Según la Guía para la validación de métodos de ensayo de la entidad mexicana de acreditación, los parámetros a determinar en el caso de química analítica, son:

- Veracidad
- Precisión (repetibilidad y reproducibilidad).
- Exactitud
- Linearidad.

Existen requerimientos de acuerdo al nivel de complejidad del método y de la naturaleza del ensayo ya sea cualitativo, cuantitativo o semicuantitativo. Después de evaluar los parámetros de desempeño, se comprueba la aptitud de los procedimientos que se van a utilizar, de esta manera se reflejan las condiciones reales de la aplicación del método.

El material de referencia, que se utilizará durante la validación, es indispensable para evaluar parámetros de desempeño analítico descritos por el fabricante; sus características aparecerán como anexo en el protocolo de validación

Existen métodos que requieren realizar calibraciones de los equipos analíticos y es necesario que el personal elabore su propio manual en el que consten especificaciones del buen funcionamiento del instrumento, el cual debe ir acorde a las recomendaciones del fabricante. Luego de lo cual se realiza el control de rutina. (ILAC, 2011)

2.7.1 Imprecisión

Para establecer la imprecisión se debe emplear un procedimiento de medición y con los resultados obtenidos se estima el valor del mesurando; es muy común que la estimación lleve un error de medida, el cual se produce por la diferencia entre el valor obtenido y el valor verdadero del mesurando.

En el proceso de medición existen dos componentes que afectan a la medición:

- El error aleatorio, relacionado con la precisión del procedimiento de medición y por lo tanto con la reproducibilidad. La imprecisión se representa en términos de desviación estándar.
- El error sistemático se relaciona con la veracidad del procedimiento de medida.

La suma del error aleatorio y del sistemático, proporcionan el sesgo de una medición

Para establecer la imprecisión y la veracidad se debe realizar las mediciones respectivas y los cálculos estadísticos como: media, desviación estándar, coeficiente de variación y la varianza. (EMA, 2008)

2.7.2 Linealidad

Antes de evaluar la linealidad se deben establecer los resultados máximos y mínimos que pueden ser reportados, y si estos se encuentran dentro del intervalo analítico implementado por el laboratorio.

Se deben confirmar los valores de linealidad emitidos por el fabricante con alguna evidencia objetiva, con esto se demostrará que los valores reportados por el laboratorio después de utilizar el mismo procedimiento de medición muestran un comportamiento lineal.

Para llevar a cabo esta comprobación se necesita ya sea una serie de: muestras o diluciones de concentración conocida además de ser altamente concentradas. Las mediciones son comparadas con los valores asignados de cada dilución. Los resultados se obtienen al trazar una línea recta que toque la mayor cantidad de puntos; estos puntos deben ser de decisión clínica, es decir valores de concentraciones donde el médico decide si administra o no algún tratamiento terapéutico (EMA, 2008)

2.7.3 Comparación de Métodos

Sirve para estimar la inexactitud o error sistemático del método utilizado, se lleva a cabo analizando muestras de pacientes por el método en estudio y por un método de comparación, el mismo que debe ser seleccionado cuidadosamente, debido a que la interpretación final de los resultados se basa en haber asumido que este sea correcto.

Como método de comparación es recomendable elegir uno de referencia; cuando existan diferencias entre el método de prueba y el de comparación se dice que los dos métodos tienen relativamente la misma veracidad. Si la diferencia es grande y medicamente inaceptable se debe identificar cuál método es inexacto.

Las diferencias observadas entre los resultados de la comparación de métodos lleva a detectar la presencia de error sistemático basado en las diferencias observadas entre los métodos. (EMA, 2008)

2.7.4 Veracidad

Se relaciona específicamente con la presencia de errores de tipo sistemático conocido como sesgo, el cual se expresa como un valor absoluto o relativo al valor verdadero.

Para evaluar la veracidad es necesario disponer del valor verdadero del mesurando que se va a medir, por lo tanto se debe contar con un valor de referencia certificado. Este término se ha utilizado por algún tiempo y su finalidad es indicar el desplazamiento de un resultado con respecto a su valor de referencia tomando en cuenta los efectos aleatorios como también los sistemáticos. (EMA, 2008)

2.7.5 Incertidumbre

Con la utilización de procedimientos adecuados para el propósito, se obtendrá resultados trazables con un apropiado nivel de incertidumbre. Estos pueden agruparse de acuerdo a lo establecido por Joint Commite for Trazability on Laboratory Medicine (JCTM).

Hay que recordar que al realizar la verificación de un método analítico, esta debe incluir la estimación de la incertidumbre de la medición. En los siguientes casos:

- Cuando el método de medición se ha validado dentro del laboratorio: se debe considerar la incertidumbre descrita en el material de referencia y la incertidumbre de la medición.
- Cuando existan datos provenientes de mediciones de control de calidad interno (CCI): Se realiza de la misma forma que lo descrito anteriormente.
- Cuando se hayan realizado pruebas interlaboratorios, para determinar parámetros de desempeño: el organizador debe informar un valor del índice de desviación o varianza, este se utiliza para calcular el valor de la incertidumbre de medición. (Maroto, A. Et al, 2009).

2.8 Marco conceptual

Acreditación: procedimiento mediante el cual un organismo autorizado reconoce formalmente la competencia técnica de una organización para la realización de determinada actividad de evaluación de la conformidad. (OAE, 2011)

Analíto: espécimen de interés a determinar en un análisis. (OAE, 2011)

Aseguramiento de calidad: conjunto de actividades planificadas y sistemáticas que son necesarias para garantizar un nivel continuo de la calidad tanto del producto como del servicio, proporcionado de acuerdo con los requisitos establecidos de calidad. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Automatización: tecnología relacionada con la aplicación de sistemas mecánicos, electrónicos y basados en computadora para ejecutar y controlar procesos. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Calibración: procedimiento en el que se relaciona una lectura con la magnitud que se desea medir. (OAE, 2011)

Calidad: conjunto de características de un producto o servicio que sirven para satisfacer las necesidades o expectativas de un cliente. (OAE, 2011)

Certificación: procedimiento mediante el cual un organismo da garantía por escrito, de que un producto, un proceso o un servicio está conforme a los requisitos especificados (normativa). (OAE, 2011)

Control de calidad analítica: actividades planificadas y ejecutadas para evaluar la calidad de los resultados analíticos. (OAE, 2011)

Desviación estándar: es la medida más común de dispersión, determina qué tan dispersos están los valores en una colección de datos. (OAE, 2011)

Desviación/ sesgo: error sistemático de un proceso de medición. (EMA, 2008)

Efectividad: capacidad de lograr el cumplimiento de un objetivo determinado en condiciones habituales. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Eficacia: capacidad de lograr el cumplimiento de un objetivo determinado en condiciones ideales. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Eficiencia: relación entre los resultados alcanzados y los recursos utilizados. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Ensayo cuantitativo: presenta una cifra sobre la escala de mediciones, sus límites de medición alta y baja son conocidos y están en relación directa con una cantidad o actividad correspondiente al analito que se mide. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Ensayo/ prueba: determinación de una o varias características, que van acorde con un procedimiento. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Error aleatorio: es el que se debe a causas accidentales difíciles de determinar y que pueden influir en el resultado en cualquier sentido. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Error máximo permitido: el tomado como referencia en el nivel de calidad de confianza definido por el laboratorio: mínimo, deseable u optimo al 95% o al 99% de confianza. El laboratorio define su meta de calidad. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Error sistemático: es debido a una misma causa que se repite siempre de igual manera, fácil de identificar y va influenciar en el resultado siempre en el mismo sentido. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Error total: es un procedimiento analítico que en condiciones estables es la suma de un error sistemático y otro aleatorio. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Exactitud: grado de aproximación entre el resultado de una medición y el valor verdadero. Es un término cualitativo. (OAE, 2011)

Incertidumbre: parámetro asociado al resultado de una medida, que caracteriza el intervalo de valores que pueden ser razonablemente atribuidos al mesurando. (OAE, 2011)

Interferencias: aquella sustancia que causa un tipo de error en la determinación del analito de una magnitud igual o superior a un valor establecido que evita su posible identificación. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Intervalo de medición: rango en el cual el analizador puede realizar mediciones confiables y precisas, es decir, la distancia entre el instrumento y el punto máximo en que se logran mediciones confiables y precisas. (EMA, 2008)

Instrumento: herramienta indispensable para realizar síntesis y análisis en el ámbito de los diversos trabajos de laboratorio, tiene que proporcionar resultados de medición precisos, tener una larga durabilidad y garantizar un manejo seguro al usuario. Comprobado y dotado de certificados de calibración según normativa ISO 15189: 2009. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Índice de desviación estándar: es de utilidad para evaluar el desempeño de un laboratorio; usualmente obtenido por participación del laboratorio en un programa de calidad externo, en el que compara los resultados del laboratorio con los resultados de un grupo análogo. (EMA, 2008)

Límite de cuantificación: concentración mínima que puede determinarse con un nivel aceptable de exactitud. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Límite de detección: cantidad más pequeña de analito en una muestra y puede ser detectada por una única medición, con nivel de confianza determinado. No necesariamente cuantificada. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Linealidad: habilidad del método analítico de obtener resultados de prueba, que sean directamente proporcionales a la concentración de analito en la muestra. (EMA, 2008)

Material de referencia: sus valores son suficientemente homogéneos y definidos, para permitir su uso en la calibración de un instrumento, evaluación de un método o atribución de valores a otros materiales. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Medición: conjunto de operaciones que permiten determinar el valor de una magnitud. (OAE, 2011)

Muestra de control: sustancia estable y homogénea cuyas propiedades fisicoquímicas y comportamiento son similares a la de los especímenes o muestras. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Norma: documento establecido por consenso, aprobada por una organización reconocida que fija, para su uso común y repetitivo las reglas características y directrices de actividades o resultados con el fin de lograr un grado óptimo del método. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Precisión: grado de concordancia entre los valores obtenidos de una serie repetida de ensayos, utilizando una muestra homogénea, bajo condiciones establecidas. (OAE, 2011)

Procedimiento: pasos o actividades que se deben seguir para ejecutar los procesos. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Proceso: conjunto de actividades relacionadas entre sí, las cuales transforman elementos de entrada en resultados. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Repetibilidad: grado de concordancia entre resultados de sucesivas mediciones del mismo mensurando, mediciones efectuadas con aplicación de la todos y las mismas condiciones de medida. (OAE, 2011)

Reproducibilidad: grado de concordancia entre los resultados de las mediciones del mismo mensurando, mediciones efectuadas bajo diferentes condiciones de medida. (OAE, 2011)

Robustez: mide la capacidad de un procedimiento analítico de no afectarse por pequeñas variaciones en los parámetros del método. Provee indicaciones de su fiabilidad en condiciones de uso normales. (OAE, 2011)

Sistema de gestión de calidad: conjunto de la estructura de la organización, de responsabilidades, de procesos, procedimientos y recursos. Su principal objetivo es satisfacer al cliente y procesos de mejora continua. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Trazabilidad: propiedad del resultado de una medición (o del valor patrón) que lo relaciona con referencias establecidas mediante una cadena interrumpida de comparaciones, cada una de las cuales añade incertidumbre. (OAE, 2011)

Validación: confirmación mediante el suministro de evidencia objetiva, que se ha cumplido los requisitos del método para una utilización o aplicación específica prevista. (OAE, 2011)

Valor verdadero: es el valor real de una magnitud. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Valores de Referencia: cantidad con la que se compara el valor observado con finalidades interpretativas. (Mazziotta, D. Et al, 2005)

Verificación: confirmación mediante la aportación de evidencia objetiva que se han cumplido los requisitos especificados para un método, se evalúa el desempeño del método para demostrar que cumple con los requisitos para su uso previsto. (OAE, 2011)

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1 Tipo de estudio

El presente estudio es de tipo descriptivo transversal cuya finalidad es verificar el desempeño analítico del método enzimático glucosa hexoquinasa para la cuantificación de glucosa sérica y la validación realizada por el fabricante

3.2 Muestras biológicas, material de control y referencia

Para evaluar algunos parámetros de desempeño tales como precisión y linealidad se utilizaron muestras séricas que fueron escogidas al azar acorde a los valores de concentración críticos descritos por fuentes bibliográficas.

Se utilizó material control normal PreciControl Clin Chem Multi 1, es suero humano liofilizado, de la casa comercial Roche Diagnostics, lote 166632-01, fecha de caducidad 2014/09 y patológico PreciControl Clin Chem Multi 2, es suero humano liofilizado, de la casa comercial Roche Diagnostics, lote 167262-01, con fecha de caducidad 2014/09.

Además material de referencia certificado RIQAS, de la casa comercial Randox, lote CH 09, fecha de caducidad 2014/12.

3.3 Operalización de variables

Tabla 1 Variables principales de la investigación

VARIBLE PRINCIPAL	CONCEPTO	CATEGORIA	INDICADOR
Resultados Clínicamente útiles	Un diagnóstico certero tomando en cuenta la precisión y confiabilidad de los resultados proporcionados por el laboratorio clínico que permitan al especialista tomar decisiones para el tratamiento del paciente	Control de Calidad Interno (CCI).	<u>CLIA '88</u> ± 6 mg/dL ó ± 10%
		Control de Calidad Externo (CCE).	<u>SDI</u> 1.6

*CLIA '88 Error Total Máximo Permitido

*SDI Control Calidad Externo MLE

FUENTE: Investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

Tabla 2 Variables secundarias de la investigación

VARIBLE SECUNDARIA	CONCEPTO	CATEGORÍA	INDICADOR						
IMPRECISIÓN	Grado de concordancia entre los valores de una serie repetida de ensayos utilizando una muestra homogénea bajo condiciones establecidas.	*Repetibilidad.	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Control</th> <th>C.V(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Precinorm U</td> <td>≤1.0</td> </tr> <tr> <td>Precipath U</td> <td>≤0.9</td> </tr> </tbody> </table>	Control	C.V(%)	Precinorm U	≤1.0	Precipath U	≤0.9
		Control	C.V(%)						
		Precinorm U	≤1.0						
		Precipath U	≤0.9						
*Reproducibilidad	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Control</th> <th>C.V(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Precinorm U</td> <td>≤1.3</td> </tr> <tr> <td>Precipath U</td> <td>≤1.1</td> </tr> </tbody> </table>	Control	C.V(%)	Precinorm U	≤1.3	Precipath U	≤1.1		
Control	C.V(%)								
Precinorm U	≤1.3								
Precipath U	≤1.1								
LINEALIDAD	Habilidad del método analítico de obtener resultados de prueba, que sean directamente proporcionales a la concentración de analito en la muestra.	*Intervalo de medición.	<p>11.25 – 629 mg/dL</p> <p>r = 1.00</p>						
INVERACIDAD	Grado de aproximación entre el resultado de una medición y el valor verdadero. Es un término cualitativo.	Error Relativo % Recuperación % Sesgo Error Sistemático	<p>2.66 %</p> <p>< 100 %</p> <p>3%</p> <p>3%</p>						

*Repetibilidad y Reproducibilidad: inserto del fabricante.

*Linealidad: valores obtenidos en el ensayo.

*Error relativo: valor obtenido en el ensayo.

*Sesgo: inserto del fabricante

FUENTE: Investigación
 ELABORACION: Lesly Ruiz

3.4 Plan de análisis de datos

Los datos se ingresaron en hojas de cálculo de Microsoft Office Excel versión 2010, se elaboró un formato de acuerdo a cada parámetro de desempeño evaluado. Posteriormente se realizaron cálculos como: media (\bar{x}), desviación estándar (DS), coeficiente de variación (CV %), ecuación de regresión de la recta método de mínimos cuadrados, gráficos estadísticos, porcentaje de: error relativo, recuperación, error aleatorio, error sistemático y sesgo. Además de la determinación de la incertidumbre para la medición de glucosa en el laboratorio.

Todos estos cálculos fueron indispensables para comparar e interpretar los valores obtenidos con los establecidos por el fabricante u organismos reguladores de requisitos de calidad en el laboratorio clínico.

3.5 Materiales y métodos

3.5.1 Metodología de análisis

El método de análisis se realizó acorde a la guía de validación y verificación de procedimientos de exámenes cuantitativos empleados por el laboratorio clínico, establecida por la EMA (2008).

3.5.2 Equipo

Para efectuar las mediciones se utilizó el analizador de química sanguínea Cobas c 311 de Roche Diagnostics, el mismo que estuvo en óptimas condiciones de funcionamiento, es decir cumplió con todas las especificaciones descritas en el manual técnico, las que se analizaron minuciosamente al realizar la calificación del equipo. (Ver Anexo 2).

3.5.3 Preparación de muestra control

- Ampollas de agua bidestilada.
- Puntas para pipeta.
- Pipeta calibrada (100 – 1000 μ L).
- PreciControl Clin Chem Multi 1, control normal, suero humano liofilizado, de la casa comercial Roche, lote 166632-01 y fecha de caducidad 2014/09
- PreciControl Chem Multi 2, control patológico, suero humano liofilizado, de la casa comercial Roche, lote 167262-01 y fecha de caducidad 2014/09.
- Tubos eppendorf.
- Cronómetro.
- Gradilla.

Para la reconstitución se siguió el protocolo descrito por el fabricante:

- Se abrió el frasco cuidadosamente y se pipeteó 5 ml de agua bidestilada, se disolvió el contenido completamente en un lapso de 30 minutos. Se debe evitar la formación de espuma.
- Antes de alicuotar se rotuló: nombre del control es decir Multi 1 o Multi 2 con su respectivo número de lote, fecha de elaboración y de caducidad.
- Para cada alicuota se pipeteó 300 μ L en diferentes tubos eppendorf Multi 1 y Multi 2.
- Finalmente se llevó a congelación (- 15 a -25 °C).

3.5.4 Preparación de calibrador

- Ampollas de agua bidestilada.
- Puntas para pipeta.
- Pipeta calibrada (100 – 1000 μ L).
- Calibrador C.e.f.a.s. de la casa comercial Roche, lote 170858 - 02 y fecha de caducidad 2015/01
- Tubos eppendorf.

Para la reconstitución se siguió el protocolo descrito por el fabricante

- Se abrió el frasco cuidadosamente y se pipeteó 5 ml de agua bidestilada, el contenido se disolvió completamente en un lapso de 30 minutos. Se debe evitar la formación de espuma.
- Antes de alicuotar se rotuló: nombre C.e.f.a.s, con su respectivo número de lote, fecha de elaboración y caducidad.
- Al alicuotar se pipeteó 300 μ L en diferentes tubos eppendorf.
- Finalmente llevar a congelación (- 15 a -25 °C)

3.5.5 Reactivo glucosa hexoquinasa GLUC3

- Casette GLUC3 de la casa comercial Roche, lote 00692565, fecha de caducidad 2015/02, presentación x 800 test.
- Antes de utilizar se debe verificar la temperatura de almacenamiento (8 a 10° C). Inmediatamente se sacó el cassette del refrigerador y se cargó en el equipo Cobas c 311. (Ver Anexo 4).

3.5.6 Preparación pool de sueros:

Suero de pacientes:

Se seleccionaron muestras séricas del día ya procesadas con concentraciones dentro del rango de referencia para glucosa sérica. Se pipeteó 200 µL de cada muestra en copas, necesarias para el ensayo de precisión. (Ver Anexo 10).

3.5.7 Muestras de estudio

- Suero de pacientes que acudieron al laboratorio clínico Central del IESS y que fueron analizados para glucosa sérica.
- Gradilla.
- Programa informático DataLab.
- Se seleccionaron las muestras de acuerdo a los niveles de decisión médica correspondientes a glucosa sérica, los cuales se encuentran detallados en Medical Decision Levels (Westgar QC,2009).
- Para la búsqueda de las mismas se utilizó el software del laboratorio clínico DataLab, en el cual se ingresó el código del analito y se encontraron muestras con niveles de concentración altos que se les separó en otra gradilla.
- Cada muestra estuvo etiquetada con la fecha y el número de paciente, de esta manera fue fácil ubicarlas en la refrigeradora de almacenamiento. Se tomó en cuenta el registro de preservación de muestras ya que indica la fecha de entrada y salida de las muestras ya procesadas. (Ver Anexo 5)

Después de conseguir las muestras, se congelaron de (-10 a -20° C) para efectuar los ensayos correspondientes.

3.6. Precisión del método

Se utilizó material control normal (Clin Chem Multi 1), patológico (Clin Chem Multi 2), además de suero de pacientes con valores de referencia de glucosa sérica.

Antes de realizar el ensayo de precisión, se tomó en cuenta que tanto en el mantenimiento del equipo como en el paso de controles no haya existido ningún tipo de error. (Ver Anexo 3).

El protocolo que se siguió para la evaluación de precisión fue el descrito por la EMA; se realizó el examen con:

- **Muestras control** de valor desconocido analizado por 20 veces (intracorrída) de la siguiente manera: se determinó 4 lecturas de la concentración del material control normal (PreciControl Clin Chem Multi 1) y 4 del patológico (PreciControl Clin Chem Multi 2) durante 5 días. (Ver Anexo 10).

Los datos obtenidos en el ensayo se introdujeron en el programa Excel 2010, se tabularon las concentraciones por día, para obtener las estadísticas: media, desviación estándar y coeficiente de variación interdía que posteriormente se compararon con los valores descritos por el fabricante.

- **Pool de sueros** de valores conocidos, analizado 20 veces (interdía). (Ver Anexo 10).

Las concentraciones obtenidas se tabularon en el programa de Excel 2010, para obtener la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación, que se compararon con los valores descritos por el fabricante.

3.7 Linealidad del método

Para el ensayo de linealidad se utilizaron sueros de pacientes cuyas concentraciones de glucosa estuvieron dentro de los niveles de decisión clínica. (Ver Anexo 10)

Antes de realizar el ensayo, se debe asegurar que tanto el mantenimiento del equipo como el paso de controles no tenga errores. (Ver Anexo 3)

Además se prepararon diluciones utilizando agua bidestilada de acuerdo a la EMA. (Ver Tabla 3).

Tabla 3 Preparación de diluciones

Número de dilución	Porción en volumen de la muestra 1	Porción en volumen de la muestra 2
1	Usar sin diluir	0
2	3	1
3	2	2
4	1	3
5	0	Usar sin diluir

Fuente:EMA, 2008

Por cada dilución se realizaron 4 mediciones; para calcular el volumen total de cada dilución se debe tomar en cuenta el volumen muerto del equipo (descrito en el manual de operaciones). Se realizaron las mediciones de cada dilución y se tabularon los resultados en el programa Microsoft Excel 2010 obteniéndose la media para cada dilución, de la siguiente manera, (Ver Tabla 4).

Tabla 4 Resultado de la concentración de la dilución respectiva

Número de dilución	Resultados de la concentración o de la actividad			Media
	1	2	3	
1				
2				
3				
4				
5				

Fuente: EMA, 2008

A partir de estos datos se efectuó un análisis estadístico determinando: la ecuación de la recta de regresión, la representación gráfica de la recta de regresión, el coeficiente de correlación y el análisis de variancia para la regresión lineal.

3.8 Comparación de métodos

Para la comparación de métodos se utilizó material control normal (Clin Chem Multi 1) y patológico (Clin Chem Multi 2). (Ver Anexo 7 y 8)

Antes de realizar el ensayo se debe asegurar que tanto el laboratorio de estudio (Dispensario Central IESS) como en el que se va a llevar a cabo la comparación (Dispensario IESS Chimbacalle), el paso de controles no haya tenido ningún tipo de errores.

Se utilizó la misma muestra del ensayo de linealidad, de esta se hicieron 8 alicuotas y se pipetearon 200 µL en cada copa, que fueron rotuladas respectivamente; 4 se refrigeraron (2 a 10 °c) en el laboratorio clínico del Dispensario Central IESS y las sobrantes se transportaron al laboratorio clínico del Dispensario IESS Chimbacalle, utilizan equipo Roche cobas c 311 y método enzimático para determinación de glucosa hexoquinasa.(Ver Anexo 10).

- **Transporte de muestras:** se trasladaron las muestras en un cooler a una temperatura de 4 °C.

Las muestras se procesaron al mismo tiempo en los dos laboratorios, las mediciones de la concentración fueron de cada dilución respectivamente.

Los datos obtenidos se introdujeron en el programa Microsoft Office Excel 2010, se tabularon las concentraciones obtenidas por los 2 laboratorios. El análisis de datos consistió en graficar y comparar los datos colectados con la finalidad de identificar discrepancias entre el método de prueba y el de comparación.

3.9 Valoración de veracidad por un material de referencia certificado

Antes de realizar el ensayo, se aseguró que tanto el mantenimiento del equipo como el paso de controles no tuvo tipo de error. (Ver Anexo 3)

Para este ensayo se utilizó material de referencia certificado, se alicuotó 1000 µL en una copa identificada correctamente. (Ver Anexo 9).

Se realizó 10 lecturas de la concentración del material de referencia. Posteriormente se ingresaron los datos en el programa Microsoft Excel 2010 para ser tabulados. Se realizó cálculos estadísticos como: media, coeficiente de variación, porcentaje de error relativo y porcentaje de recuperación. Los resultados fueron comparados con el valor verdadero del material de referencia para conocer si existen errores en el método de estudio

3.10 Evaluación de veracidad utilizando comparación de métodos

Para determinar la veracidad de un método analítico se utilizó los valores obtenidos en el análisis de comparación de métodos. Se elaboró una tabla con datos y cálculos estadísticos se obtuvo el valor del sesgo de la muestra en unidades convencionales y en porcentaje. (Ver Tabla 5).

Tabla 5 Validación del intervalo reportable

Día	Número de muestra	Resultado método de prueba	Resultado método de comparación	b_i	$b_i - \bar{b}$	$(b_i - \bar{b})^2$	$\%b_i$	$\%b_i - \overline{\%b}$	$(\%b_i - \overline{\%b})^2$

Fuente: EMA, 2008

Los valores se compararon con el error permitido para la prueba, de esta manera se pudo conocer si los métodos fueron consistentes (aceptados) de acuerdo a lo declarado por el fabricante.

Otra forma de evaluar la veracidad fue calculando el valor del sesgo en niveles de decisión médica para lo cual fue necesario conocer si existe algún tipo de error sistemático por medio de los valores de coeficiente de correlación y de la ecuación de la recta de regresión del experimento de comparación de métodos. Los resultados obtenidos (porcentaje de error) se compararon con el valor proporcionado por el fabricante.

3.11 Evaluación de Incertidumbre con el uso de valores de control interno y externo

La incertidumbre es un parámetro no negativo que caracteriza la dispersión de los valores atribuidos a un mesurando a partir de la información que se utilizó. (EMA, 2008)

Para obtener el valor de la incertidumbre de medición fueron indispensables los valores tanto del ensayo de aptitud como del programa de control interno del laboratorio. Los ensayos de aptitud reportan el valor de índice de desviación (ID) o índice de varianza, que es el sesgo respecto al valor considerado como verdadero. (EMA, 2008)

Los resultados de control de calidad interno del último mes, dan un valor de desviación estándar. Estos datos se ingresaron en el programa Microsoft Excel 2010 para calcular el ECM (error cuadrático medio) correspondiente a glucosa, aplicando la fórmula descrita por el EMA. El resultado obtenido tendrá un valor de confianza correspondiente al 95%

$$ECM = \sqrt{b^2 + s^2}$$

Fuente: EMA, 2008

Donde b^2 es el índice de desviación del ensayo de aptitud y s^2 son los datos de la desviación estándar conseguid por el control de calidad interno

CAPITULO IV

RESULTADOS

Los resultados obtenidos para cada uno de los parámetros de desempeño analítico del método enzimático glucosa- hexoquinasa (GLUC3) de Roche en el proceso de verificación de los mismos, fueron los detallados a continuación:

4.1. Linealidad

La prueba de linealidad involucra una serie de muestras de concentración conocida o una serie de diluciones conocidas de muestras altamente concentradas. Los valores de los ensayos reportados son comparados con los valores asignados o los valores de dilución. En este estudio se tomaron en cuenta siete niveles de concentración de glucosas previamente diluidas, de cada una se midió la concentración por triplicado (Valor obtenido). Los promedios obtenidos se detallan en la Tabla 6.

Tabla 6 Evaluación de linealidad del método

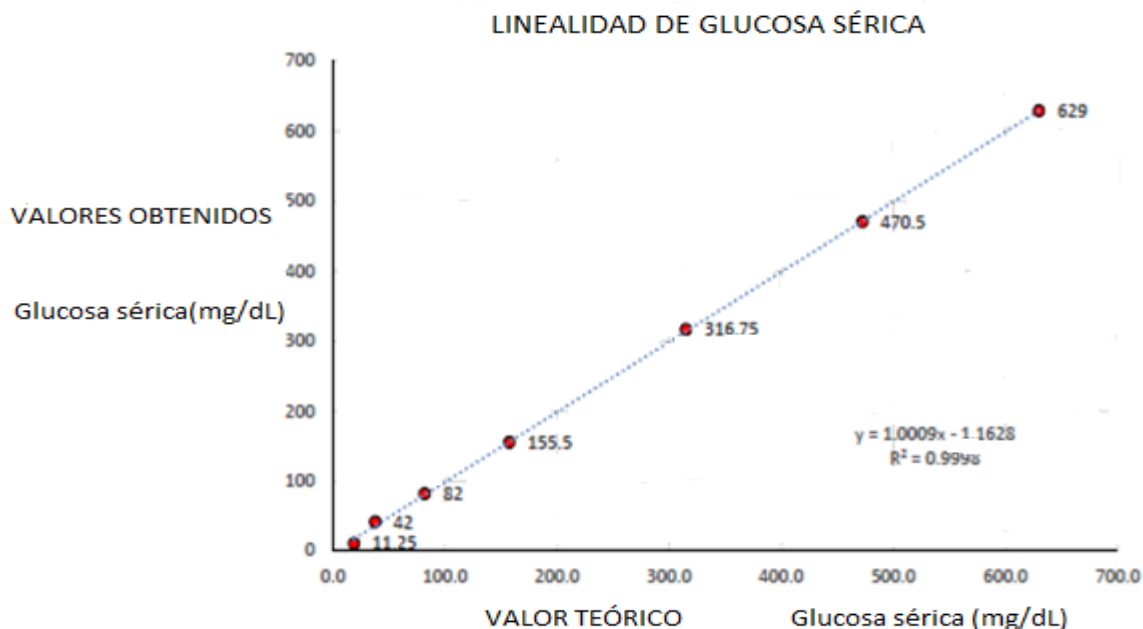
DILUCIÓN	Glucosa sérica	
	VALOR TEÓRICO mg/dL	VALOR OBTENIDO mg/dL
L1	630,0	629,00
L2	472,5	470,50
L3	315,0	316,75
L4	157,5	155,50
L5	81,9	82,00
L6	37,8	42,00
L7	18,9	11,25

FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

Con estos datos se graficó la recta en función a las concentraciones del valor teórico con las escalas apropiadas para cada media del valor obtenido. Al procesar estadísticamente los resultados, se obtuvo la linealidad del método analítico. (Gráfico 2)

Gráfico 2 Evaluación de linealidad del método



FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

Cada punto de la gráfica es el promedio de la concentración de los valores obtenidos para cada dilución; con los datos obtenidos se realizó una regresión lineal simple a través de mínimos cuadrados obteniéndose la siguiente ecuación lineal: $y = 1.0009x - 1.1628$. Siendo y la concentración de glucosa sérica observada y x la concentración de glucosa sérica teórica.

El coeficiente de correlación (r) fue de 0,999 que indica una correlación positiva perfecta a los diferentes valores observados y teóricos. El ajuste del modelo es muy bueno, ya que el valor del coeficiente de determinación (R^2) es de 0,999 es cercano a 1, es decir que el 99,99% de la variación total de la variable Y está explicada por la variable X de esta manera se demuestra un modelo de regresión ajustado.

De acuerdo a los resultados obtenidos por el método enzimático de Glucosa Hexoquinasa (GLUC 3) – Roche realizado en el autoanalizador Cobas c-311 puede considerarse lineal en las concentraciones obtenidas y de acuerdo a los criterios de aceptación de la EMA.

4.2. Precisión

Se obtuvieron las desviaciones estándar y coeficientes de variación de los controles utilizados que se pueden apreciar en las Tablas 7 y 8:

Tabla 7 Evaluación de precisión del método. PreciControl Clin Chem Multi 1

Concentraciones de glucosa (mg/dL)	102	103	103	103	103
	103	104	103	104	103
	103	104	104	104	103
	104	104	105	105	104
Promedio Día (mg/dL)	103,00	103,80	103,80	104,00	103,30
Promedio interdía (mg/dL)			103,60		
DS. Día (mg/dL)	0,82	0,50	0,96	0,82	0,50
DS. Interdía (mg/dL)			0,76		
CV. Día (%)	0,79	0,48	0,92	0,79	0,48
CV. Interdía (%)			0,73		

FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

Tabla 8 Evaluación de precisión del método. PreciControl Clin Chem Multi 2

Concentración de Glucosa (mg/dL)	245	244	245	244	244
	246	245	246	245	245
	246	245	246	246	246
	247	246	247	246	247
Promedio Día (mg/dL)	246,00	245,00	246,00	245,30	245,50
Promedio Interdía			245,60		
DS. Día (mg/dL)	0,82	0,82	0,82	0,96	1,29
DS. Interdía (mg/dL)			0,94		
CV. Día (%)	0,33	0,33	0,33	0,39	0,53
CV. Interdía (%)			0,38		

FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

La desviación estándar interdía fue de 0,76 (mg/dL) y un coeficiente de variación 0,73% para el material control M1 y una desviación estándar interdía de 0,94 (mg/dL), con un coeficiente de variación 0,38 % para el control M2 (Ver Tabla 7 y 8).

De acuerdo a estos resultados la imprecisión del método de glucosa hexoquinasa utilizado en el laboratorio del Dispensario Central IESS y trabajado en el autoanalizador Cobas c-311 es menor a los establecidos por el fabricante. Al evaluar el promedio de coeficiente de variación día e interdía de los dos materiales, la imprecisión es similar a las condiciones de repetibilidad y reproducibilidad establecidos por el fabricante (Ver Tabla 9 y10).

Tabla 9 Tabla 9 Criterio de aceptabilidad precisión PreciControl Clin Chem Multi 1

PRECISIÓN	REQUISITO FABRICANTE	PreciControl Chem Multi 1	MENOR FABRICANTE	DECISIÓN
REPETIBILIDAD	1%	0,69% ⁽¹⁾	SI	ACEPTADO
PRECISIÓN INTERMEDIA	1,30%	0,73% ⁽²⁾	SI	ACEPTADO

(1) Promedio del coeficiente de variación día.

(2) Coeficiente de variación inter día.

FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

Tabla 10 Criterio de aceptabilidad precisión PreciControl Clin Chem Multi 2

PRECISIÓN	REQUISITO FABRICANTE	PreciControl Chem Multi 2	MENOR FABRICANTE	DECISIÓN
REPETIBILIDAD	0.9%	0,38% ⁽¹⁾	SI	ACEPTADO
PRECISION INTERMEDIA	1,10%	0,36% ⁽²⁾	SI	ACEPTADO

(1) Promedio del coeficiente de variación día.

(2) Coeficiente de variación inter día.

FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

4.3. Evaluación de la veracidad de un método analítico utilizando el cálculo de error relativo y porcentaje de recuperación

La veracidad demuestra el grado de concordancia que existe entre la media aritmética de diez datos de resultados y el valor verdadero o aceptado como referencia. Esta se relaciona con la presencia de errores de tipo sistemático también llamado sesgo o desviación.

Al evaluar este parámetro se evidencia la relación existente entre las concentraciones medidas de un material de referencia certificado CH-9 y el valor verdadero. (Ver Tabla 11).

Se obtuvo un error relativo del 2,66%, es decir que no es significativo el margen de error obtenido en el procedimiento de medida. Entre menor es el error relativo mayor es la veracidad del método, más se acerca al valor considerado como verdadero.

El porcentaje de recuperación fue del 97,41%, aceptable al encontrarse dentro del intervalo establecido ($100\% \pm 3\%$), es decir que existe menor cantidad recuperada del analito cuantificado. (Ver Tabla 11)

Tabla 11 Evaluación de la veracidad del método de acuerdo al error relativo y porcentaje de recuperación

MATERIAL UTILIZADO	CH-9
GLUCOSA VALOR VERDADERO (mg/dL)	142,8
GLUCOSA VALOR OBTENIDO (mg/dL)	147,0
	146,0
	147,0
	146,0
	146,0
	147,0
	147,0
	146,0
	147,0
PROMEDIO (mg/dL)	146,6
D.ESTANDAR (mg/dL)	0,52
CV (%)	0,35
ERROR RELATIVO (%)	2,66⁽¹⁾
% RECUPERACION	97,41⁽²⁾

(1) $(\text{val. Verdadero} - \text{promedio val. medida}) / \text{val. verdadero} \times 100$

(2) Resultado del cociente del promedio de concentraciones obtenidas y el valor verdadero.

FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

4.4 Evaluación de la veracidad de acuerdo a la comparación de dos métodos analíticos

Para la evaluación del método empleado por el IESS Chimbacalle se tomaron en cuenta algunas características similares a las del IESS Central:

- Analizador Cobas c- 311
- Método Glucosa Hexoquinasa
- Curvas de control de calidad interno a niveles normal y patológico sin errores
- Participación ensayos interlaboratorios con calificación satisfactoria

Con las características mencionadas se procedió a evaluar la veracidad comparando dos métodos analíticos similares de Glucosa Hexoquinasa, los promedios de concentración de cada nivel de dilución en los dos laboratorios, se detalla en la Tabla 12.

Tabla 12 Evaluación de la veracidad de acuerdo a la comparación de dos métodos de Glucosa Hexoquinasa

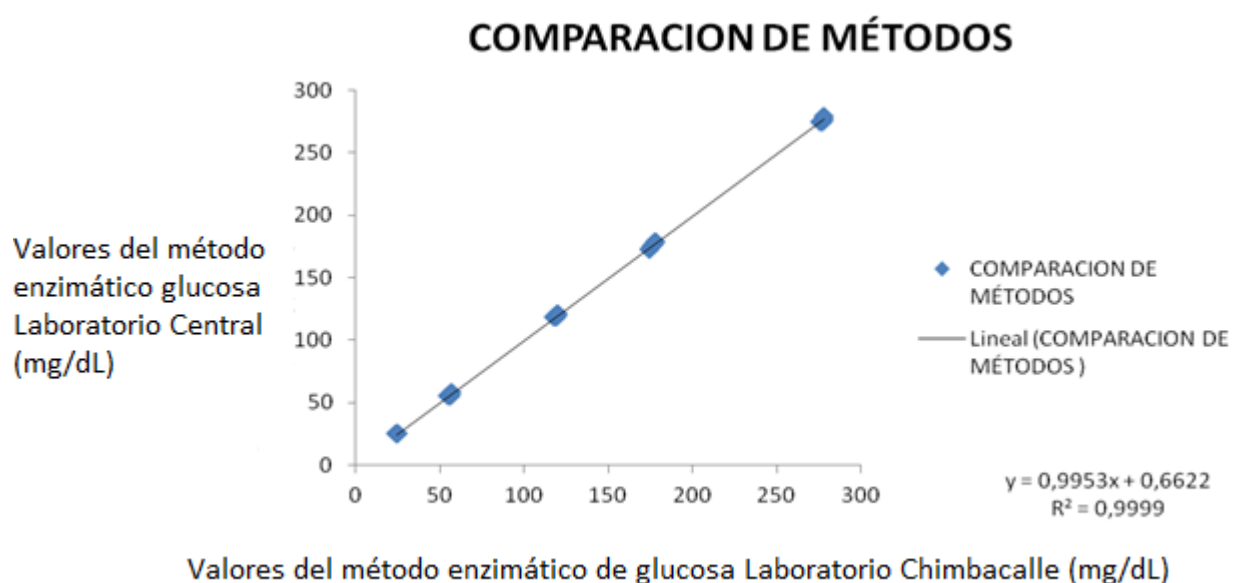
LABORATORIO CENTRAL IESS Glucosa (mg/dL)					LABORATORIO CHIMBACALLE IESS Glucosa (mg/dL)				
L1	L2	L3	L4	PROMEDIO	L1	L2	L3	L4	PROMEDIO
275	275	277	279	276,50	276	277	278	278	277,25
173	175	177	179	176,00	174	176	177	178	176,25
119	119	120	121	119,75	118	119	120	120	119,25
56	56	56	58	56,50	55	56	56	57	56,00
25	25	25	25	25,00	24	25	25	25	24,75

FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

Con estos datos se graficó la recta en función a las concentraciones del método de prueba (Dispensario Central) con el de comparación (Dispensario Chimbacalle). Después de procesar estadísticamente los resultados, se evidencia que estos se relacionan positivamente y linealmente. (Ver Gráfico 3).

Gráfico 3 Comparación de dos métodos enzimáticos de Glucosa Hexoquinasa



FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

La ecuación de la regresión lineal simple obtenida fue $y = 0.9953x + 0.6622$ siendo Y la concentración promedio de glucosa sérica para cada dilución obtenida en el Dispensario Central y X el promedio de glucosa sérica obtenida en el Dispensario Chimbacalle.

El coeficiente de determinación $R^2=0,9999$ que indica una alta bondad del ajuste, los valores obtenidos en un método son similares a los valores obtenidos en el otro en un 99,99%. De esta forma se cumple con el protocolo para verificar la veracidad del análisis evaluado.

4.5. Evaluación de veracidad de un método de prueba por medio de la comparación contra un método aceptado

Se evaluó la veracidad de los métodos contrastando los resultados obtenidos por el método de prueba con el método de comparación. (Ver Tabla 13).

Se recolectaron mínimo cuatro muestras por día durante cinco días, se alicuotaron por duplicado y fueron refrigeradas hasta el análisis. La cuantificación de glucosa en cada dispensario se realizó luego de dos horas de haber sido derivadas y manteniendo una cadena de frío adecuada, el análisis se realizó de forma simultánea en los dos laboratorios

Se obtiene el valor de las diferencias (sesgo individual) resultado del método de prueba menos el resultado del método de comparación, con la suma de estos valores se obtiene un valor de 1 para bi y de -2,26 para $^{%bi}$, Se obtuvo así el valor del sesgo en valores absolutos (0.5 mg/dL) y en porcentaje (1,09%)

Los resultados se compararon con el valor declarado por el fabricante (3%), es decir que los dos métodos analíticos evaluados fueron aceptables de acuerdo a los establecido en el inserto del fabricante.

Tabla 13 Resultados de la comparación entre los dos métodos enzimáticos para Glucosa Hexoquinasa

Método de Prueba (mg/dL)	Método de Comparación (mg/dL)	bi	bi-b	(bi-b) ²	%bi	%b%bi	(%b-%bi) ²
275	276	-1	0,5	0,25	0,181	-0,909	0,827
173	174	-1	0,5	0,25	0,287	0,287	0,083
119	118	1	0,5	0,25	0,424	-0,667	0,445
56	55	1	0,5	0,25	0,909	0,909	0,826
25	24	1	0,5	0,25	2,083	2,083	4,340
275	277	-2	1,5	2,25	0,542	0,542	0,293
175	176	-1	0,5	0,25	0,284	0,284	0,081
119	119	0	-0,5	0,25	-0,420	-0,420	0,177
56	56	0	-0,5	0,25	-0,893	-0,893	0,797
25	25	0	-0,5	0,25	-2,000	-2,000	4,000
277	278	-1	0,5	0,25	0,180	0,180	0,032
177	177	0	-0,5	0,25	-0,282	-0,282	0,080
120	120	0	-0,5	0,25	-0,417	-0,417	0,174
56	56	0	-0,5	0,25	-0,893	-0,893	0,797
25	25	0	-0,5	0,25	-2,000	-2,000	4,000
279	278	1	0,5	0,25	0,180	0,180	0,032
179	178	1	0,5	0,25	0,281	0,281	0,079
121	120	1	0,5	0,25	0,417	0,417	0,174
58	57	1	0,5	0,25	0,877	0,877	0,769
25	25	0	-0,5	0,25	-2,000	-2,000	4,000
	Σ	1	3	7	-2,260		
Sesgo (mg/dL)		0,5	Sesgo%		1,091		

bi: (resultado del método de prueba – resultado del método de comparación)

b: sesgo individual de la muestra

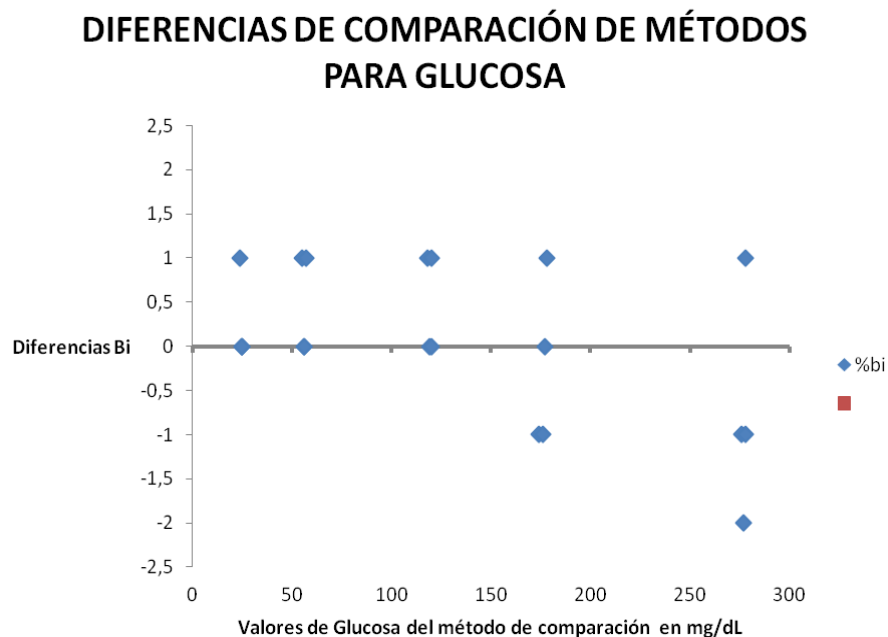
FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

Posteriormente se realizó el gráfico de diferencias, que expresa el valor de b en porcentajes. (Ver Gráfico 4)

Los valores aparecieron cerca de la línea de diferencias nulas aproximadamente en la misma proporción por encima y por debajo de la línea, es decir que los dos métodos evaluados presentan una relación equivalente de uno a uno en cada valor.

Gráfico 4 Diferencias de la comparación de métodos enzimáticos para determinar Glucosa Hexoquinasa



$$\%bi: [(Resultado\ del\ método\ de\ prueba - resultado\ del\ método\ de\ comparación) / (resultado\ del\ método\ de\ comparación)] * 100$$

FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

Otra forma de verificar la veracidad del método analítico, es tomando en cuenta si existe algún tipo de error sistemático en los puntos de interés médico descritos en Medical Decision Levels de Westgard QC.

Con los datos obtenidos del coeficiente de determinación R^2 (Gráfico 2) y los puntos de decisión médica se calcularon los porcentajes de error sistemático, los cuales se compararon con el sesgo del fabricante. (Ver Tabla 14).

En la Tabla 14 se observa que el error sistemático para hipoglucemia y prediabetes se encuentra dentro del límite establecido por el fabricante (3%), confirmándose que el porcentaje de error no es significativo y el método es conforme con lo establecido por el fabricante.

Tabla 14 Evaluación de veracidad de acuerdo a los puntos de interés médico

	PUNTOS DECISIÓN CLÍNICA GLUCOSA (mg/dL)	VALOR OBTENIDO	ERROR SISTEMÁTICO ⁽¹⁾	ERROR SISTEMÁTICO %
HIPOGLICEMIA	45	45,45	0,45	1,00
VALOR NORMAL	120	120,09	0,09	0,08
PREDIABETES	180	179,81	-0,18	-0,10

(1) Los resultados de la comparación de métodos $y = 0,9953x + 0,6622$ permiten estimar el error sistemático en cada caso, sustituyendo los valores de x por cada uno de los valores de decisión clínica.

FUENTE: Westgard, 2009

ELABORACION: Lesly Ruiz

4.6 Evaluación de Incertidumbre con el uso de valores de control interno y externo.

El procedimiento para la cuantificación de glucosa en suero por el método de glucosa hexoquinasa permitió obtener resultados trazables con un nivel apropiado de incertidumbre. (Ver Tabla 15)

Tabla 15 Estimación de nivel de incertidumbre

	b^2	s^2	$b^2 + S^2$	$ECM = \sqrt{b^2 + S^2}$
Control Normal	1,28	2,56	3,84	5,79

FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

Se obtiene el valor de ECM (error cuadrático medio) tomando en cuenta el índice de desviación del ensayo de aptitud b^2 y los datos de la desviación estándar obtenida por el control de calidad interno s^2 , para una concentración de 147 mg/dl

El valor de ECM de 5,79 corresponde al valor de la incertidumbre para la medición de glucosa sérica en el laboratorio clínico del Dispensario Central con un margen de confiabilidad del 95%.

CONCLUSIONES

- El método enzimático para la determinación de glucosa hexoquinasa GLUC 3 de Roche Diagnostics es preciso en términos de repetibilidad y reproducibilidad, es decir existe un alto grado de concordancia entre los resultados de mediciones sucesivas del mismo mesurando intra o intercorrida al compararlos con los valores descritos por el fabricante.
- El método GLUC 3 de Roche Diagnostics para determinar glucosa sérica tuvo un comportamiento lineal para las concentraciones obtenidas, el valor del coeficiente de correlación alcanzado es cercano a 1, además la recta línea toca la mayor cantidad de puntos de decisión clínica. Tomando en cuenta los criterios de aceptación, los resultados mínimos que pueden ser reportados son 11.25 y máximo 629 mg/dl.
- La veracidad del método se obtuvo tomando en cuenta resultados de programa de evaluación externa y criterios de aceptación descritos por la EMA, el mismo que refleja que no existe presencia de error sistemático en las mediciones.
- No se encontró diferencias significativas con los resultados obtenidos de acuerdo a la comparación de los dos métodos analíticos de glucosa hexoquinasa, el comportamiento de los dos es lineal. Es aceptable la veracidad de los métodos en estudio.
- El método es veraz para los puntos de decisión médica es decir: hipoglucemia, valor normal y prediabetes, los que demuestran que el sesgo obtenido es menor al descrito por el fabricante.
- El monitoreo de la temperatura, humedad, paso de controles no tenía una frecuencia establecida, estos elementos influyen en el desempeño del método por tal motivo se estableció horarios de toma de temperaturas tanto ambiental como de los refrigeradores y humedad y el paso obligatorio de controles dos veces al día.
- Con todos los resultados obtenidos se concluye que el método analítico para la cuantificación de Glucosa hexoquinasa utilizado en el C.A.A Central IESS presenta linealidad, precisión, veracidad y comparación de métodos satisfactorios, por tal motivo permiten obtener resultados seguros y confiables.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda a las autoridades responsables del laboratorio clínico capacitar adecuadamente al personal técnico para que puedan identificar los diferentes tipos de errores que pueden darse en las corridas diarias de los controles, y generar acciones correctivas oportunas que eviten la presencia de este tipo de errores. .
- Previo a la adquisición de un nuevo equipo se debería realizar la calificación técnica detallada en el manual de operaciones, con la finalidad de adquirir equipos eficientes los cuales incrementen la relación costo beneficio del laboratorio además de emitir resultados de manera oportuna.
- Para futuras verificaciones se debe analizar minuciosamente que el equipo este en óptimas condiciones, además contar con muestras de concentración mayor a las de decisión médica y principalmente no tener errores sistemáticos para lo cual se debe hacer un seguimiento de los tres últimos meses.

BIBLIOGRAFIA

- Arboli, A. (Agosto de 2009). *Espectrometría ultravioleta-visible*. Espectrometría ultravioleta-visible. Recuperado de http://www.espectrometria.com/espectrometra_ultravioleta-visible.
- Arellano, M. (Abril de 2008). *Sistema de gestión de calidad para el laboratorio clínico de urgencias del hospital Dr. Rafael Lucio*. Sistema de Gestión de Calidad para el Laboratorio Clínico de Urgencias del Hospital Dr. Rafael Lucio. , 12-29. Veracruz, Mexico.
- Baeza, J. (Abril de 2010). *El Laboratorio Clínico*. Recuperado de <http://www4.ujaen.es/~esiles/TEMA%201-200607.pdf>
- Baptista, H. Et al. (2009). *Validación y verificación de métodos de laboratorios aplicados al banco de sangre*. Medicina Transfusional y Banco de Sangre , 2 (1), 20-23.
- Bedini, J. (2008). *Gestión de la Automatización*. SEQC , 56 - 62.
- BIO-RAD. (2009). *Requerimientos regulatorios enfatizan la necesidad del uso de controles de calidad*. Bio - Rad Laboratories , 1, 1-6.
- BIOTECNOLOGIA. (2010). *Programa asignatura bioquímica clínica*. Programa de Asignatura, Universidad Autónoma de Zacatecas, Ciencias de la Salud.
- Brambila, Eduardo et al. (2008). *Planeación de un sistema de control de calidad para un método de determinación de glucosa*. Bioquímica , 33 (4), 155-163.
- Brandan, N. (Julio de 2008). *Enzimas para el Diagnóstico Clínico*. Recuperado de <https://diagnosticoclinico.wikispaces.com/file/view/Tema+Enzimas.pdf>
- Burbano, A. (Enero de 2007). *Evaluación al cumplimiento de estándares de acreditación en los laboratorios clínicos de la ciudad de Quito*. Evaluación al Cumplimiento de Estándares de Acreditación en los Laboratorios Clínicos de la Ciudad de Quito (tesis de maestría inédita) , 39-50. Quito, Pichincha, Ecuador.
- Cañuelo, A. (2009). *Procedimientos bioquímicos y fisiológicos en las alteraciones de la salud*. Material de Apoyo, Universidad de Jaén, Bioquímica y Biología Molecular., Andalucía.

Capilla, P. Et al. (2002). *Fundamentos de Colorimetría* (Vol. 2). (P. Viciano, Trad.) Valencia : Maite Simon.

Castillo, C. (Julio de 2007). *Fundamentos del diagnóstico enzimático*. Manual de Laboratorio de Bioquímica Médica , 2, 42-46. Baja California, México.

CLINICA, C. L. (2012). *Conferencia General*. Malasia: IFCC.

Delgado, M. D. (Junio de 2007). Bioquímica Estructural y Metabólica. (U. d. Cantrabia, Ed.) Recuperado http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/bioquimica/Practicas/guion_de_practicas.pdf

Dharan, M. (2002). *CONTROL DE CALIDAD EN LOS LABORATORIOS CLINICOS* (2 ed., Vol. 2). (M. J. Alcina, Trad.) Barceloma, España: REVERTÉ S.A.

DIABETES, F. I. (Noviembre de 2012). *Diabetes no diagnosticada* . (N. UNWIN, D. WHITING, L. GUARIGUATA, G. GHYOOT, & D. GAN, Editores) Recuperado de www.idf.org/diabetesatlas/5e/es/diabetes-no-diagnosticada

Díaz , J et al. (1996). *Aspectos básicos de bioquímica clínica*. Madrid, España: DIAZ DE SANTOS, S.A.

Dominguez, J. (Agosto de 2010). *Calibración de los instrumentos de medida*. Recuperado de <http://www.acclc.cat/continguts/ivv023.pdf>

Douglas,A. Et al. (2009). *Principio de análisis instrumental*. (6 ed.). Barcelona, España: PARANINFO S.A.

EMA. (Abril de 2008). *Guía para la Validación y la Verificación de los Procedimientos de Examen Cuantitativos Empleados por el Laboratorio Clínico*. 18-30.

Euskalit Consultores. (Mayo de 2010). *Euskalit Gestion Avanzada*. Recuperado de <http://www.euskalit.net/nueva/images/stories/documentos/folleto5.pdf>

Federación Internacional de Diabetes. (2011). *Plan Mundial Contra la Diabetes*. Bélgica: Federación Internacional de Diabetes.

Fernández, E et al. (Octubre de 2008). *Determinaciones colorimétricas específicas de compuestos. Determinación de Glucosa (Glucosa - Oxidasa)*. Recuperado de <http://www.uco.es/dptos/bioquimicabiomol/pdfs/08III%20ESPECTROFOTOMETR%C3%8DA.pdf>

Fuentes , X et al. (1998). *Bioquímica Clínica y Patología Molecular* (2 ed., Vol. 1). Barcelona, España: REVERTÉ S.A.

Gregory Cooper W. et al. (2007). *Sistemas de Control de Calidad Básico e Intermedio para el Laboratorio*. Bio - Rad Laboratories (2), 1 - 2.

Gluglielmone, R et al. (2012). *Verificación de Métodos en un Laboratorio Acreditado y Planificación del Control de Calidad Externo*. Bioanálisis , 3 - 8.

ILAC. (Mayo de 2011). *Ventajas en el Uso de un Laboratorio Acreditado*. International Laboratory Accreditation Cooperation .

Imma Caballé, M. (2007). *Gestión del Laboratorio Clínico* (Vol. 1). (E. DOYMA, Ed.) Barcelona, España: ELSEVIER - MASSON.

ISO / IEC, 1. (2005). *Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y de Calibración*. Suiza: ISO / IEC.

Lucio, R et al. (2011). *Sistema de Salud en Ecuador*. 53 (2), 178-186.

Maestre, E et al. (Junio de 2010). *Control de calidad aplicado en la determinación de la glucosa sérica en laboratorios clínicos del municipio de Caroní, estado Bolívar*. Control de Calidad Aplicado en la Determinación de la Glucosa Sérica en Laboratorios Clínicos del Municipio Caroní, estado Bolívar , 5-8. Bolivar, Venezuela.

Maroto, A. Et al. (Julio de 2009). *Incertidumbre y Precisión*. Incertidumbre y Precisión. , 1-7. Tarragona , España: Universidad Rovira I Virgili.

Mazziotta, D Et al. (2005). *Gestión de Calidad en el Laboratorio Clínico*. España: Médica Panamericana.

Medina, R. Et al. (2010). *Agua para Usos en el Laboratorio*. Redalyc , 1, 3-7.

Metras, M. (Abril de 2007). *Metrología óptica: espectrofotómetros de ultravioleta visible*. Recuperado <http://www.metras.com.mx/guiametas/La-Guia-MetAs-07espectrofotometria.pdf>

Mora, L. (2010). *Implementación de un Sistema de Gestión de Calidad en el Servicio de Laboratorio Clínico del Centro de Atención Ambulatoria Central de Quito del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social, 2010*. Implementación de un Sistema de Gestión de Calidad en el Servicio de Laboratorio Clínico del Centro de Atención Ambulatoria Central de Quito del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social, 2010 , 1-17. Quito, Pichincha, Ecuador.

OAE, G. (2011). *Validación de Métodos en el Laboratorio Clínico*. OAE. OAE.

Posada, P. (2010). *Acreditación de Laboratorios Clínicos*. (N. E. MARTINEZ ROSERO, C. A. SANCHEZ TORO, M. VERGARA EDWARDS, O. RAMOS NUÑEZ, & E. MONTICO RIESCO, Edits.) *El Hospital* , 66 (2), 8- 13.

Ricart Álvarez, E. (2012). *Control Interno de la Calidad Analítica*. PPT, Hospital Verge Dels Liris. Alcoy, Servicio Análisis Clínicos.

RPS-Qualitas. (Agosto de 2010). *Métodos fotométricos: turbidimetría y nefelometría*. Recuperado http://www.rpsqualitas.es/documentacion/downloads/instrumental/metodos_fotometricos.pdf

S.E.Q.C, C. C. (2006). *Guía para la implantación de pruebas de laboratorio en el lugar de asistencia al paciente*. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular , 2, 7-15.

Saéñz, Silvia et al. (2006). *Sistema de Mejora Continua de la Calidad en el Laboratorio* (Vol. 1). VALENCIA, ESPAÑA: MAITE SIMON.

Skoog, D et al. (2003). *Fundamentos de Química Analítica*. (6 ed., Vol. 2). (V. Berenguer, Trad.) Barcelona, España: REVERTÉ S.A.

Westgard, J. (2009). *Medical decisions levels*. Recuperado de <http://www.westgard.com/decision.htm>

ANEXOS

Anexo 1 Carta de Aprobación de IESS C.A.A Central Quito



INSTITUTO ECUATORIANO DE SEGURIDAD SOCIAL
CENTRO DE ATENCIÓN AMBULATORIA CENTRAL QUITO
Benalcázar N 8-12 y Manabí Teléfono 2957-120 FAX 2957-120
SERVICIO DE CAPACITACIÓN Y DOCENCIA DEL DISPENSARIO CENTRAL

REGISTRO DE PERSONAS QUE REALIZAN ACTIVIDADES VOLUNTARIAS COMO OBSERVACIONES (PASANTÍAS) E INVESTIGACIONES EN LOS SERVICIOS DEL CAACQ.

1.- IDENTIFICACIÓN:

COORDINADOR/RA: Dra. Lorena Mora SERVICIO: _____
(LABORATORIO CLÍNICO) Fecha: 2-07-2013

2.- DATOS DE FILIACIÓN DEL OBSERVADOR Y/O INVESTIGADOR:

NOMBRES Y APELLIDOS: LESLY Dayana Ruiz Sanipatin
EDAD: 24 SEXO: F CÉDULA ID #: 100335198-6
DOMICILIO: Valle de los Chillón - San Rafael.
TELÉFONOS: 0995065495 correo electrónico: ruizlesly@hotmail.com
NOMBRE DE LA INSTITUCIÓN Y/O EMPRESA: UNIVERSIDAD CATÓLICA
Nivel o Año que cursa/Puesto Laboral: EGRESADA

3.- ACTIVIDAD ACADÉMICA A CUMPLIR: (Proyecto, escriba al reverso, si falta espacio)

OBJETIVOS, METAS, ACTIVIDADES....: Verificación de la validación de un método enzimático para la detección cuantitativa de glucosa hexoquinasa en el Laboratorio Clínico del Centro de Atención Ambulatorio Central del Instituto de Seguridad Social - Quito.

APORTE AL DISPENSARIO CENTRAL (Por ejemplo: monografía, estudio, publicación, etc. Describir)
Realizar una publicación referente al tema de investigación.

FECHAS DE: * INICIO: 02, Julio, 2013 * FINALIZACIÓN: 02, Diciembre, 2013

Firma del Coordinador/ra _____


INSTITUTO ECUATORIANO DE SEGURIDAD SOCIAL
Dra. Lorena Mora D.
COORDINADORA LABORATORIO DE PATOLOGÍA CLÍNICA

Objetivos:

- * Demostrar la calidad analítica de los resultados en la determinación cuantitativa de glucosa en el laboratorio clínico mediante la verificación de su validación.

Metas:

- * La técnica para determinar glucosa hexoquinasa será validada al 100%.

Actividades:

- 1: Leer manual técnico del equipo.
- 2: Observar parámetros de desempeño del equipo.
- 3: Obtener datos de los pacientes.
- 4: Validar el método.
- 5: Tabular.
- 6: Resultados.

Anexo 2 Calificación de equipo Cobas c- 311



**Laboratorio Clínico
C.A.A Central Quito**

CALIFICACION DE EQUIPO COBAS C-311



Laboratorio Clínico

CALIFICACIÓN DE EQUIPO

COBAS C-311

Revisión N° 1

Página 1 de 8




Elaboró: LR

Revisó: CC

Aprobó: LM

Valido: Octubre 2014

 Laboratorio Clínico	CALIFICACIÓN DE EQUIPO COBAS C-311	Revisión N° 1
		Página 1 de 8

Analizador: Roche/Hitachi cobas c 311.

Generación: Quinta.

Especificaciones

Especificaciones básicas	SI	NO
Realiza ensayos fotométricos y medición de electrodo ion selectivo.	X	
<u>Tipo de muestras:</u>		
Suero/plasma	X	
Orina	X	
Sobrenadante	X	
Hasta 300 test fotométricos/hora	X	
42 posiciones para cobas c packs.	X	
108 posiciones para muestras	X	
66 cubetas de reacción de plástico reutilizables (6 segmentos con 11 cubetas cada una).	X	

Elaboró: LR	Revisó: CC	Aprobó: LM	Valido: Octubre 2014
-------------	------------	------------	----------------------



Laboratorio Clínico

CALIFICACIÓN DE EQUIPO

COBAS C-311

Revisión N° 1

Página 1 de 8

Analizador: Roche/Hitachi cobas c 311.

Generación: Quinta.

Especificaciones del Sistema

Dimensiones	SI	NO
Profundidad (859 mm).	X	
Altura analizador cobas c 311 (1.260mm).	X	
Altura superior del monitor puede ajustarse (1.380 – 1570mm).	X	
Longitud (1.325mm)	X	
<u>Peso</u>	X	
Unidad Analítica (cerca de 250kg)		
Unidad de Control (cerca de 20kg)	X	

Elaboró: LR	Revisó: CC	Aprobó: LM	Valido: Octubre 2014
-------------	------------	------------	----------------------



Laboratorio Clínico

CALIFICACIÓN DE EQUIPO

COBAS C-311

Revisión N° 1

Página 1 de 8

Analizador: Roche/Hitachi cobas c 311.

Generación: Quinta.

Condiciones de Funcionamiento

Suministro de Energía Eléctrica	SI	NO
<u>Potencia nominal</u> Monofásico/ 230 V CA/50 Hz (internacional Europa) o 208 V CA/60 Hz (EE.UU/Canadá).	X	
<u>Fluctuación del suministro eléctrico:</u> Sin Fluctuación significativa de la fuente de alimentación.	X	
Categoría de Sobre voltaje: (II)	X	
Nivel de Contaminación: (2)	X	
<u>Consumo eléctrico</u> 1,5 kVA para la unidad analítica, 0.5 kVA para la unidad de control.	X	

<u>Instalación eléctrica:</u> Estándar técnico: (Clase C). Toma a la tierra necesaria < 10 Ω Impedancia eléctrica: < 0,1 Ω a 30 A Resistencia de aislamiento > 10 M Ω a 500V		
	X	
	X	
	X	
	X	
La fuente de alimentación debe estar conectada a tierra.	X	

Elaboró: LR	Revisó: CC	Aprobó: LM	Valido: Octubre 2014
-------------	------------	------------	----------------------



Laboratorio Clínico

CALIFICACIÓN DE EQUIPO
COBAS C-311

Revisión N° 1

Página 1 de 8

Analizador: Roche/Hitachi cobas c 311.

Generación: Quinta.

Requerimientos de Agua

Requerimientos de Agua	SI	NO
<u>Agua destilada libre de bacterias:</u> <10 cfu/ml.	X	
<u>Conductividad:</u> 1,0µS/cm o menos (resistencia de 1,5 MΩ).	X	
<u>Presión de Agua:</u> 50-340 kpa (0.5 – 3.4kg/cm ²)	X	
<u>Consumo de agua:</u> 12 L/ h durante el funcionamiento.	X	
<u>Suministro de agua necesario:</u> 40 L/h.	X	

Elaboró: LR	Revisó: CC	Aprobó: LM	Valido: Octubre 2014
-------------	------------	------------	----------------------



Laboratorio Clínico

CALIFICACIÓN DE EQUIPO

COBAS C-311

Revisión N° 1

Página 1 de 8

Analizador: Roche/Hitachi cobas c 311.

Generación: Quinta.

Condiciones Ambientales

Condiciones Ambientales	SI	NO
<u>Temperatura Ambiental:</u>		
Durante el funcionamiento: (de 15 a 32 °C), con cambios < $\pm 2^{\circ}\text{C}$	X	
Durante el transporte y almacenamiento: (de -20 a 75°C)	X	
<u>Humedad Ambiental</u>		
Durante el funcionamiento: (45-85%).	X	
Durante el transporte y almacenamiento: (5 – 95%).	X	
<u>Altitud:</u> Hasta 2000m	X	
<u>Interferencia electromagnética:</u>		
No debe instalarse cerca de quipos que generen ondas electromagnéticas (celulares, teléfono inalámbrico, etc)	X	
No debe instalarse cerca de máquinas que generen frecuencias ultraaltas (descargador eléctrico).	X	

<u>Emisión de ruido:</u> <65 dB en las inmediaciones.	X	
<u>Otras condiciones ambientales:</u>		
Entorno sin polvo con ventilación adecuada.	X	
Sin luz solar directa.	X	
Sin vibraciones perceptibles.	X	
Uso exclusivo en áreas interiores.	X	
<u>Condiciones del suelo:</u>		
Nivel (ángulo: inferior a 1 / 200), lo bastante fuerte	X	

Elaboró: LR	Revisó: CC	Aprobó: LM	Valido: Octubre 2014
-------------	------------	------------	----------------------

Anexo 2 1 Certificado de calibración de pipeta ajustable 100-1000 µL



CERTIFICADO DE CALIBRACION

Formato No. LMEM1-CCVV.V04(2013-03-14)

Nº Páginas: **2 páginas**

Certificado No: **LME-V-13101694**

Fecha de Calibración: **2013-10-16**

Cliente: **IESS SEGURO DE SALUD CENTRO A.A. CENTRAL**

Area: **Laboratorio**

Responsable: **Dra. Lorena Mora**

Teléfono: **022957121**

Ciudad: **Quito**

Instrumento: **MICROPIPETA**

Código ID: **594**

Marca: **SUMEDIX**

Tipo de Pipeta : **Ajustable**

Modelo: *********

Rango: **(100-1000) uL**

Serie: **GL391249**

Volumen: *********

EMCO Cía. Ltda. certifica que el equipo bajo prueba fue sometido al proceso de calibración, utilizando instrumentación trazable a la unidad de masa del Sistema Internacional de Unidades; SI, a través del Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN y Centro de Metrología de la FF.TT.

La incertidumbre expandida de medida se ha obtenido multiplicando la incertidumbre combinada de medición por el factor de cobertura $k=2$; que para una distribución normal, corresponde a una probabilidad de cobertura de aproximadamente el 95% de acuerdo a la G.U.M.

El método de medición utilizado en el proceso de calibración fue el indirecto.

Los resultados contenidos en este certificado se refieren al momento y condiciones en que se realizaron las mediciones.

El presente documento no constituye un certificado de aprobación para uso del instrumento.

El usuario es único responsable de la calibración de sus instrumentos a intervalos apropiados.

Este certificado no se debe reproducir, excepto en su totalidad y sin la aprobación escrita por parte del Laboratorio de Metrología de EMCO Cía. Ltda.

El usuario puede solicitar la trazabilidad de los instrumentos y competencia del personal; y en casos particulares, la reproducción del presente certificado previa solicitud a la Gerencia de Emco Cía. Ltda.

Fecha de emisión: **2013-10-19**



Anexo 2 2 Certificado de calibración pipeta ajustable de 10-1000 µL



CERTIFICADO DE CALIBRACION

Formato No. LMEM1-CCVV.V04(2013-03-14)

Certificado No: LME-V-13101695	
Nº Páginas: 2 páginas	Fecha de Calibración: 2013-10-16
Cliente: IESS SEGURO DE SALUD CENTRO A.A. CENTRAL	Responsable: Dra. Lorena Mora
Area: Laboratorio	Ciudad: Quito
Telefono: 022957121	
Instrumento: MICROPIPETA	Código ID: 595
Marca: SUMEDIX	Tipo de Pipeta : Ajustable
Modelo: *****	Rango: (10-100) uL
Serie: 334557	Volumen: *****

EMCO Cia. Ltda. certifica que el equipo bajo prueba fue sometido al proceso de calibración, utilizando instrumentación trazable a la unidad de masa del Sistema Internacional de Unidades; SI, a través del Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN y Centro de Metrología de la FF.TT.

La incertidumbre expandida de medida se ha obtenido multiplicando la incertidumbre combinada de medición por el factor de cobertura $k=2$; que para una distribución normal, corresponde a una probabilidad de cobertura de aproximadamente el 95% de acuerdo a la G.U.M.

El método de medición utilizado en el proceso de calibración fue el indirecto.

Los resultados contenidos en este certificado se refieren al momento y condiciones en que se realizaron las mediciones.

El presente documento no constituye un certificado de aprobación para uso del instrumento.

El usuario es único responsable de la calibración de sus instrumentos a intervalos apropiados.

Este certificado no se debe reproducir, excepto en su totalidad y sin la aprobación escrita por parte del Laboratorio de Metrología de EMCO Cia. Ltda.

El usuario puede solicitar la trazabilidad de los instrumentos y competencia del personal; y en casos particulares, la reproducción del presente certificado previa solicitud a la Gerencia de Emco Cia. Ltda

Fecha de emisión: **2013-10-19**



Página 1 de 2

emco@emco.com.ec

Formato No. LMEM1-CCVV.V04(2013-03-14)



REPORTE DE CALIBRACION

Cliente: **IESS SEGURO DE SALUD CENTRO A.A. CENTRAL**
Dirección: **BENALCAZAR N8-12 Y MANABI - Quito**
Teléfono: **022957121** Certificado: **LME-V-13101695**
Fecha de calibración: **2013-10-16** Fecha de Emisión: **2013-10-19**

UNIDAD BAJO PRUEBA: **MICROPIPETA** ID: **595**
Marca: **SUMEDIX** Modelo: ********
Serie: **334557** Rango: **(10-100) ul**

Patrones de referencia:
Equipo 1: **BALANZA ANALITICA** Marca: **METTLER-TOLEDO**
Modelo: **XP105DR** Serie: **B204640969**
Fecha cal.: **2013-09-17** Cert. de calibración: **LPC-PyM 2013-1095**
Equipo 2: **TERMOHIGROMETRO** Marca: **RADIO SHACK**
Modelo: **63-1032** Serie: **HT12830**
Fecha cal.: **2012-11-30** Cert. de calibración: **LPC-T-2012-428**


Condiciones ambientales:
Temperatura inicial: **19,9 °C** Humedad relativa: **47 %**
Temperatura final: **20,1 °C** Factor Z: **1,00258007**
Condiciones de medición:
Medio de prueba: **AGUA DESTILADA**
Temperatura inicial: **20,1 °C** Temperatura final: **20,1 °C**

RESULTADOS OBTENIDOS


Vol. de Prueba (ul)	Número de mediciones	Peso Promedio (mg)	Volumen promedio (ul)
10,0	10	9,94	9,97
50,0	10	49,52	49,65
100,0	10	99,26	99,52

RESUMEN ESTADISTICO

Volumen de Prueba (ul)	ERROR		Incertidumbre K=2 ul
	ul	%	
10,0	-0,03	-0,34	0,16
50,0	-0,35	-0,70	0,22
100,0	-0,48	-0,48	0,32


Ing. Roberto Paredes Cruz
CALIBRADO POR




Edy Alemán Q.
REVISADO POR

Anexo 2 3 Análisis microbiológico de agua de destilador



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS
LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA
INFORME DE RESULTADOS

INF.LAB.MI.29649
ORDEN DE TRABAJO No.44280

SOLICITADO POR:	IESS SEGURO DE SALUD CENTRO A.A.CENTRAL
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	BENALCAZAR N8-12 Y MANABI
MUESTRA DE:	AGUA
DESCRIPCIÓN:	AGUA DE UN DESTILADOR DE AGUA
LOTE:	-----
FECHA DE ELABORACION:	-----
FECHA DE VENCIMIENTO:	-----
FECHA DE RECEPCION:	26/03/2014
HORA DE RECEPCION:	15H38
FECHA DE ANALISIS:	27/03/2014
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARIA:	07/04/2014
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	CARACTERÍSTICO
OLOR:	CARACTERÍSTICO
ESTADO:	LÍQUIDO
CONTENIDO DECLARADO:	200ml
CONTENIDO ENCONTRADO:	-----
OBSERVACIONES:	LOS RESULTADOS QUE CONSTAN EN EL PRESENTE INFORME SE REFIEREN A LA MUESTRA ENTREGADA POR EL CLIENTE AL OSP.
MUESTREADO POR:	EL CLIENTE

INFORME

PARAMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
INDICE DE COLIFORMES TOTALES	NMP/100 ml	<1.8	MMI-11/SM 9221-B

DATOS ADICIONALES:

NMP/100ml: Número mas probable de coliformes por 100 mililitros



LABORATORIO DE ENSAYOS
 N° CAE LE 10 04-002

"Los ensayos marcados con () NO están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE"*



B.F. Magaly Chasi
JEFE ÁREA DE MICROBIOLOGIA



1 / 1

RMI-4.1-04

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gatto Sobral - Teléfonos: 2502-262 / 2502-456, ext. 15, 18, 21, 31, 33
 Telefax: 3216-740 - Web: www.facqimuce.edu.ec - E-mail: laboratoriososp@hotmail.com

Anexo 2 4 Análisis químico ambiental de agua de destilador



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE QUIMICA AMBIENTAL
INFORME DE RESULTADO

INF-LAB-QAM-33895
ORDEN DE TRABAJO No 43858

SOLICITADO POR: IESS SEGURO DE SALUD CENTRO A.A. CENTRAL
DIRECCIÓN: BENALCAZAR N8-12 Y MANABI
FECHA DE RECEPCION: 20/02/14
HORA DE RECEPCION: 13H57
MUESTRA DE: AGUA
DESCRIPCION: AGUA DE DESTILADOR
FECHA DE ANALISIS: DEL 20/02 AL 26/02/14
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARIA: 27/02/14
CARACTERISTICAS DE LAS MUESTRAS: TRANSPARENTE
ESTADO: LIQUIDO
CONTENIDO: 4 LITROS
MUESTREADO POR: EL CLIENTE
OBSERVACIONES: Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra tomada por el cliente y entregada al personal técnico del OSP.

INFORME

PARÁMETROS	UNIDADES	RESULTADOS	METODO
pH		6.7	MAM-34 / APHA 4500-pH+ MODIFICADO
CONDUCTIVIDAD	µs/cm	0.4	MAM-10 / APHA2510 B MODIFICADO
SÓLIDOS TOTALES	mg/l	6	MAM-29 / APHA2540 B MODIFICADO



LABORATORIO DE
ENSAYOS
N° OAE LE 10 04-012

"Los ensayos marcados con (*) NO están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE"



ANEXO LISTA DE INCERTIDUMBRES





“MEDICIÓN DE RUIDO Y MAPA DISTRIBUTIVO”.

IESS SEGURO DE SALUD CENTO A.A CENTRAL
(Quito- 5 Septiembre 2013)



ECUADORAMBIENTAL

Líderes en Gestión Ambiental, Seguridad Industrial y Salud Ocupacional.

Web: www.ecuadorambiental.com

Teléfono: 022 233981/084764387

Av. Gran Colombia E4-372 y Telmo Paz

Quito-Ecuador

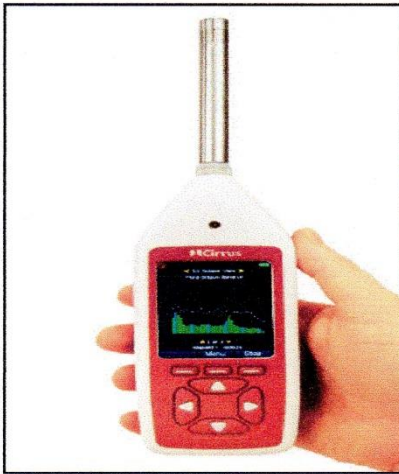
3.4.- CARACTERÍSTICAS DEL EQUIPO UTILIZADO

- Sonómetro Integrador, tipo 1, con Bandas de Octavas.

-Fabricación: Reino unido
-Marca: Cirrus
-Modelo: Optimus CR 171A
-Clase: Tipo 1, Integrador. Bandas de Octavas.
-Número de Serie: G056569
-Fecha de calibración: 26 de Junio del 2013
-Fecha sugerida de re calibración: 26 de Junio del 2015
-Software: Noisetools

- Calibrador de Acústico.

-Marca: Cirrus, Modelo CR 515
-Fecha de calibración: 26 de Junio del 2013
-Fecha sugerida de re calibración: 26 de Junio del 2015



4.- RESULTADOS DE MONITOREO

Punto #	Lugar de Medición	Fuente de Ruido	Condición de Medición	LAeq (dB)
1	Área de Laboratorio	Cobas c311	Tapa de Equipos Abierta	66,8
2	Área de Laboratorio	Cobas c311	Tapa de Equipos Cerrada	64,7
3	Área de Laboratorio	Cobas c311	Tapa de Equipos Abierta	64,5
4	Área de Laboratorio	Cobas c311	Tapa de Equipos Cerrada	62,3
5	Área de Laboratorio	Cobas c311	Tapa de Equipos Abierta	63,2
6	Área de Laboratorio	Cobas c311	Tapa de Equipos Cerrada	62,8
7	Área de Laboratorio	Cobas c311	Tapa de Equipos Abierta	62,9
8	Área de Laboratorio	Cobas c311	Tapa de Equipos Cerrada	60,6
9	Área de Laboratorio	Cobas e411	Tapa de Equipos Abierta	65,3
10	Área de Laboratorio	Cobas e411	Tapa de Equipos Cerrada	62,4
11	Área de Laboratorio	Cobas e411	Tapa de Equipos Abierta	62,7
12	Área de Laboratorio	Cobas e411	Tapa de Equipos Cerrada	61,3
13	Área de Laboratorio	Cobas e411	Tapa de Equipos Abierta	64,1
14	Área de Laboratorio	Cobas e411	Tapa de Equipos Cerrada	62,5

Las mediciones se llevaron a cabo el día jueves 5 de septiembre del 2013.

5.- ANEXOS:

Anexo 1: Certificado de Calibración del Sonómetro

Certificate of Calibration



Equipment Details

Instrument Manufacturer Cirrus Research plc
 Instrument Type CR:171A
 Description Sound Level Meter
 Serial Number G056569

Calibration Procedure

The instrument detailed above has been calibrated to the publish test and calibration data as detailed in the instrument hand book, using the techniques recommended in the latest revisions of the International Standards IEC 61672-1:2002, IEC 60651:1979, IEC 60804:2001, IEC 61260:1995, IEC 60942:1997, IEC 61252:1993, ANSI S1.4-1983, ANSI S1.11-1986 and ANSI S1.43-1997 where applicable.

Sound Level Meters: All Calibration procedures were carried out by substituting the microphone capsule with a suitable electrical signal, apart from the final acoustic calibration.

Calibration Traceability

The equipment detailed above was calibrated against the calibration laboratory standards held by Cirrus Research plc. These are traceable to International Standards (A.0.6). The standards are:

Microphone Type	B&K4180	Serial Number	1893453	Calibration Ref.	S 6009
Pistonphone Type	B&K4220	Serial Number	613843	Calibration Ref.	S 5964

Calibrated by



Calibration Date

26 June 2013

Calibration Certificate Number

207896

This Calibration Certificate is valid for 24 months from the date above.

Cirrus Research plc, Acoustic House, Bridlington Road, Hunmanby, North Yorkshire, YO14 0PH
 Telephone: +44 (0) 1723 891655 Fax: +44 (0) 1723 891742
 Email: sales@cirrusresearch.co.uk



Anexo2: Certificado del Calibrador Acústico

Certificate of Calibration



Equipment Details

Instrument Manufacturer Cirrus Research plc
 Instrument Type CR.515
 Description Acoustic Calibrator
 Serial Number 53328

Calibration Procedure

The acoustic calibrator detailed above has been calibrated to the published data as described in the operating manual. The procedures and techniques used to follow the recommendations of the IEC standard Electroacoustics – Sound Calibrators IEC 60942:2003, IEC 60942:1997, BS EN 60942:1998 and BS EN 60942:2003 where applicable. The calibrator's main output is 94.00 dB (1 Pa) and this was set within the 0.01 dB resolution of the test system, i.e. one hundredth of a decibel. Numbers in (parenthesis) refer to the paragraph in IEC 60942.

Calibration Traceability

The calibrator above was calibrated against the calibration laboratory standards held by Cirrus Research plc. These are traceable to International Standards (A.0.6). The standards are:

Microphone Type	B&K4180	Serial Number	1893453	Calibration Ref.	S 6009
Pistophone Type	B&K4220	Serial Number	613843	Calibration Ref.	S 5964

Calibration Climate Conditions

The climatic test conditions were all maintained within the permitted limits of IEC 60942:1997.

Temperature	{B.3.2}	Permitted band	15°C to 25°C
Humidity	{B.3.2}	Permitted band	30% to 90% RH
Static Pressure	{B.3.2}	Permitted band	85 kPa to 105 kPa
Ambient Noise Level	{B.3.3.6}	Max permitted level	64 dB(Z)

Measurement Results

The figures below are the Calibration Laboratory test limits for this model calibrator and have a smaller tolerance than those permitted in IEC 60942.

94 dB Output	93.99 dB	Permitted band	93.95 to 94.05dB
104 dB Output	dB	Permitted band	103.80 to 104.30dB
Frequency	1000 Hz	Permitted band	990 to 1010Hz

Uncertainty

With an uncertainty coefficient of k=2, i.e. a 95% confidence level, the uncertainty of each measure is

94 dB Output	± 0.13 dB	104 dB Output	± 0.14 dB
Frequency	± 0.1 Hz	Level Stability	± 0.04 dB

Calibrated by

T. A. Goodall

Calibration Date

26 June 2013

Calibration Certificate Number

207894

This Calibration Certificate is valid for 24 months from the date above.

Cirrus Research plc, Acoustic House, Bridlington Road, Hammanby, North Yorkshire, YO14 0PH
 Telephone: +44 (0) 1723 891655 Fax: +44 (0) 1723 891742
 Email: sales@cirrusresearch.co.uk

Anexo 3: Registro de Consultor Ambiental.



SUBSECRETARIA DE CALIDAD AMBIENTAL

**COMITE DE CALIFICACION Y REGISTRO DE CONSULTORES
AMBIENTALES**

REGISTRO DE CONSULTORES AMBIENTALES

CERTIFICADO DE CALIFICACION

CONSULTOR INDIVIDUAL

En cumplimiento a lo dispuesto en el Instructivo para el Registro y Calificación de Consultores Ambientales, constante en el Acuerdo Ministerial No. 178 de 8 de octubre del 2010, publicado en el Registro oficial No. 323 de fecha 18 de noviembre del 2010, Certifico que:

ING. EDUARDO PAUL BRICEÑO GARRIDO

Ha sido inscrita en el Registro de Consultores Ambientales con el Número **MAE-049-CI** que le otorga el Comité de Registro y Calificación de Consultores Ambientales de la Subsecretaría de Calidad Ambiental del Ministerio del Ambiente, con Categoría "A", lo que le faculta para realizar estudios ambientales con grado de complejidad, según el Art. 13 del Instructivo.

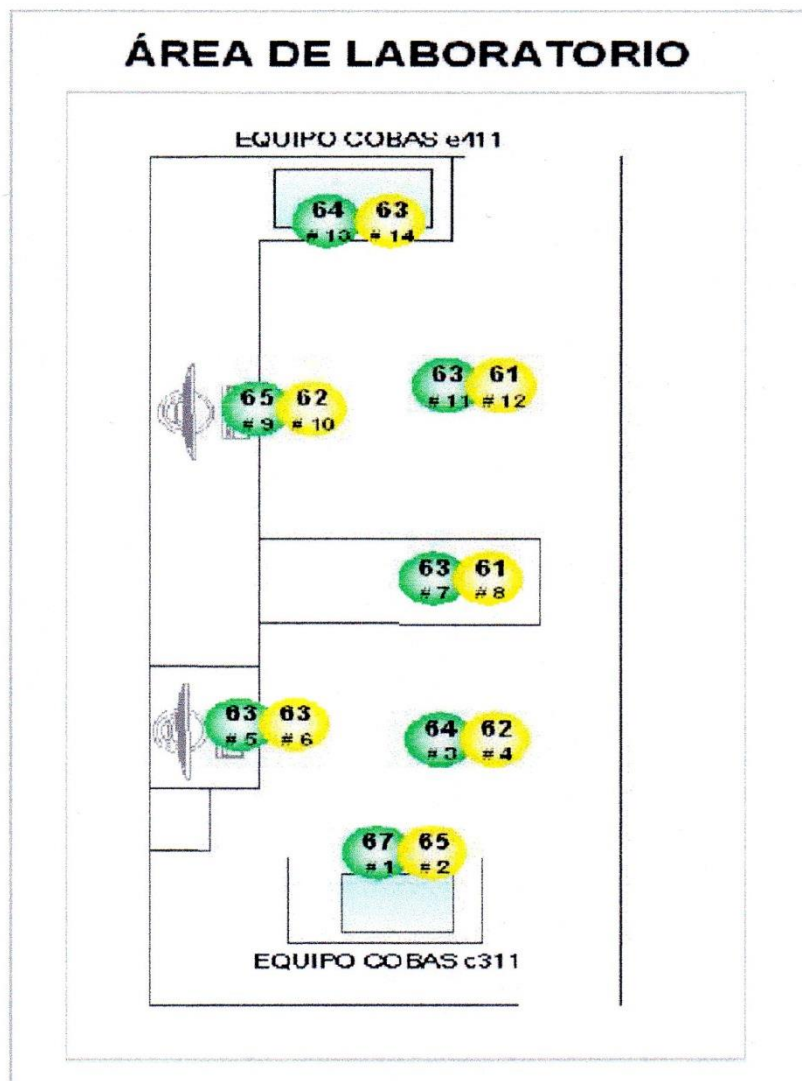
Este Certificado tiene una validez de (1) año, a partir de la fecha de emisión y podrá ser renovado o retirado de acuerdo a lo dispuesto en los Artículos 14 y 15 del Instructivo antes referido.

Quito, a **08 ABR. 2013**



Dr. Juan Carlos Soria Cabrera
**PRESIDENTE DEL COMITE PARA EL REGISTRO Y CALIFICACION
DE CONSULTORES AMBIENTALES**

Anexo 4: Mapa de Ubicación de Puntos



MAPA DE RUIDO TIPO DISTRIBUTIVO	
Empresa: CENTRO DE SALUD	Realizado por: ECUADORAMBIENTAL
SIMBOLOGÍA	
 Med. Tapa Cerrada	NIVELES DE RUIDO Y # CÓDIGO DE MEDICION 
 Med. Tapa Abierta	

Anexo 2 6 Informe de instalación

Informe de Calidad Eléctrica

Introducción

Éste es un informe sobre el estudio de calidad eléctrica realizado en el Centro de Atención Ambulatoria Central del IESS, ubicado en la dirección Benalcazar N8-12 y Manabí, Quito - Ecuador, según los datos registrados en las ubicaciones Bioquímica Toma doble pared 26/02/14 10:02:48 y Bioquímica UPS VGD-3000 26/02/14 10:58:26.

Este informe se compone de:

- Sección de condiciones iniciales. Se definen las condiciones de suministro eléctrico en las ubicaciones antes mencionadas.
- Sección de eventos. Contiene un informe de los eventos de tensión que se produjeron en estas ubicaciones durante los intervalos de registro. Los eventos se definen como cambios en la tensión registrada con respecto a la tensión nominal.
- Sección de tensión, corriente y frecuencia (V, I, Hz). Esta sección contiene gráficos de evolución temporal de cada uno de estos parámetros durante el intervalo de registro.
- Sección de armónicos. Presenta los armónicos de tensión y corriente, y los gráficos de evolución temporal de la distorsión armónica obtenidos durante el intervalo de registro.

Información del sitio y ubicación del registrador

Información del sitio

Nombre CAA CENTRAL IESS Quito

Fecha y hora 26/02/14 10:02:48

Número de teléfono 0995065495

Contacto Lesly Ruiz

Memorándum

Descripción del problema Verificación de parámetros eléctricos para funcionamiento de una máquina.

Fecha de la primera observación 26/02/14

Costo del problema

Ubicación 1 del registrador y datos eléctricos del punto de registro

Nombre	Bioquímica Toma doble pared
Análisis de potencia	Monofásica
Fase de alimentación	Desconocido
Teléfono	
Fecha y hora	26/02/14 10:02:48
Tensión nominal	120 Voltios
Frecuencia nominal	60 Hz

Ubicación 2 del registrador y datos eléctricos del punto de registro

Nombre	Bioquímica UPS VGD-3000
Análisis de potencia	Monofásica
Fase de alimentación	Desconocido
Teléfono	
Fecha y hora	26/02/14 10:58:26
Tensión nominal	120 Voltios
Frecuencia nominal	60 Hz

Parámetros del Informe

Este informe fue preparado con el muestreo realizado con el equipo Reliable Power Meters Model 1656 Serial 11804. Los siguientes límites se utilizaron para analizar los resultados.

- Tensión de fase máxima. 127 V
- Tensión de fase mínima. 113 V
- Tensión de neutro máxima. 1 V
- Tensión de impulso máxima. 500 V
- Tensión de forma de onda máxima. 10 V
- Desviación de frecuencia máxima. 2 Hz
- Distorsión armónica total (THD) de tensión máxima. 5 %

Los valores que se encuentran fuera de estos límites se apuntan en el informe. Los valores que se encuentran entre los límites se consideran dentro de un rango de funcionamiento seguro. Estos límites fueron programados por Servicios de ingeniería.

Condiciones Iniciales

Las siguientes tablas y gráficos presentan un resumen de todos los parámetros eléctricos de esta ubicación. Los parámetros marcados con un '*' se encuentran fuera de los límites definidos anteriormente.

Mediciones eléctricas generales realizadas en CAA CENTRAL IESS Quito: Bioquímica Toma doble pared desde el 26/02/14 10:02, al 26/02/14 10:32.

Medición	Fase A	Neutro	Tierra
Tensión RMS verdadera	118.0V	2.20V*	
Tensión máxima de pico a pico	166.87V		
Tensión RMS fundamental	114.63V		
THD de la tensión	4.63%	220%*	

Mediciones eléctricas generales realizadas en CAA CENTRAL IESS Quito: Bioquímica UPS VGD-3000 desde el 26/02/14 10:58, al 26/02/14 11:28.

Medición	Fase A	Neutro	Tierra
Tensión RMS verdadera	119.5V	2.19V*	
Tensión máxima de pico a pico	168.99V		
Tensión RMS fundamental	118.53V		
THD de la tensión	0.99%	219%*	

Una o más de las condiciones iniciales superan los límites definidos anteriormente. Se recomienda implementar medidas correctivas para reducir o eliminar estas condiciones.

Tensiones nominales

Tensiones de fase:

Las tensiones de fase que superan la tensión nominal pueden dañar los equipos electrónicos sensibles o causar un sobrecalentamiento. Las tensiones de fase bajas pueden provocar el funcionamiento intermitente de los equipos y/o su sobrecalentamiento.

Tensiones de neutro a tierra:

Las tensiones de neutro excesivas pueden indicar la existencia de problemas de cableado o que las cargas de la alimentación superan la capacidad nominal del cableado.

REPORTE DE CALIBRACION

Cliente: SERVO CONT S.A.
 Sr. Cristian Gonzales
 Quito, Av. Manuel Godoy N57-82
 Telf. 2405052

Reporte No.: BF07808RPM
Fecha Ini.Cal.: 2 007-11-01
Fecha Fin Cal.: 2 007-11-08

Equipo: ANALIZADOR DE POTENCIA
 Marca RPM
 Modelo 1650
 Serie 1656-11804

PATRONES: CALIBRADOR WAVETEK
 Modelo 9100
 Serie 31599
CALIBRADOR FLUKE
 Modelo 5700A
 Serie 6115304
AMPLIFICADOR FLUKE
 Modelo 5725A
 Serie 6085004

Proced. Empleado: PNC-CMFT-BF-005

Temperatura media: 23°C



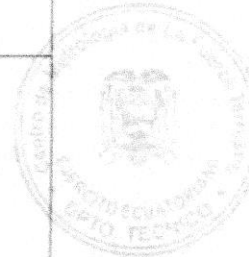
# Item	PARAMETRO RANGO	VALOR	LECTURA MEDIA	CORRECCION (%)	INCERTID. (±%)	OBSERVACION
VOLTAJE AC. (CANAL A)						
		V				
1	V 100 60Hz	10.0000	9.973	0.27	0.13	
2	V 100 60Hz	50.0000	49.622	0.77	0.80	
3	V 100 60Hz	90.0000	89.680	0.36	0.06	
4	V 120 60Hz	12.0000	11.958	0.36	0.11	
5	V 120 60Hz	60.0000	59.790	0.36	0.06	
6	V 120 60Hz	108.0000	107.62	0.36	0.08	
7	V 200 60Hz	20.0000	19.927	0.37	0.10	
8	V 200 60Hz	100.0000	99.630	0.38	0.09	
9	V 200 60Hz	180.0000	179.36	0.36	0.07	
10	V 208 60Hz	21.0000	20.922	0.37	0.10	
11	V 208 60Hz	104.0000	103.73	0.26	0.22	
12	V 208 60Hz	188.0000	187.33	0.36	0.07	
13	V 220 60Hz	22.0000	21.924	0.35	0.10	
14	V 220 60Hz	110.0000	109.61	0.36	0.08	
15	V 220 60Hz	198.0000	197.29	0.36	0.07	
16	V 230 60Hz	23.0000	22.920	0.35	0.09	
17	V 230 60Hz	115.0000	114.58	0.37	0.08	
18	V 230 60Hz	207.0000	206.29	0.35	0.08	
19	V 277 60Hz	28.0000	27.901	0.35	0.09	
20	V 277 60Hz	139.0000	138.51	0.36	0.08	
21	V 277 60Hz	250.0000	249.09	0.37	0.07	
22	V 380 60Hz	38.0000	37.932	0.18	0.38	

C.M.F.T.

Centro de Metrología de la Fuerza Terrestre

Laboratorio de DC. y Baja Frecuencia

# Item	PARAMETRO RANGO	VALOR	LECTURA MEDIA	CORRECCION (%)	INCERTID. (±%)	OBSERVACION
23	V 380 60Hz	190.000	189.30	0.37	0.07	
24	V 380 60Hz	342.000	340.76	0.37	0.08	
25	V 400 60Hz	40.0000	39.856	0.36	0.07	
26	V 400 60Hz	200.000	199.30	0.35	0.07	
27	V 400 60Hz	360.000	358.67	0.38	0.08	
28	V 415 60Hz	42.0000	41.859	0.34	0.09	
29	V 415 60Hz	208.000	207.24	0.37	0.07	
30	V 415 60Hz	374.000	372.65	0.37	0.08	
31	V 440 60Hz	44.0000	44.646	-1.45	0.90	
32	V 440 60Hz	220.000	219.20	0.37	0.07	
33	V 440 60Hz	396.000	394.48	0.39	0.09	
34	V 480 60Hz	48.0000	47.825	0.37	0.07	
35	V 480 60Hz	240.000	239.12	0.37	0.07	
36	V 480 60Hz	432.000	430.36	0.39	0.08	
37	V 500 60Hz	50.0000	59.777	0.37	0.06	
38	V 500 60Hz	300.000	298.92	0.36	0.07	
39	V 500 60Hz	540.000	537.85	0.40	0.07	
VOLTAJE AC. (CANAL B)						
		V				
40	V 100 60Hz	10.0000	10.010	-0.10	0.15	
41	V 100 60Hz	50.0000	50.009	-0.01	0.06	
42	V 100 60Hz	90.0000	90.010	-0.01	0.06	
43	V 120 60Hz	12.0000	12.001	-0.01	0.12	
44	V 120 60Hz	60.0000	60.006	0.00	0.06	
45	V 120 60Hz	108.0000	108.02	-0.02	0.08	
46	V 200 60Hz	20.0000	20.003	-0.01	0.10	
47	V 200 60Hz	100.0000	100.012	-0.01	0.08	
48	V 200 60Hz	180.000	180.02	-0.01	0.07	
49	V 208 60Hz	21.0000	21.026	-0.12	0.22	
50	V 208 60Hz	104.000	104.01	0.00	0.08	
51	V 208 60Hz	188.000	188.03	-0.01	0.07	
52	V 220 60Hz	22.0000	21.768	1.07	1.78	
53	V 220 60Hz	110.000	110.01	-0.01	0.08	
54	V 220 60Hz	198.000	198.04	-0.02	0.07	
55	V 230 60Hz	23.0000	23.011	-0.05	0.10	
56	V 230 60Hz	115.000	115.02	-0.01	0.08	
57	V 230 60Hz	207.000	207.04	-0.02	0.07	
58	V 277 60Hz	28.0000	27.998	0.01	0.09	
59	V 277 60Hz	139.000	138.97	0.03	0.10	
60	V 277 60Hz	250.000	250.04	-0.01	0.07	
61	V 380 60Hz	38.0000	38.002	0.00	0.07	
62	V 380 60Hz	190.000	190.01	0.00	0.07	
63	V 380 60Hz	342.000	342.05	-0.01	0.08	
64	V 400 60Hz	40.0000	40.004	-0.01	0.07	
65	V 400 60Hz	200.000	200.01	0.00	0.07	



C.M.F.T.

Centro de Metrología de la Fuerza Trémitra

Laboratorio de DC. y Baja Frecuencia

# Item	PARAMETRO RANGO	VALOR	LECTURA MEDIA	CORRECCION (%)	INCERTID. (±%)	OBSERVACION
66	V 400 60Hz	360.000	360.04	0.00	0.08	
67	V 415 60Hz	42.0000	42.000	0.00	0.07	
68	V 415 60Hz	208.000	208.01	0.00	0.07	
69	V 415 60Hz	374.000	374.03	0.00	0.08	
70	V 440 60Hz	44.0000	44.005	-0.01	0.07	
71	V 440 60Hz	220.000	220.01	0.00	0.07	
72	V 440 60Hz	396.000	396.02	0.00	0.08	
73	V 480 60Hz	48.0000	47.797	0.43	0.84	
74	V 480 60Hz	240.000	240.04	-0.01	0.07	
75	V 480 60Hz	432.000	431.99	0.01	0.08	
76	V 600 60Hz	60.0000	59.995	0.01	0.06	
77	V 600 60Hz	300.000	300.05	-0.01	0.07	
78	V 600 60Hz	540.000	539.93	0.02	0.07	
VOLTAJE AC. (CANAL C)						
V						
79	V 100 60Hz	10.0000	10.010	-0.10	0.11	
80	V 100 60Hz	50.0000	49.622	0.77	0.80	
81	V 100 60Hz	90.0000	90.047	-0.05	0.06	
82	V 120 60Hz	12.0000	11.998	0.02	0.11	
83	V 120 60Hz	60.0000	60.023	-0.03	0.06	
84	V 120 60Hz	108.0000	108.06	-0.05	0.08	
85	V 200 60Hz	20.0000	20.010	-0.05	0.10	
86	V 200 60Hz	100.0000	100.056	-0.05	0.08	
87	V 200 60Hz	180.000	180.10	-0.05	0.07	
88	V 208 60Hz	21.0000	21.009	-0.04	0.10	
89	V 208 60Hz	104.000	104.04	-0.03	0.08	
90	V 208 60Hz	188.000	188.08	-0.04	0.07	
91	V 220 60Hz	22.0000	22.008	-0.04	0.10	
92	V 220 60Hz	110.000	110.05	-0.05	0.08	
93	V 220 60Hz	198.000	198.09	-0.04	0.07	
94	V 230 60Hz	23.0000	23.013	-0.06	0.10	
95	V 230 60Hz	115.000	115.06	-0.04	0.08	
96	V 230 60Hz	207.000	207.10	-0.04	0.07	
97	V 277 60Hz	28.0000	28.014	-0.05	0.09	
98	V 277 60Hz	139.000	139.05	-0.03	0.08	
99	V 277 60Hz	250.000	250.10	-0.04	0.07	
100	V 380 60Hz	38.0000	38.011	-0.03	0.07	
101	V 380 60Hz	190.000	190.07	-0.03	0.07	
102	V 380 60Hz	342.000	342.13	-0.03	0.08	
103	V 400 60Hz	40.0000	40.014	-0.03	0.07	
104	V 400 60Hz	200.000	200.01	0.00	0.07	
105	V 400 60Hz	360.000	360.04	0.00	0.08	
106	V 415 60Hz	42.0000	41.997	0.01	0.07	
107	V 415 60Hz	208.000	207.93	0.04	0.07	
108	V 415 60Hz	374.000	373.90	0.03	0.06	
109	V 440 60Hz	44.0000	43.991	0.02	0.07	



C.M.F.T.

Centro de Metrología de la Fuerza Terrestre

Laboratorio de DC. y Baja Frecuencia

# Item	PARAMETRO RANGO	VALOR	LECTURA MEDIA	CORRECCION (%)	INCERTID. (±%)	OBSERVACION
111	V 440 60Hz	396.000	395.90	0.03	0.08	
112	V 480 60Hz	48.0000	47.986	0.03	0.06	
113	V 480 60Hz	240.000	239.92	0.04	0.07	
114	V 480 60Hz	432.000	431.87	0.04	0.08	
115	V 600 60Hz	60.0000	59.983	0.03	0.06	
116	V 600 60Hz	300.000	299.91	0.03	0.07	
117	V 600 60Hz	540.000	539.75	0.05	0.08	
<p>PINZA AMPERIMETRICA</p> <p>Marca: Reliable Modelo: 3005 Serie: 11NN3936Dv</p> <p>CORRIENTE AC</p>						
CANAL A						
118	A 5 60Hz	mA		-1.10	0.52	
		500.000	505.57			
119	A 5 60Hz	A		-1.05	0.30	
		2.50000	2.5280			
120	A 5 60Hz	4.50000	4.5516	-1.10	0.28	
CANAL B						
121	A 5 60Hz	mA		-0.12	0.52	
		500.000	500.62			
122	A 5 60Hz	A		-1.07	0.30	
		2.50000	2.5285			
123	A 5 60Hz	4.50000	4.5490	-1.04	0.27	
CANAL C						
124	A 5 60Hz	mA		-1.14	0.52	
		500.000	505.78			
125	A 5 60Hz	A		-1.09	0.30	
		2.50000	2.5290			
126	A 5 60Hz	4.50000	4.5506	-1.08	0.27	



C.M.F.T.

Centro de Metrología de la Fuerza Terrestre

Laboratorio de DC. y Baja Frecuencia

# Item	PARAMETRO RANGO	VALOR	LECTURA MEDIA	CORRECCION (%)	INCERTID. (±%)	OBSERVACION
PINZA AMPERIMETRICA						
Marca: Reliable Modelo: 3005 Serie: 11NN3924Dv						
CORRIENTE AC						
CANAL A						
127	A 5 60Hz	mA		0.32	0.53	
		500.000	498.41			
		A				
128	A 5 60Hz	2.50000	2.5004	0.04	0.30	
129	A 5 60Hz	4.50000	4.4964	0.11	0.27	
CANAL B						
130	A 5 60Hz	mA		0.25	0.53	
		500.000	498.77			
		A				
131	A 5 60Hz	2.50000	2.5009	0.02	0.30	
132	A 5 60Hz	4.50000	4.4978	0.08	0.27	
CANAL C						
133	A 5 60Hz	mA		0.10	0.52	
		500.000	499.52			
		A				
134	A 5 60Hz	2.50000	2.5005	0.04	0.30	
135	A 5 60Hz	4.50000	4.4979	0.08	0.27	
PINZA AMPERIMETRICA						
Marca: Reliable Modelo: 3005 Serie: 11NN3934Dv						
CORRIENTE AC						
CANAL A						
136	A 5 60Hz	mA		10.00	0.55	
		500.000	454.56			
		A				
137	A 5 60Hz	2.50000	2.2770	9.86	0.30	
138	A 5 60Hz	4.50000	4.1008	9.77	0.28	



C.M.F.T.

Centro de Metrología de la Fuerza Terrestre

Laboratorio de DC. y Baja Frecuencia

# Item	PARAMETRO RANGO	VALOR	LECTURA MEDIA	CORRECCION (%)	INCERTID. (±%)	OBSERVACION
CANAL B						
139	A 5 60Hz	mA		9.96	0.55	
		500.000	454.70			
		A				
140	A 5 60Hz	2.50000	2.2778	9.82	0.30	
141	A 5 60Hz	4.50000	4.1025	9.73	0.28	
CANAL C						
142	A 5 60Hz	mA		7.55	4.41	
		500.000	464.90			
		A				
143	A 5 60Hz	2.50000	2.2883	9.31	0.69	
144	A 5 60Hz	4.50000	4.1028	9.72	0.28	
PINZA AMPERIMETRICA						
Marca: Reliable Modelo: 3014 Serie: 01MM8214Dv						
CORRIENTE AC						
CANAL A						
145	A 40 60Hz	A		-0.40	0.28	
		4.00000	4.0174			
146	A 40 60Hz	20.00000	20.1250	-0.61	0.25	
147	A 40 60Hz	36.00000	36.2160	-0.59	0.27	
CANAL B						
148	A 40 60Hz	A		-0.46	0.28	
		4.00000	4.0200			
149	A 40 60Hz	20.00000	20.1328	-0.65	0.25	
150	A 40 60Hz	36.00000	36.2260	-0.62	0.27	
CANAL C						
151	A 40 60Hz	A		-0.45	0.28	
		4.00000	4.0195			
152	A 40 60Hz	20.00000	20.1334	-0.66	0.25	
153	A 40 60Hz	36.00000	36.2492	-0.68	0.28	

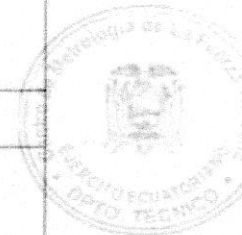


C.M.F.T.

Centro de Metrología de la Fuerza Terrestre

Laboratorio de DC. y Baja Frecuencia

# Item	PARAMETRO RANGO	VALOR	LECTURA MEDIA	CORRECCION (%)	INCERTID. (±%)	OBSERVACION
SONDA AMPERIMETRICA						
Marca: CE Modelo: CAT III Serie: 01						
CORRIENTE AC						
CANAL A						
			A			
154	A 1000 60Hz	100.000	100.70	-0.68	0.25	
155	A 1000 60Hz	500.000	505.09	-0.99	0.25	
156	A 1000 60Hz	800.000	808.34	-1.02	0.27	
CANAL B						
			A			
157	A 1000 60Hz	100.000	100.14	-0.12	0.25	
158	A 1000 60Hz	500.000	501.40	-0.26	0.25	
159	A 1000 60Hz	800.000	802.20	-0.27	0.27	
CANAL C						
			A			
160	A 1000 60Hz	100.000	99.98	0.03	0.25	
161	A 1000 60Hz	500.000	505.53	-1.08	0.25	
162	A 1000 60Hz	800.000	800.92	-0.11	0.27	
SONDA AMPERIMETRICA						
Marca: CE Modelo: CAT III Serie: 01NN2593Dv						
CORRIENTE AC						
CANAL A						
			A			
163	A 1000 60Hz	100.000	103.85	-3.69	0.26	
164	A 1000 60Hz	500.000	519.93	-3.82	0.25	
165	A 1000 60Hz	800.000	827.04	-3.26	0.27	
CANAL B						
			A			
166	A 1000 60Hz	100.000	102.81	-2.72	0.26	
167	A 1000 60Hz	500.000	515.93	-3.07	0.25	
168	A 1000 60Hz	800.000	820.92	-2.54	0.27	



C.M.F.T.

Centro de Metrología de la Fuerza Terrestre

Laboratorio de DC. y Baja Frecuencia

# Item	PARAMETRO RANGO	VALOR	LECTURA MEDIA	CORRECCION (%)	INCERTID. (±%)	OBSERVACION
CANAL C						
			A			
169	A 1000 60Hz	100.000	102.60	-2.52	0.26	
170	A 1000 60Hz	500.000	515.28	-2.95	0.25	
171	A 1000 60Hz	800.000	819.88	-2.42	0.27	
SONDA AMPERIMETRICA						
Marca: CE Modelo: CAT III Serie: 01NN2617Dv						
CORRIENTE AC						
CANAL A						
			A			
172	A 1000 60Hz	100.000	101.56	-1.52	0.26	
173	A 1000 60Hz	500.000	509.14	-1.78	0.25	
174	A 1000 60Hz	800.000	814.20	-1.74	0.27	
CANAL B						
			A			
175	A 1000 60Hz	100.000	100.95	-0.93	0.28	
176	A 1000 60Hz	500.000	505.46	-1.07	0.25	
177	A 1000 60Hz	800.000	807.74	-0.95	0.27	
CANAL C						
			A			
178	A 1000 60Hz	100.000	100.69	-0.67	0.25	
179	A 1000 60Hz	500.000	505.56	-1.09	0.25	
180	A 1000 60Hz	800.000	807.25	-0.89	0.27	

Realizado por



Sr. Manuel Ochoa
Téc. del Lab. DC & Baja Frecuencia



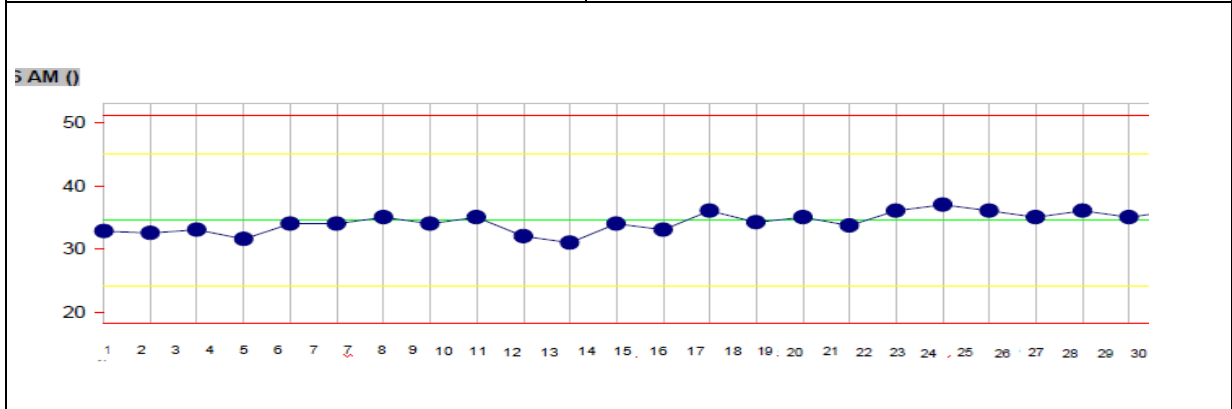
Revisado por



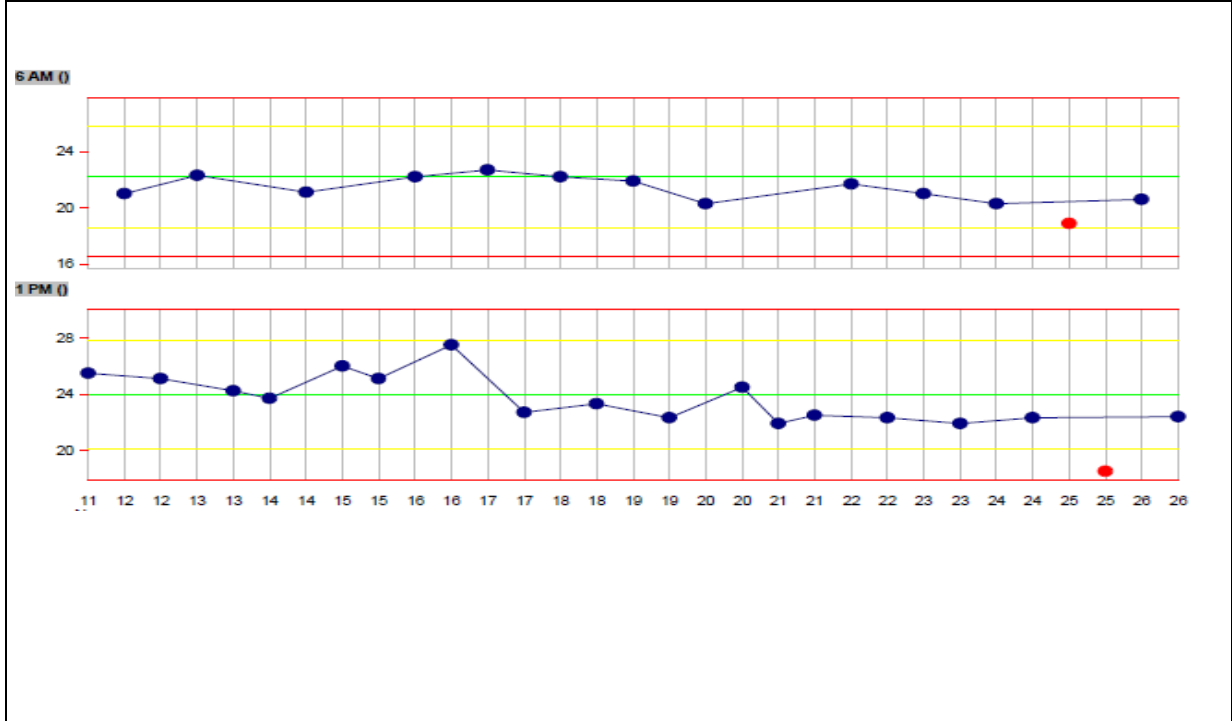
Sr. Ing. Bolívar Aguilera T.
Director Departamento Técnico

Anexo 2 7 Temperatura ambiental y humedad

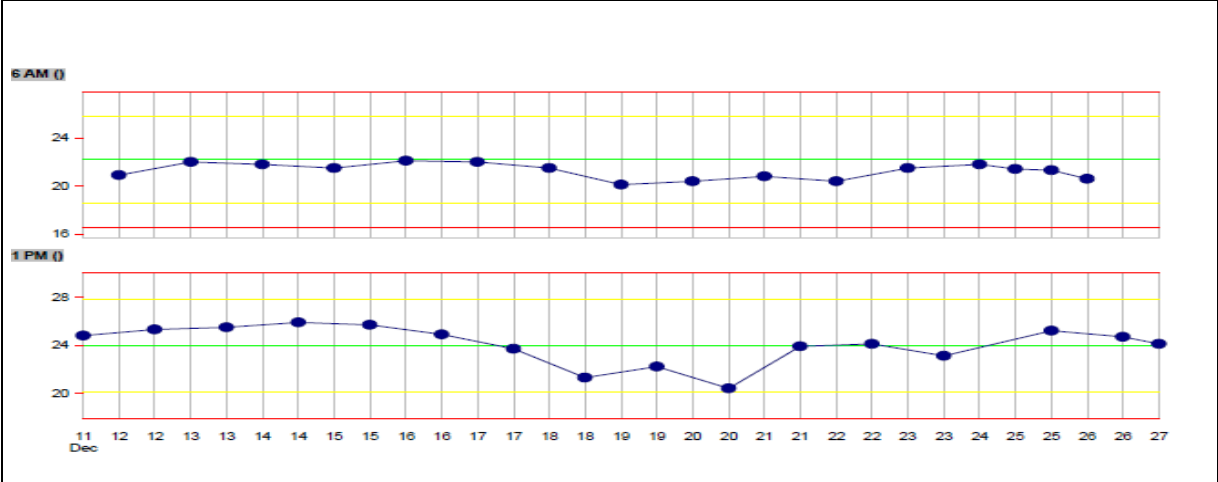
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Octubre/ 2014	Límite: Fijo



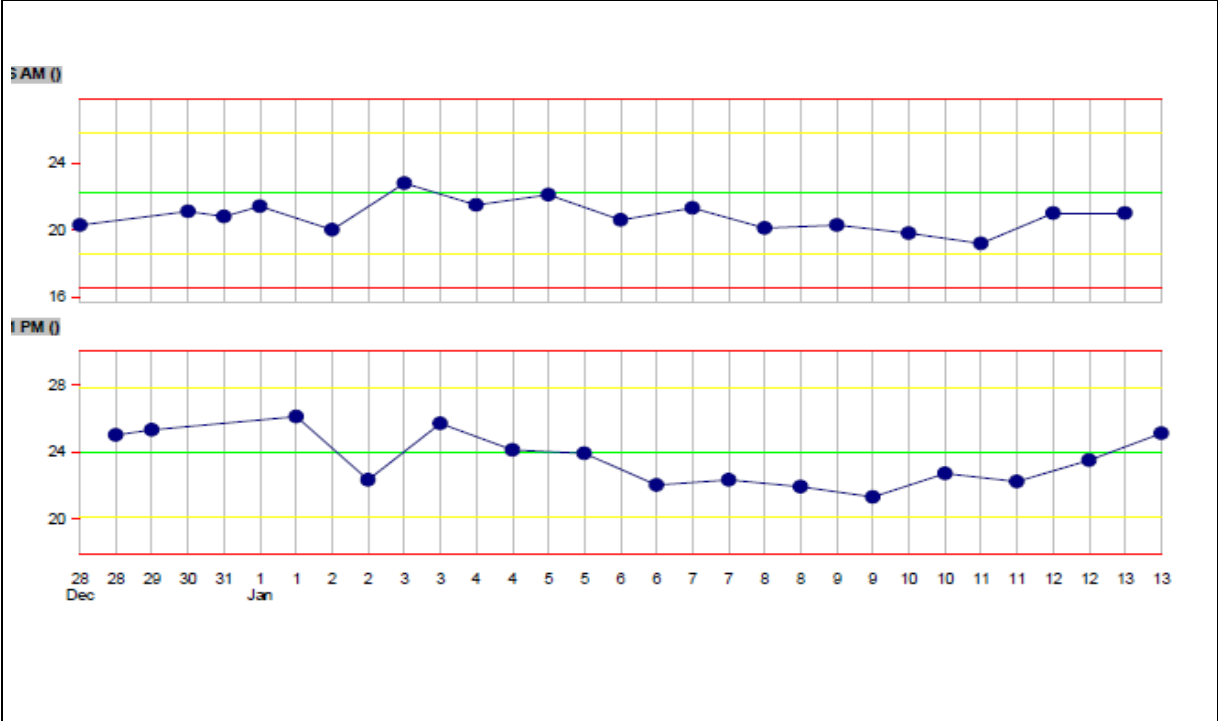
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Noviembre /2014	Límite: Fijo



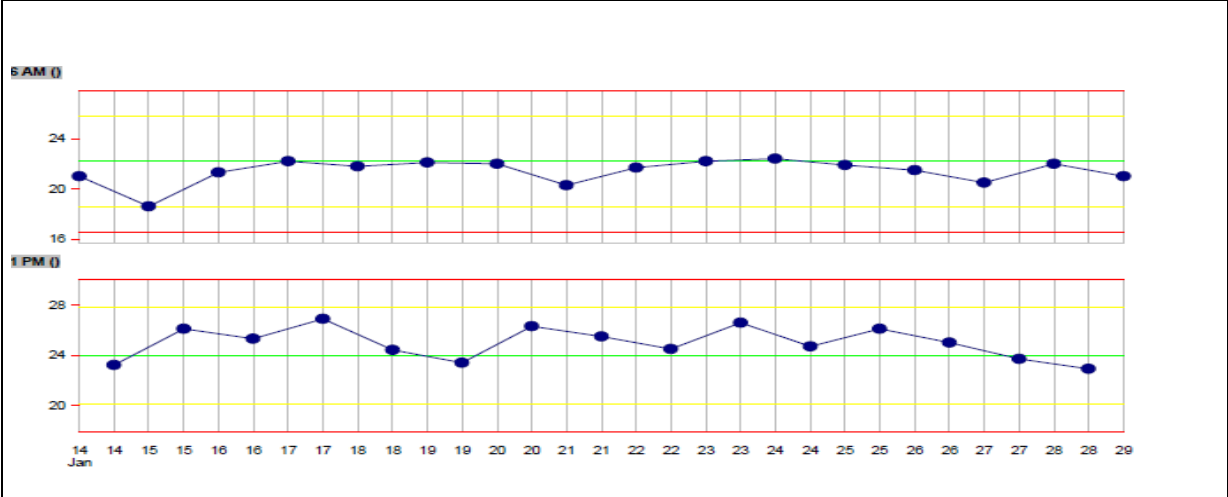
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Diciembre/2015	Límite: Fijo



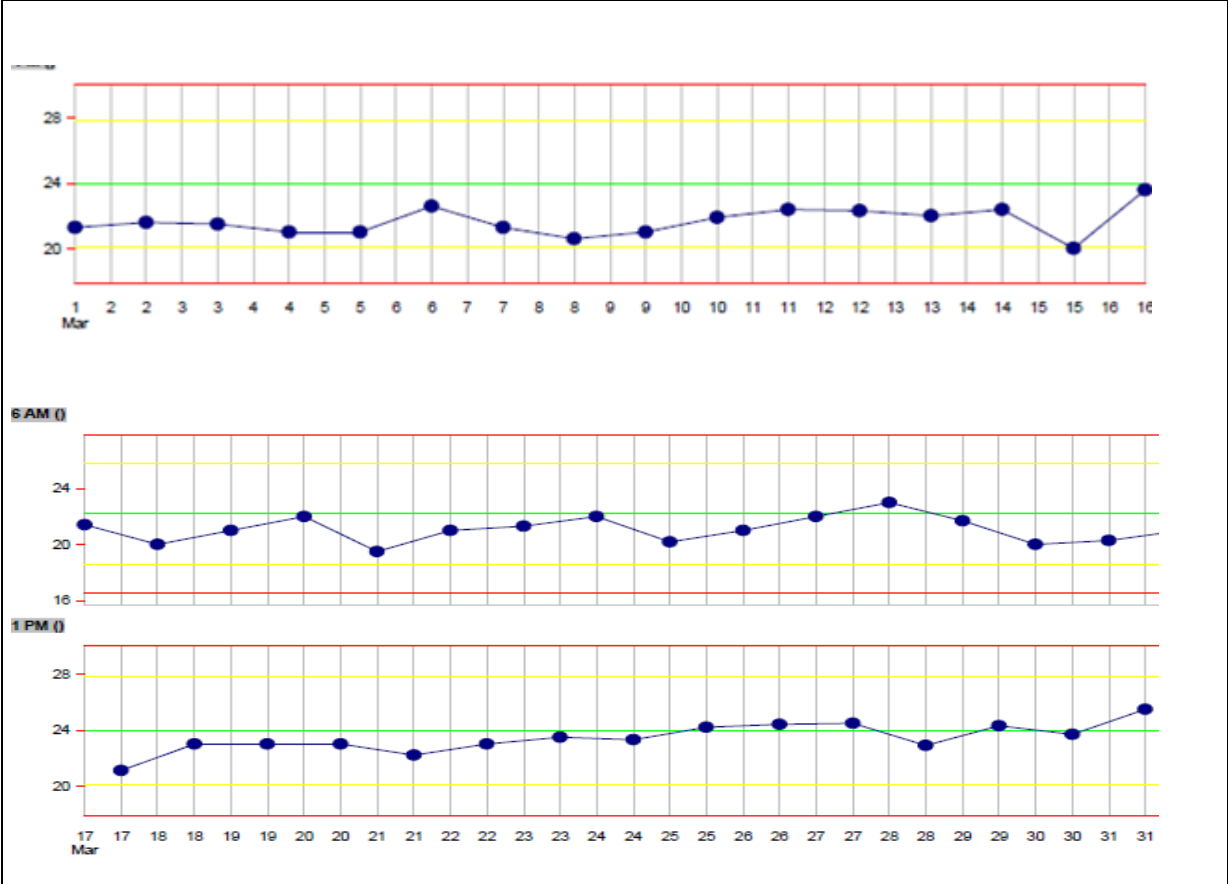
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Enero /2015	Límite: Fijo



Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Febrero /2015	Límite: Fijo



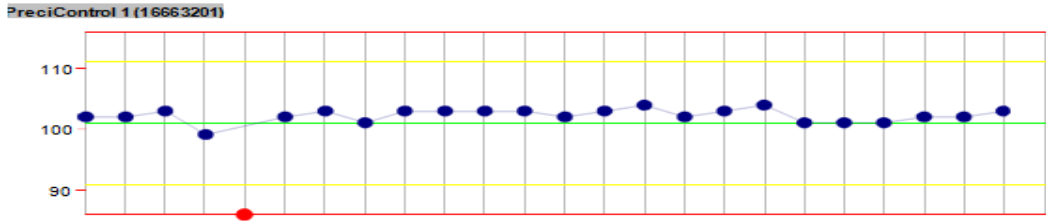
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Marzo /2015	Límite: Fijo



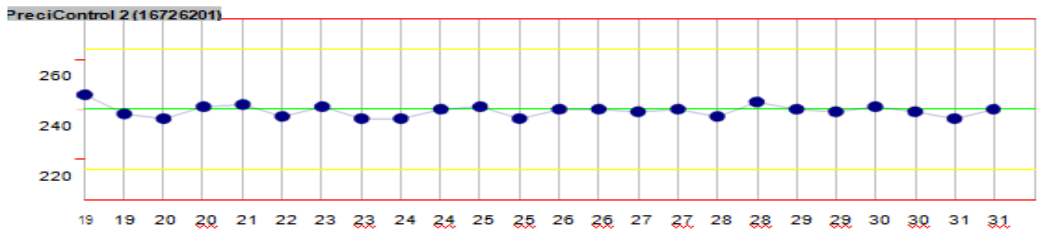
Anexo 3 Curvas de control interno para Glucosa Hexoquinasa

Software: MEDLAB QC		Control: PreciControl Norm 1	
Fecha: Octubre/ 2014		Límite: Fijo	
Software: MEDLAB QC		Control: PreciControl Path 2	
Fecha: Octubre /2014		Límite: Fijo	
Software: MEDLAB QC		Control: PreciControl Norm 1	
Fecha: Noviembre /2014	Hora: AM	Límite: Fijo	
Software: MEDLAB QC		Control: PreciControl Path 2	
Fecha: Noviembre /2014	Hora: AM	Límite: Fijo	

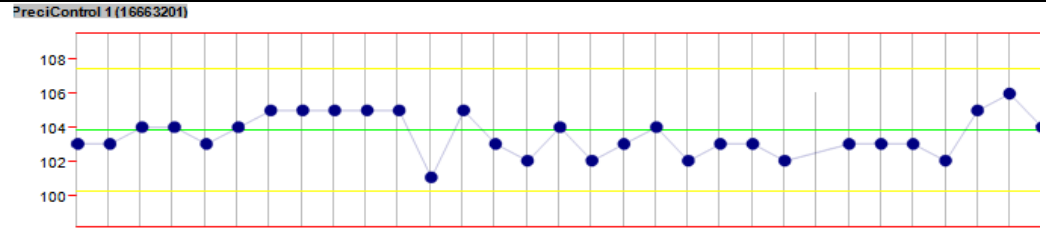
Software: MEDLAB QC		Control: PreciControl Norm 1
Fecha: Diciembre/ 2014	Hora: PM	Límite: Fijo



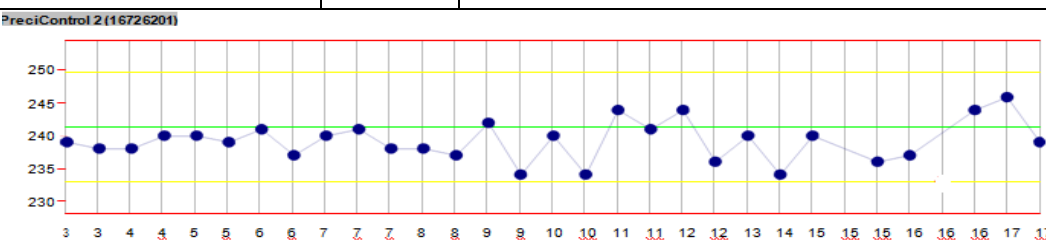
Software: MEDLAB QC		Control: PreciControl Path 2
Fecha: Diciembre /2014	Hora: PM	Límite: Fijo



Software: MEDLAB QC		Control: PreciControl Norm 1
Fecha: Enero /2015	Hora: AM	Límite: Fijo

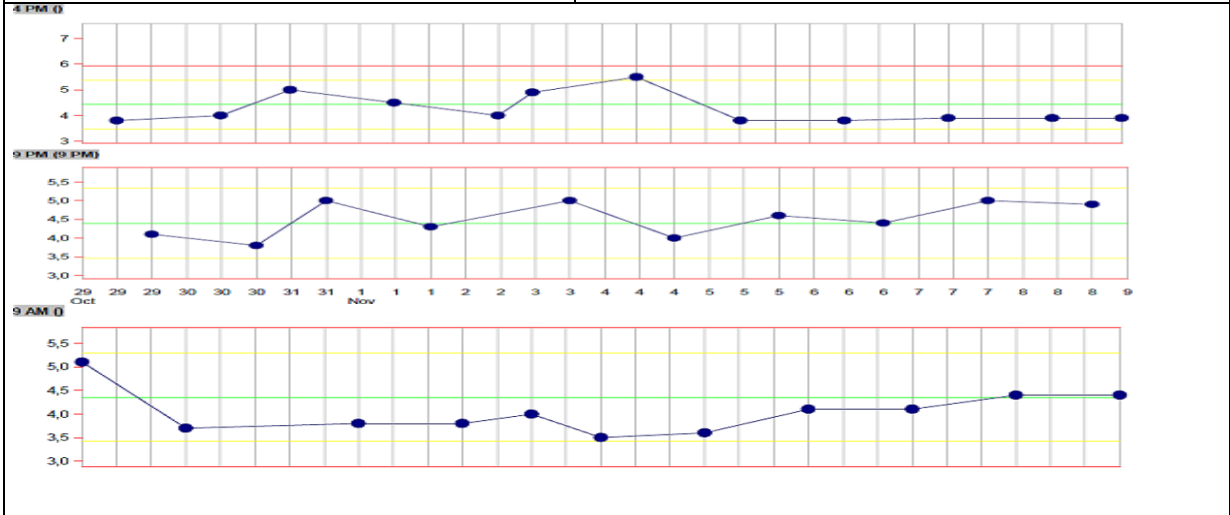


Software: MEDLAB QC		Control: PreciControl Path 2
Fecha: Enero /2015	Hora: AM	Límite: Fijo

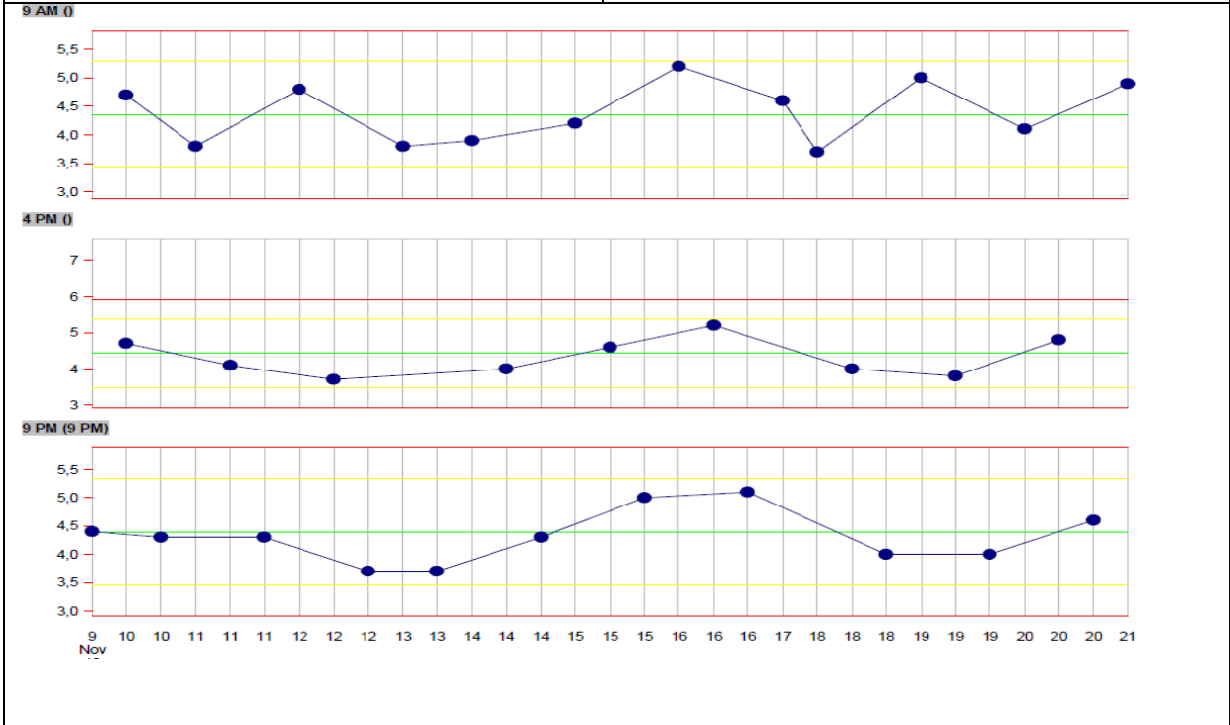


Anexo 4 Temperatura de almacenamiento reactivo GLUC3

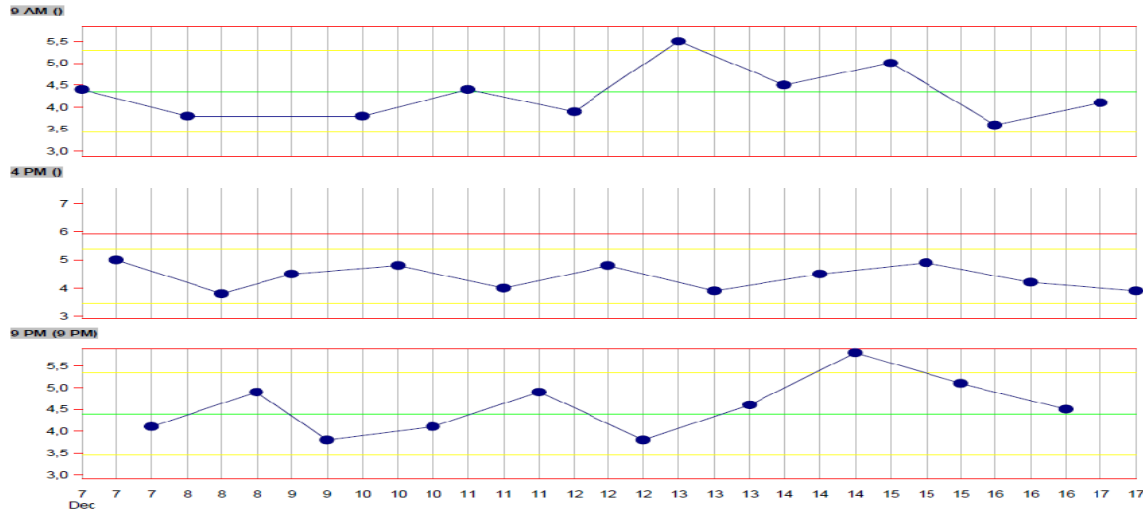
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1343-5
Fecha: Octubre/ 2014	Límite: Fijo



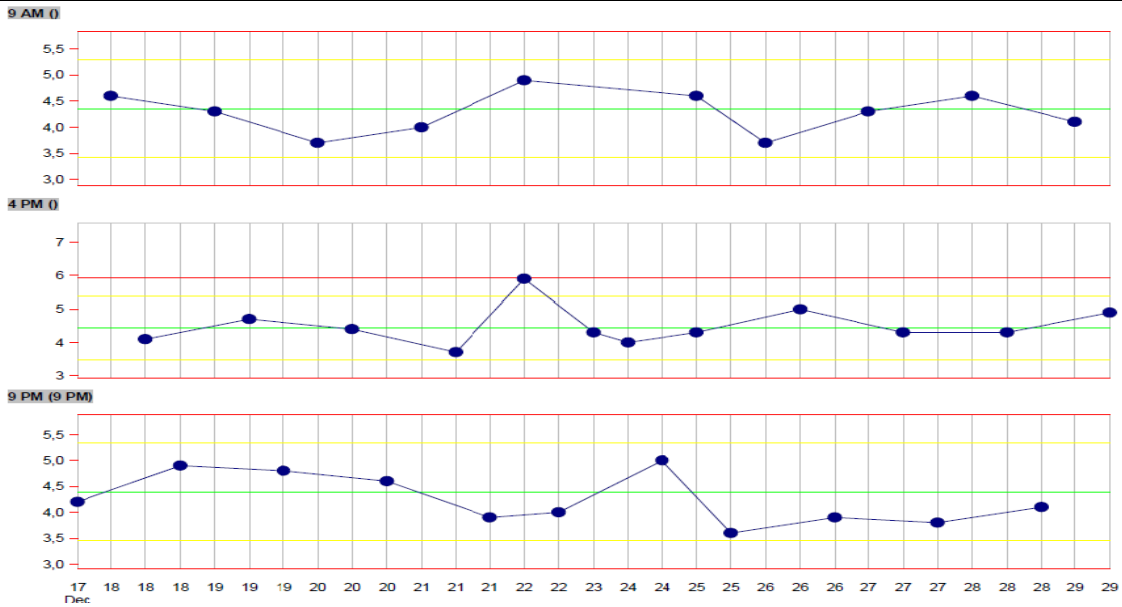
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1343-5
Fecha: Noviembre /2014	Límite: Fijo



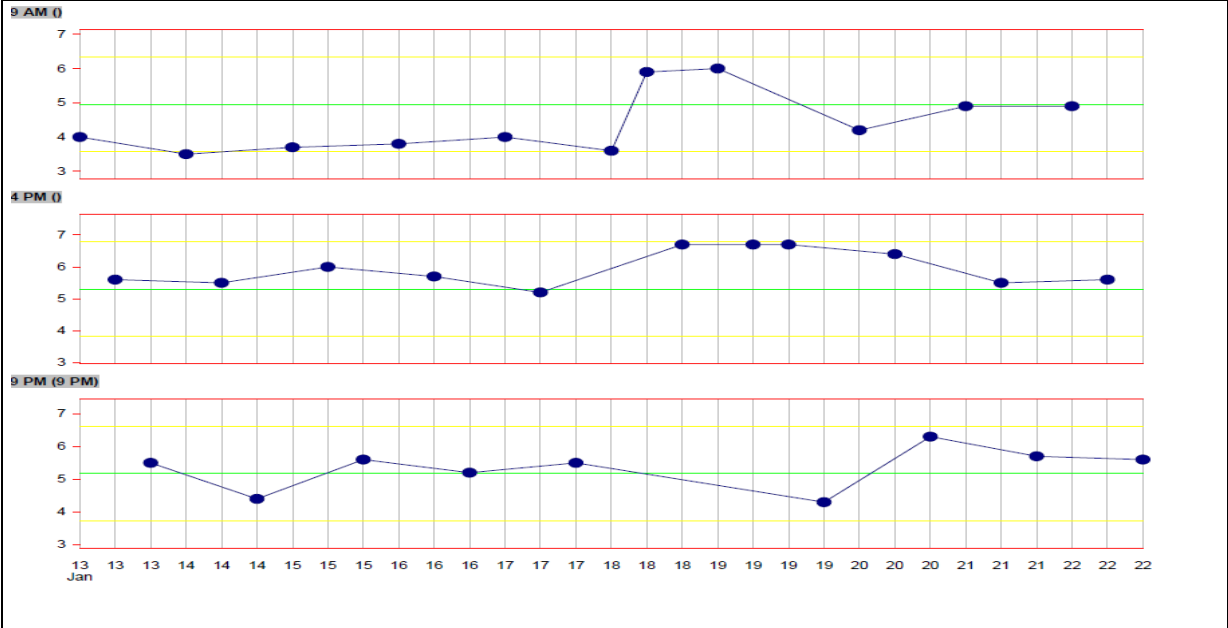
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1343-5
Fecha: Diciembre/ 2015	Límite: Fijo



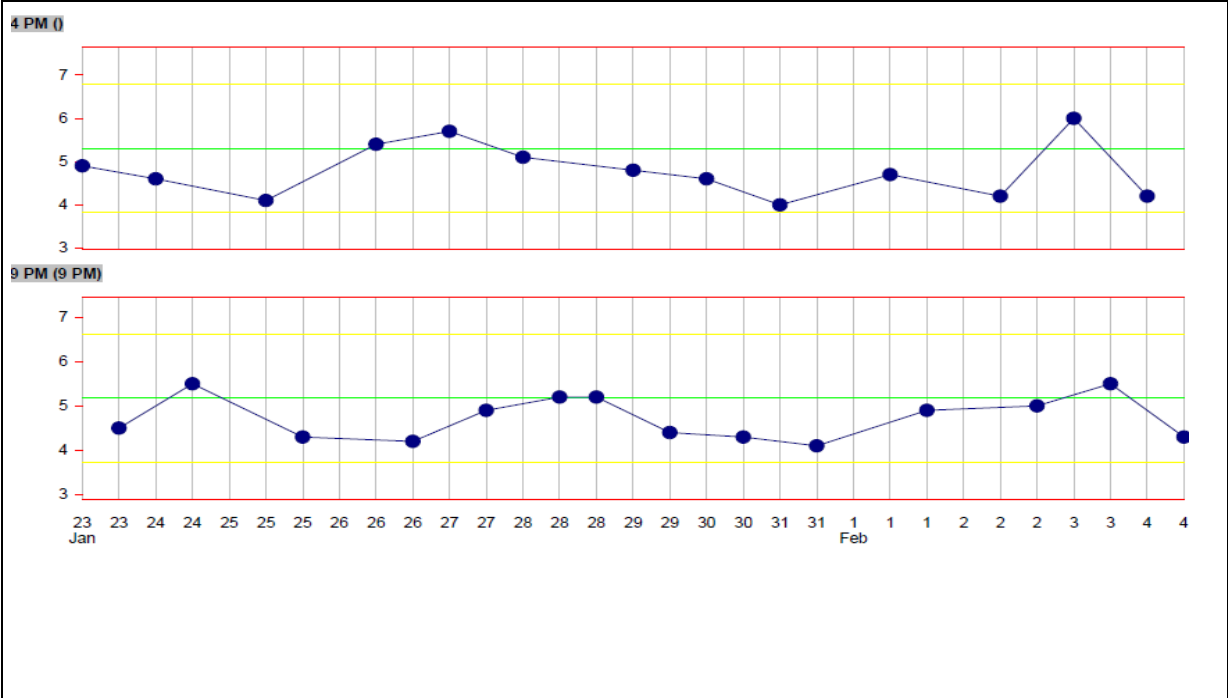
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1343-5
Fecha: Diciembre /2015	Límite: Fijo



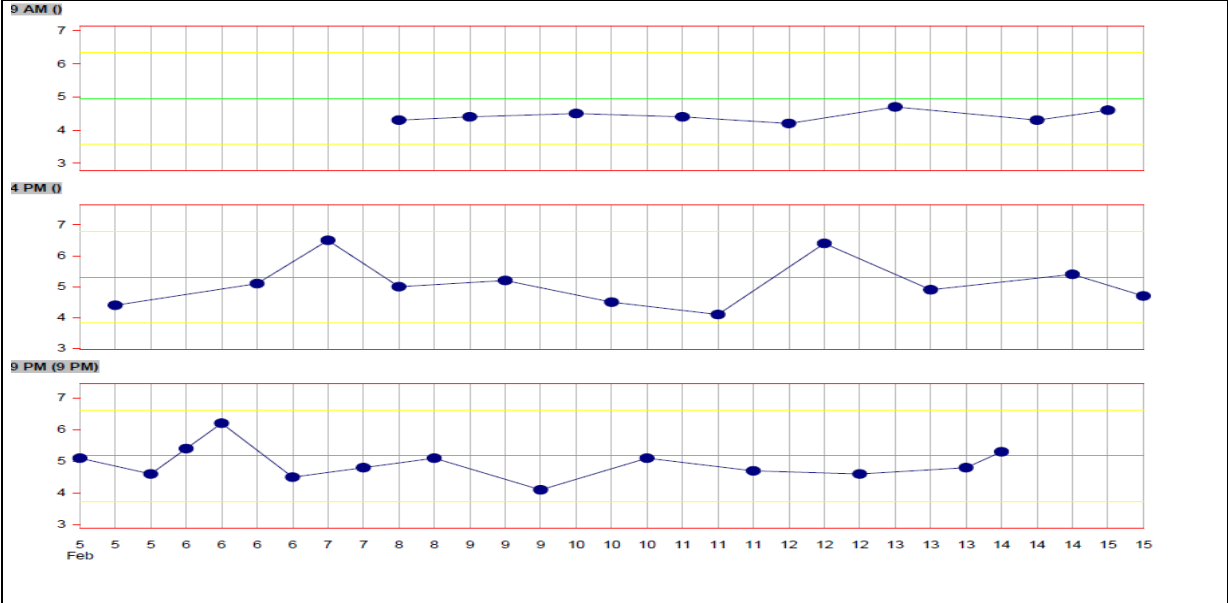
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1343-5
Fecha: Enero/ 2015	Límite: Fijo



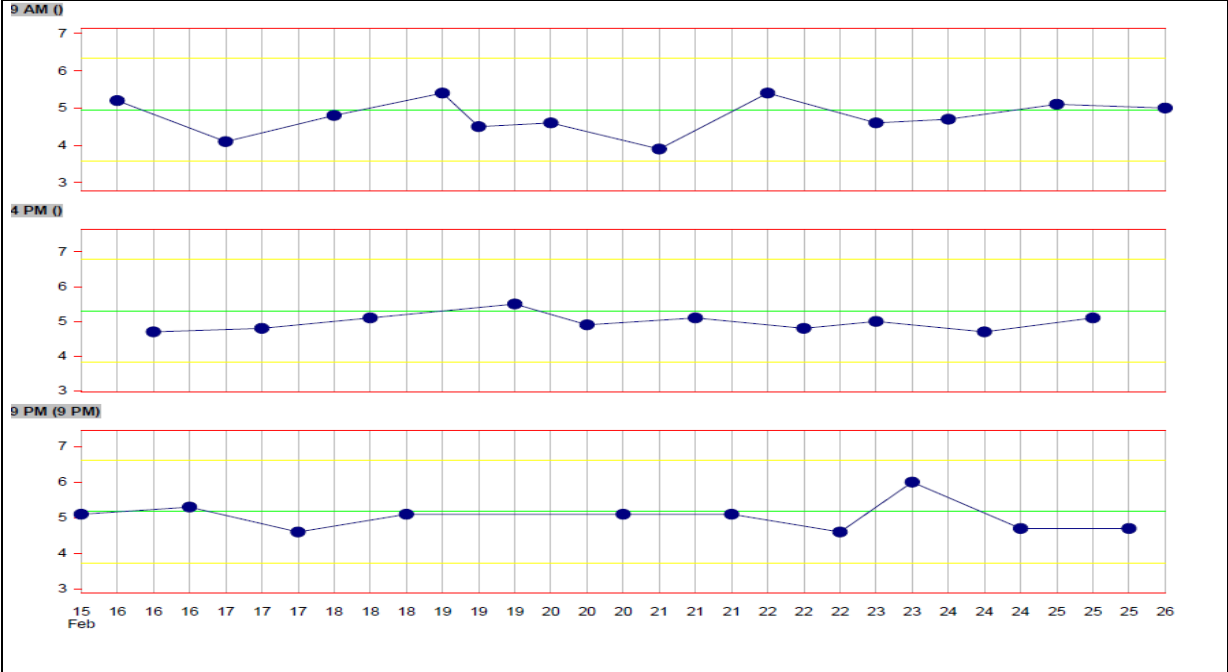
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1343-5
Fecha: Enero /2015	Límite: Fijo



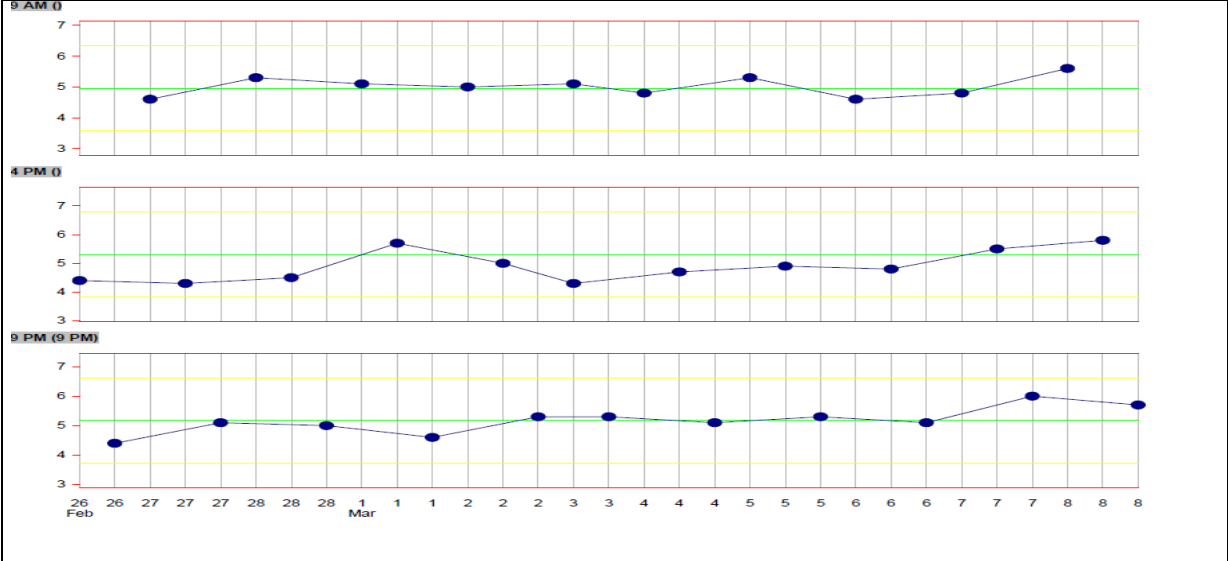
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1343-5
Fecha: Febrero/ 2015	Límite: Fijo



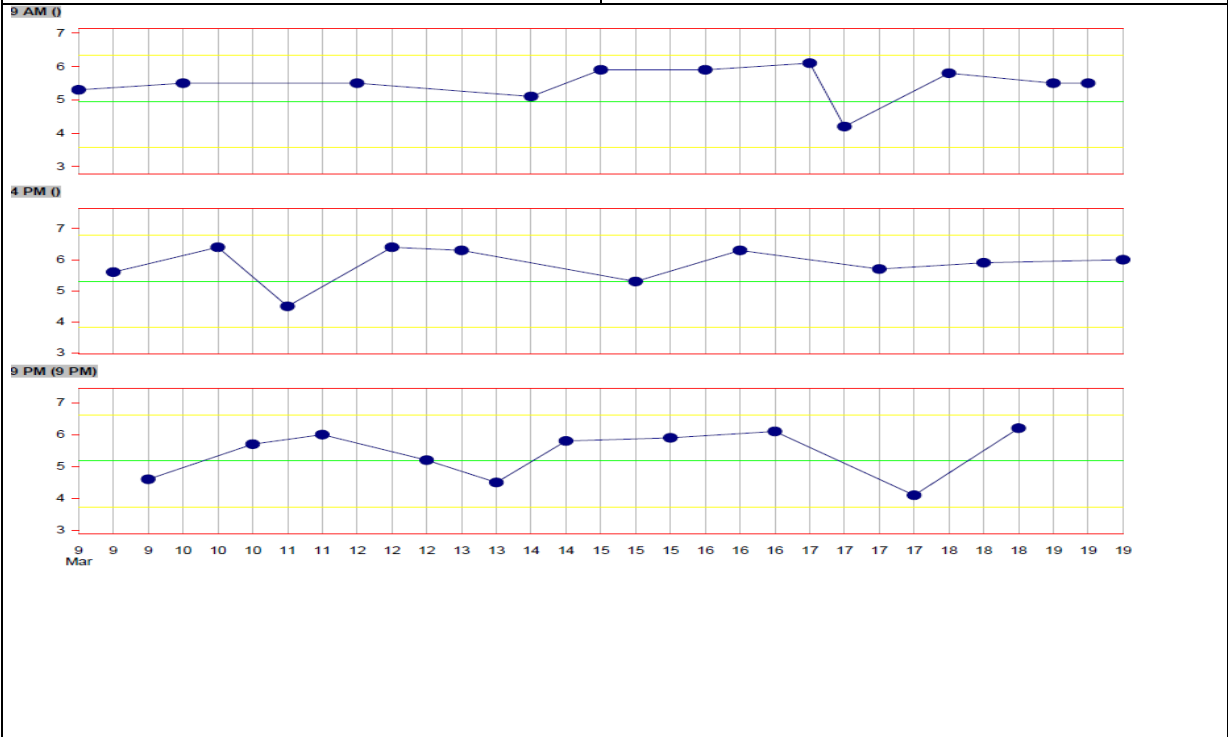
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1343-5
Fecha: Febrero /2015	Límite: Fijo



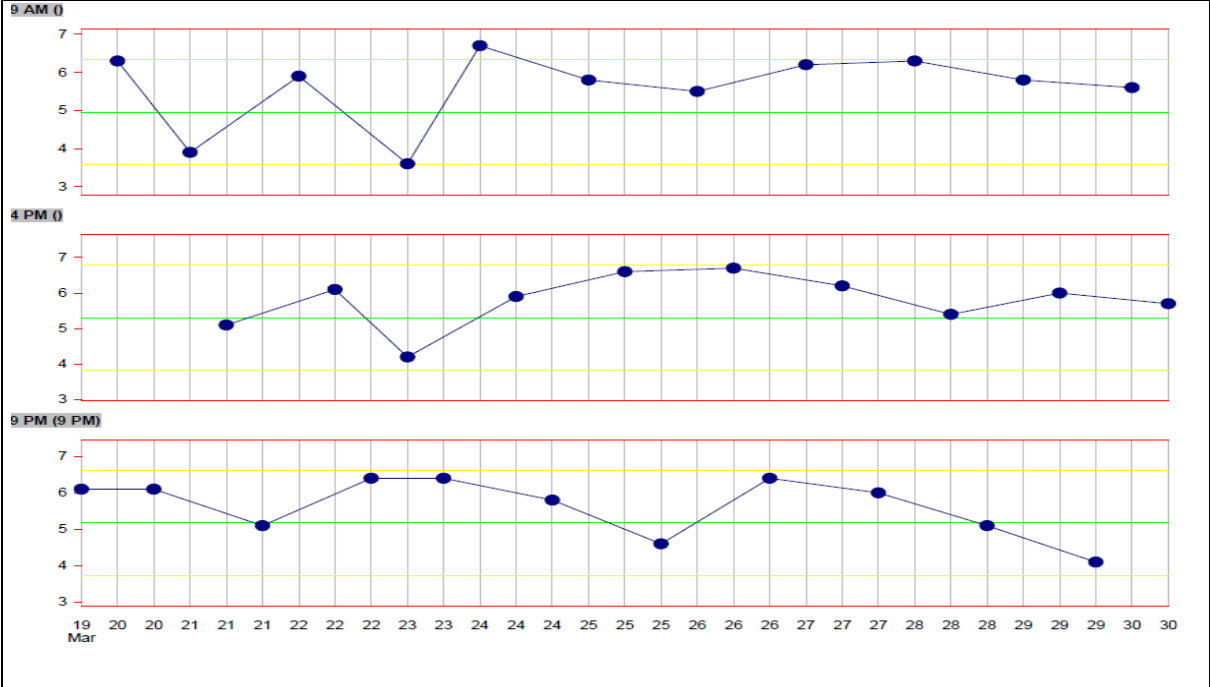
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1343-5
Fecha: Febrero/ 2015	Límite: Fijo



Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1343-5
Fecha: Marzo /2015	Límite: Fijo

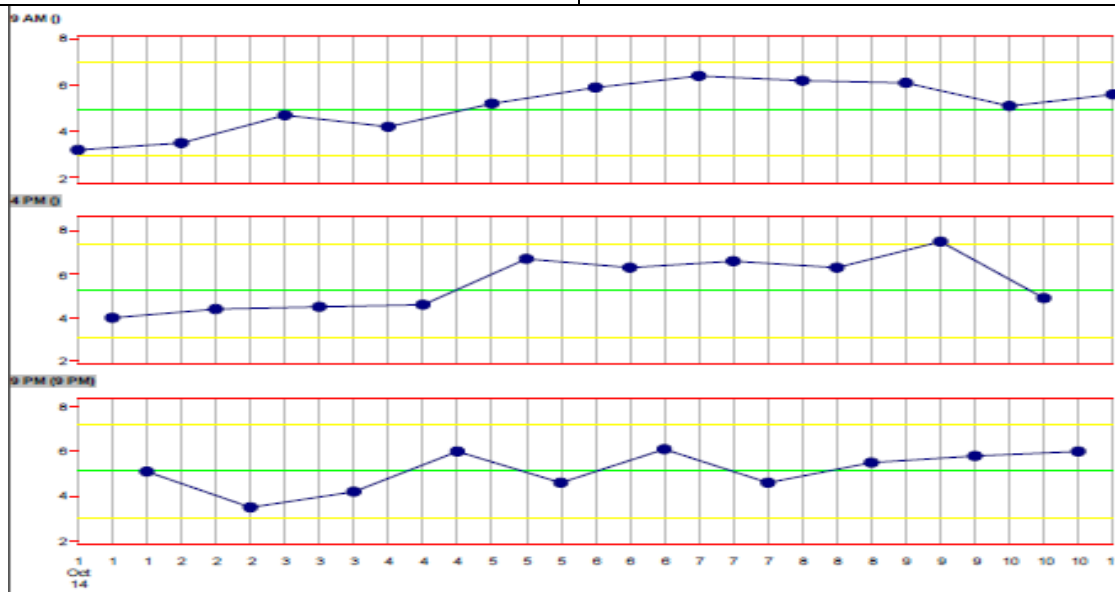


Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1343-5
Fecha: Marzo/ 2015	Límite: Fijo

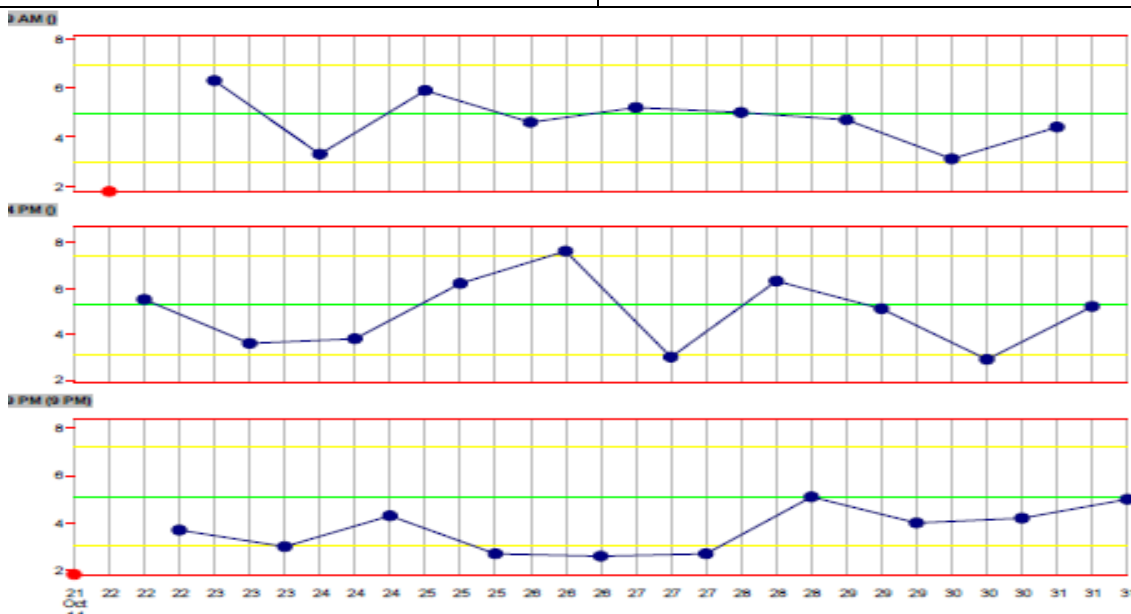


Anexo 5 Temperatura de almacenamiento muestras de pacientes

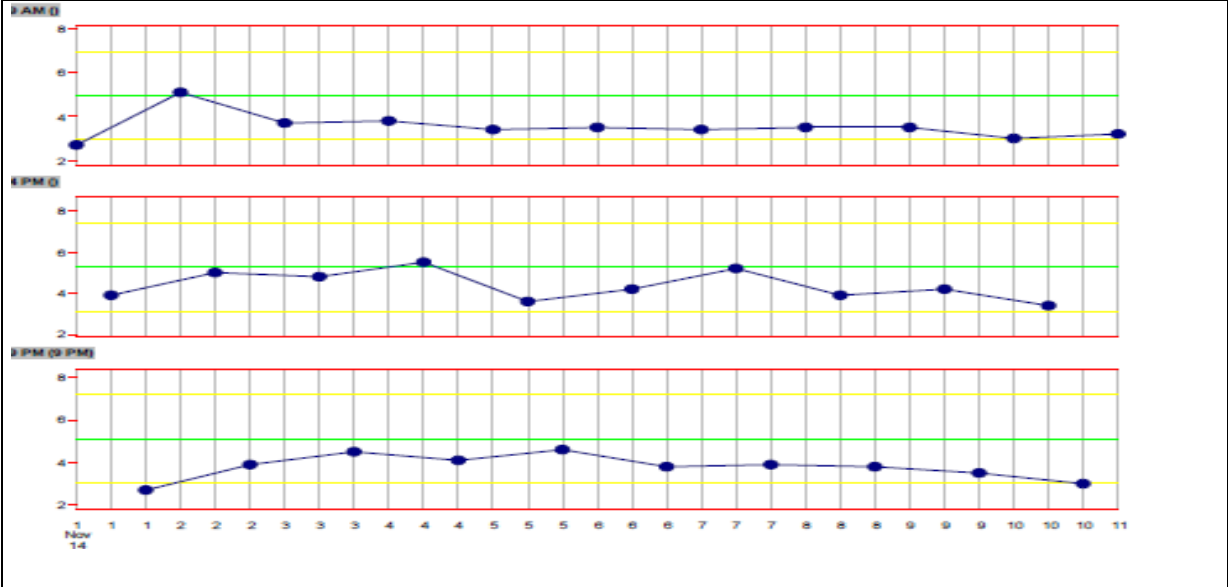
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Octubre/ 2014	Límite: Fijo



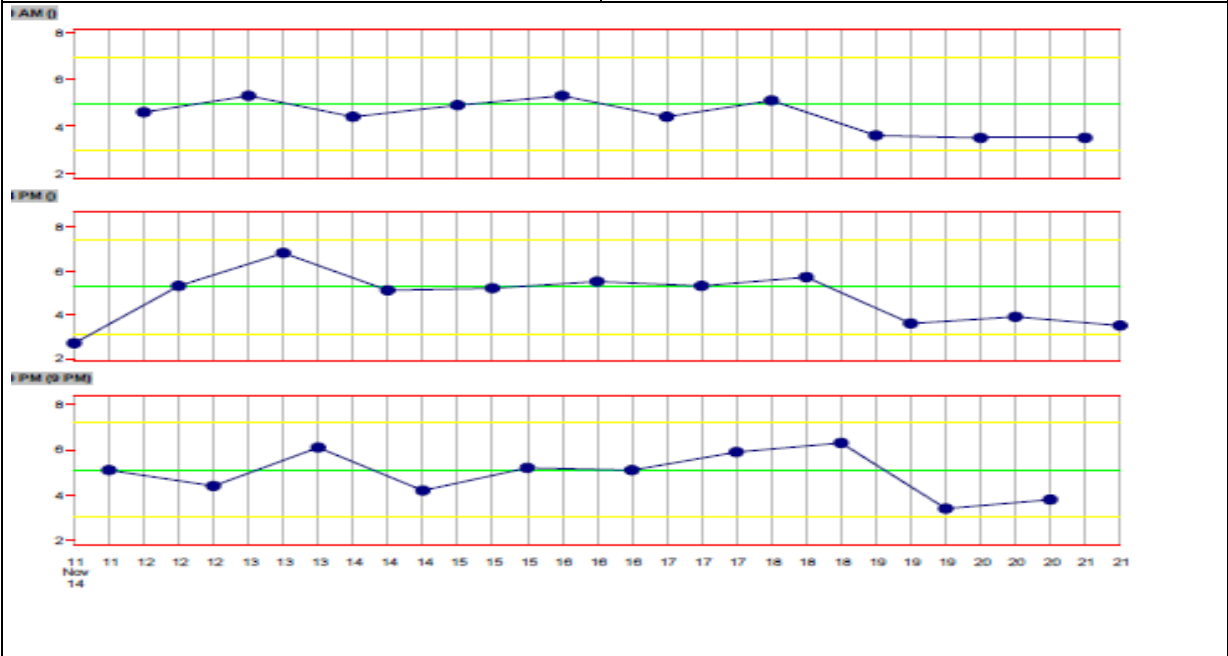
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Octubre /2014	Límite: Fijo



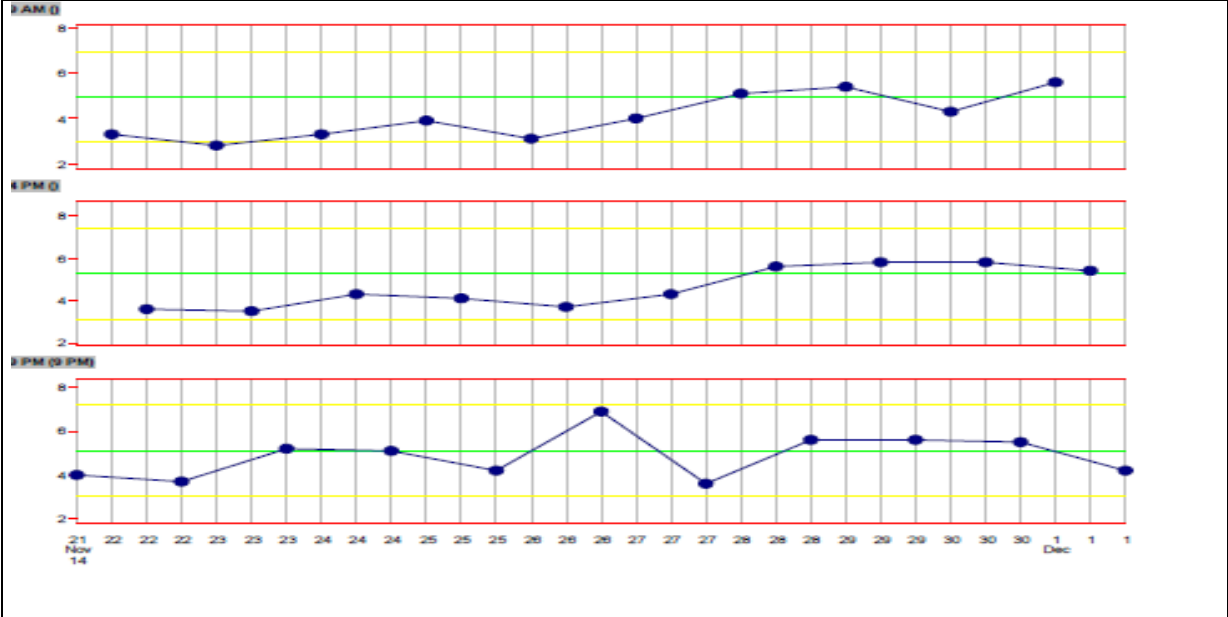
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Noviembre/ 2015	Límite: Fijo



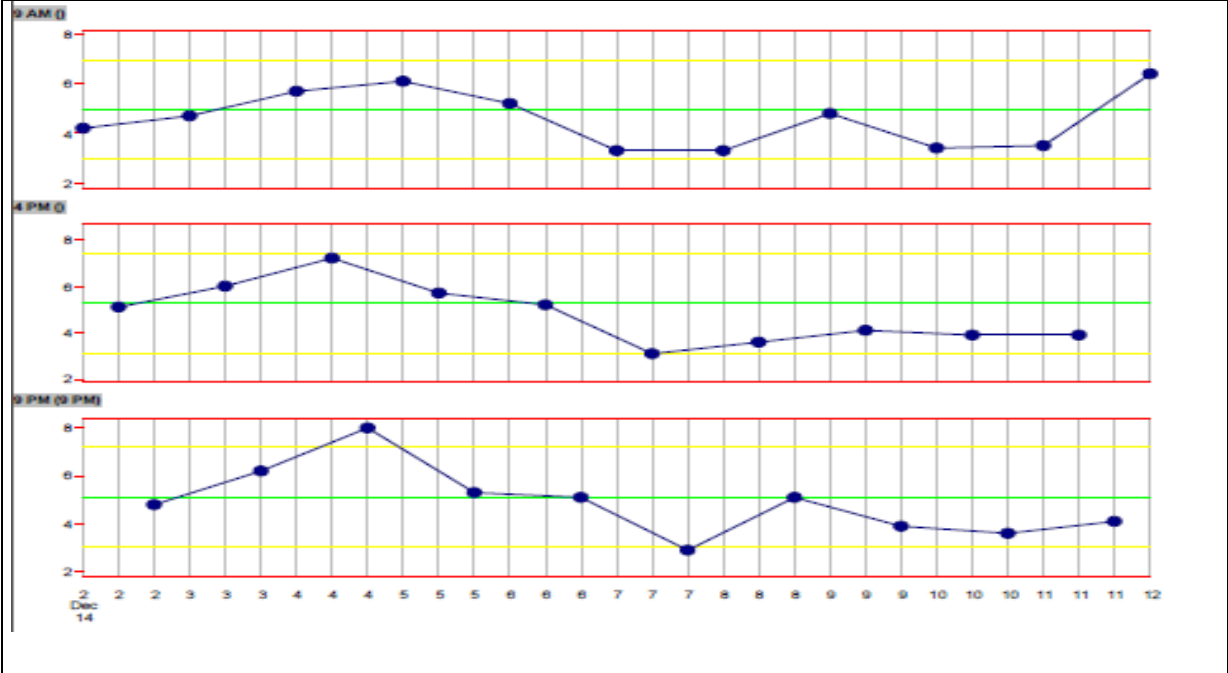
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Noviembre /2015	Límite: Fijo



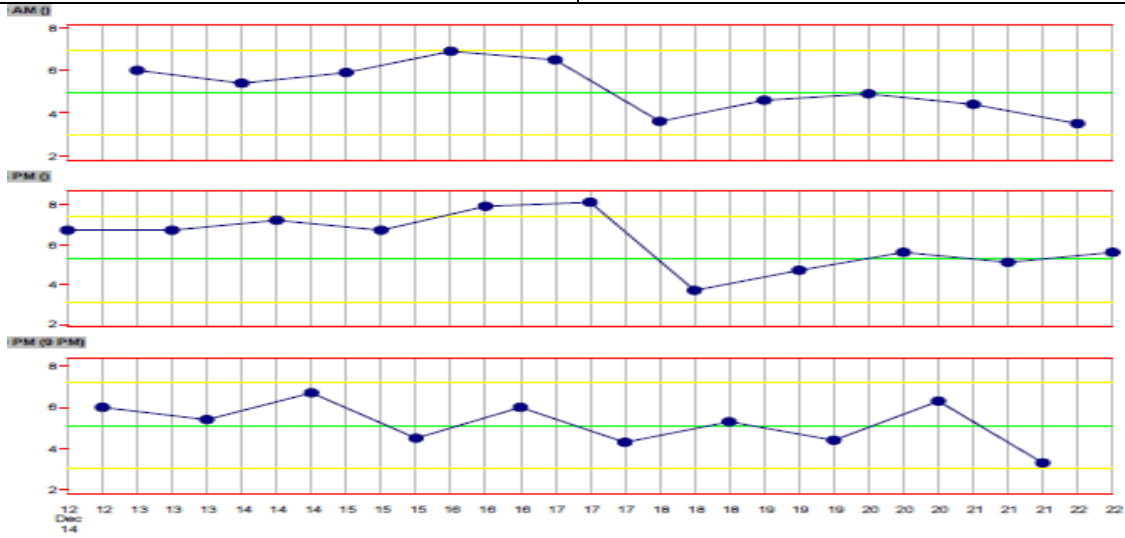
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Noviembre/ 2014	Límite: Fijo



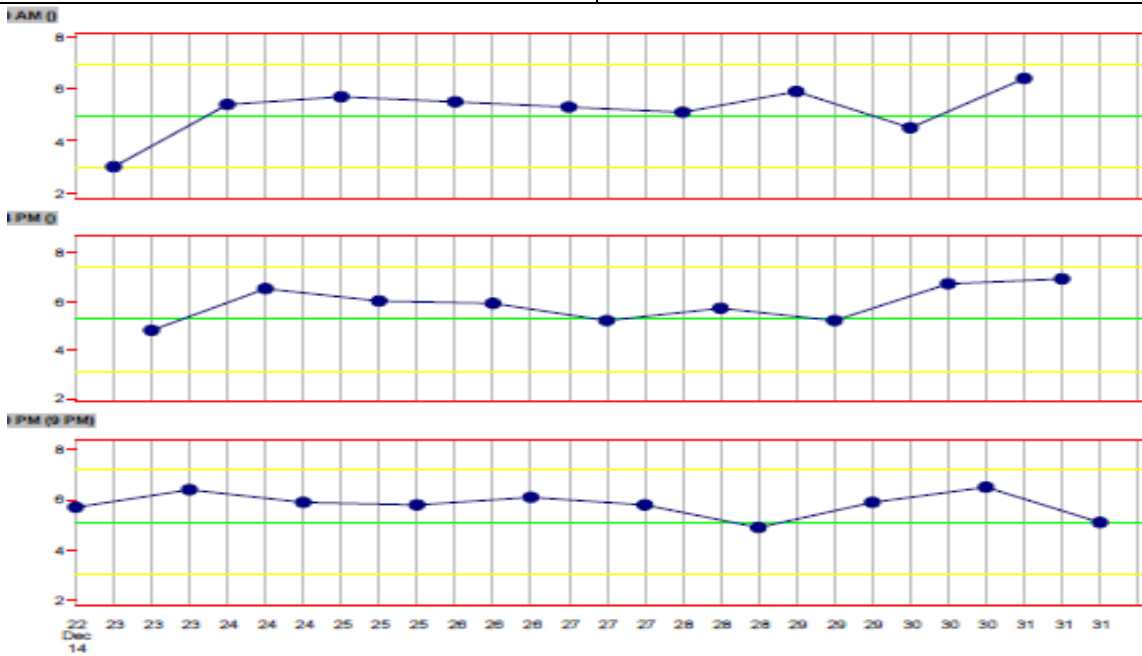
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Diciembre /2014	Límite: Fijo



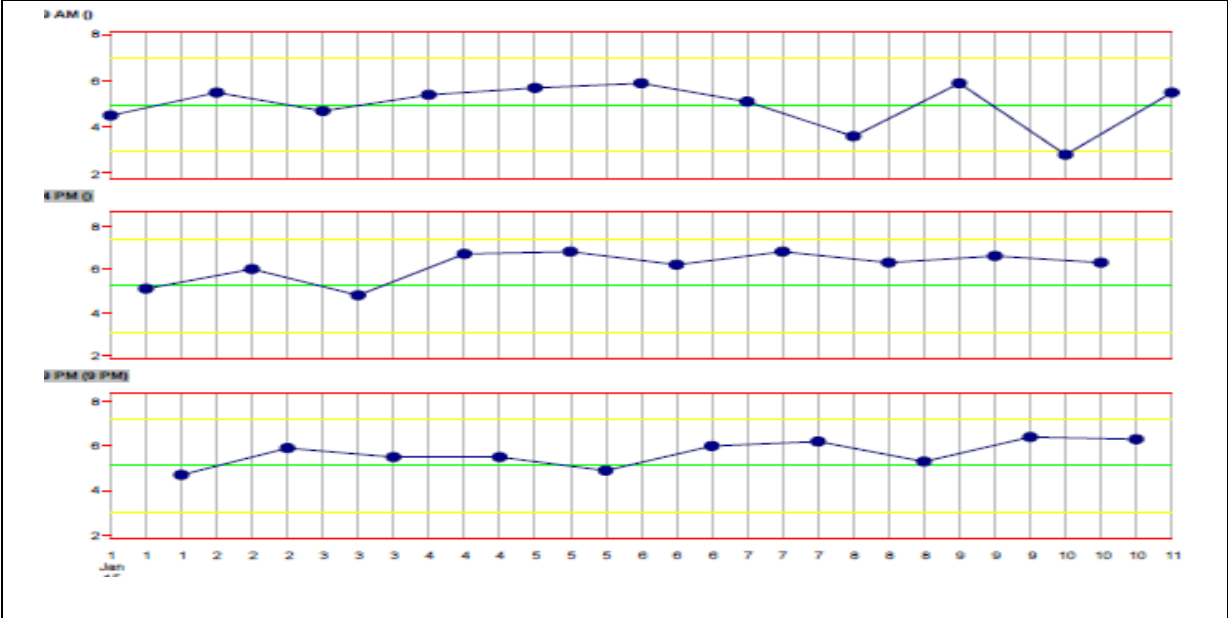
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Diciembre/ 2014	Límite: Fijo



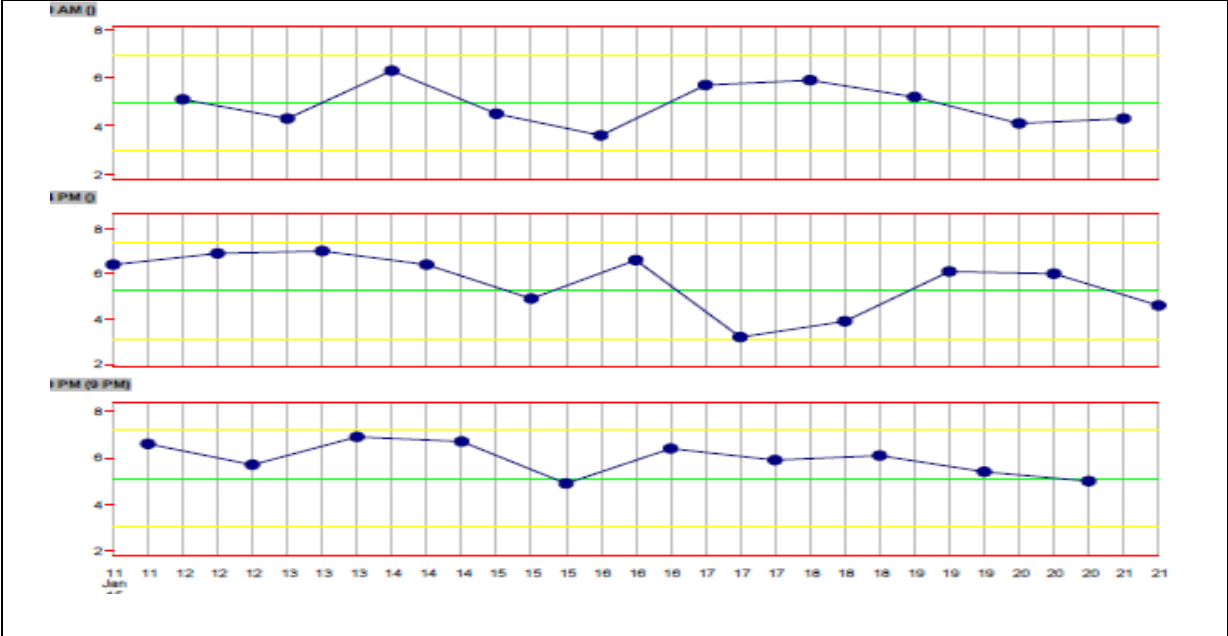
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Diciembre /2014	Límite: Fijo



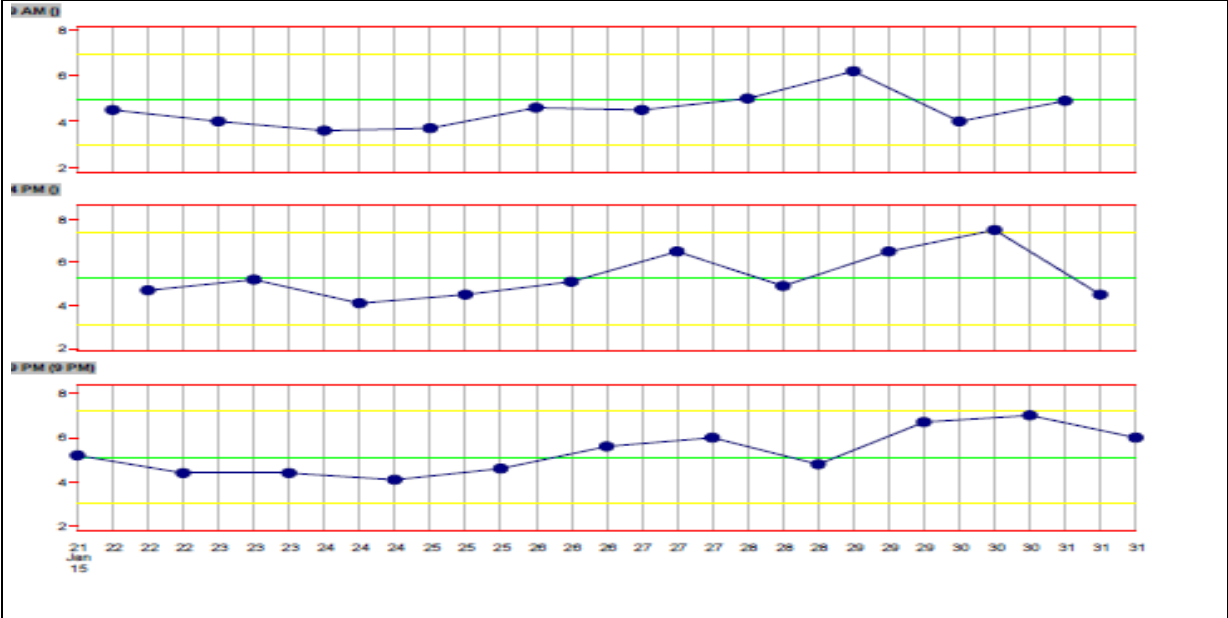
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Enero/ 2015	Límite: Fijo



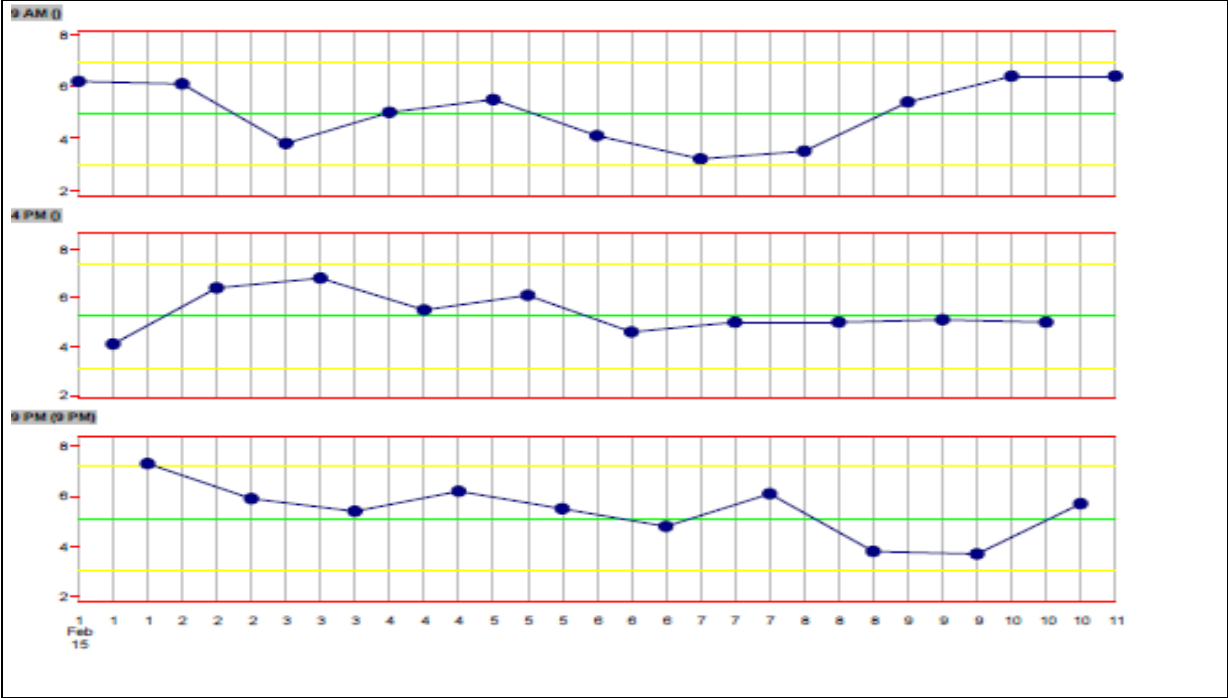
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Enero /2015	Límite: Fijo



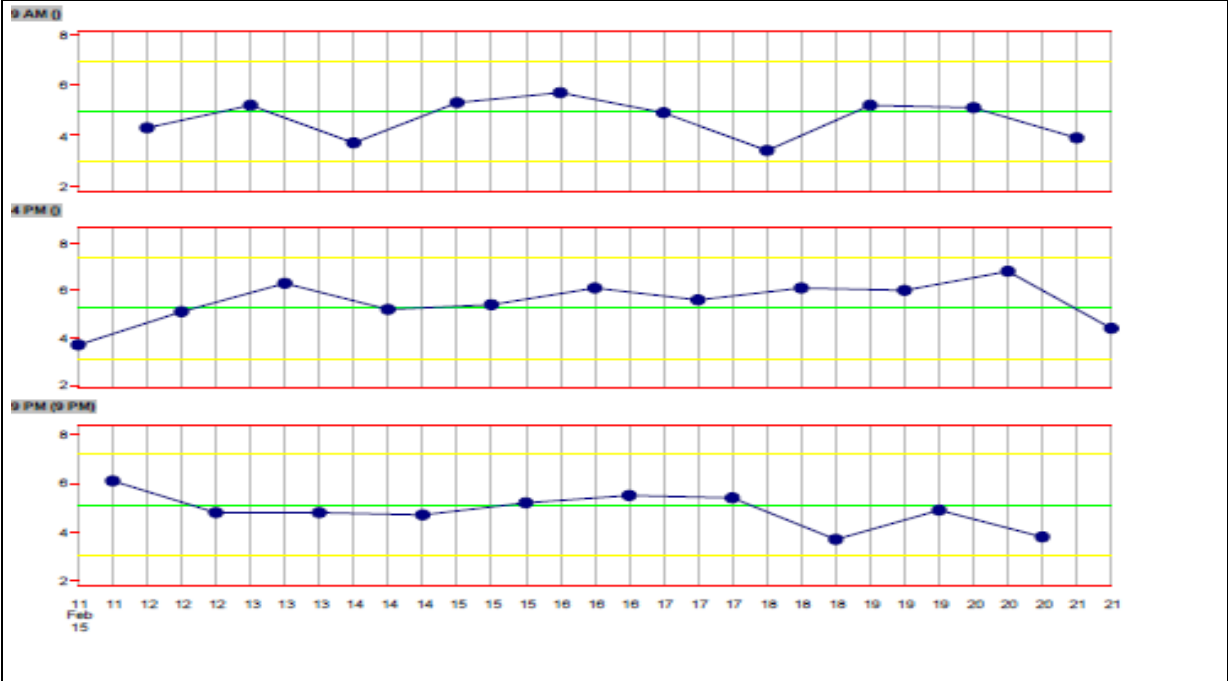
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Enero/ 2015	Límite: Fijo



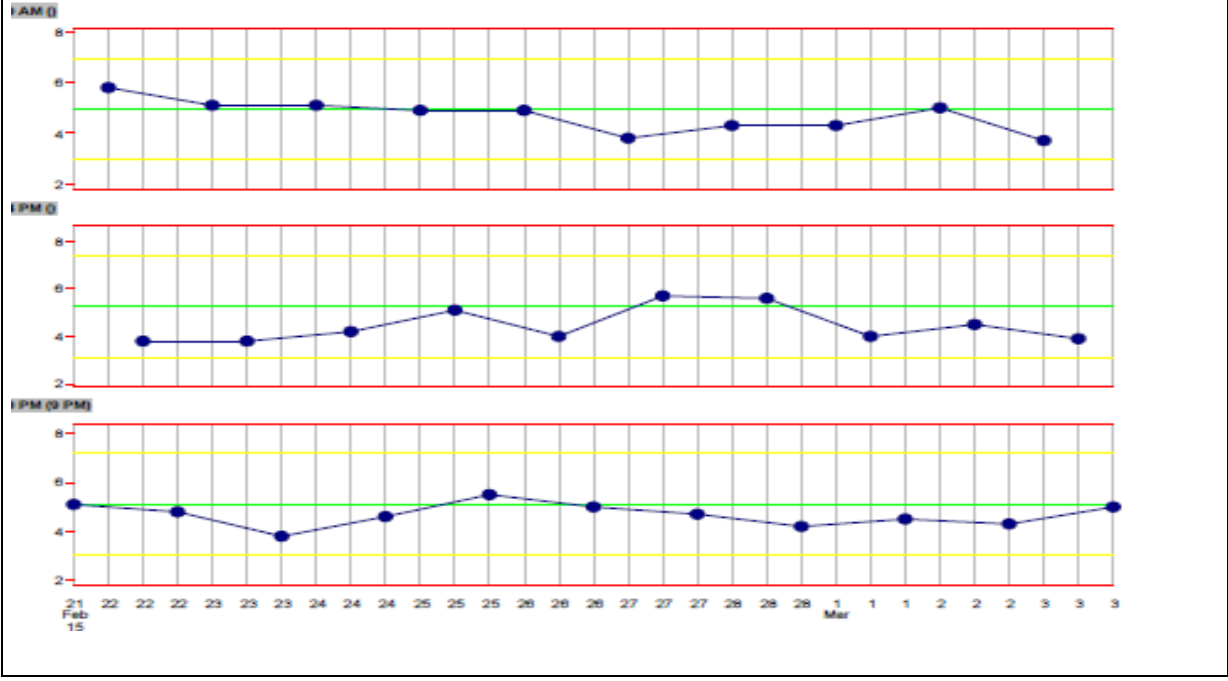
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Febrero /2015	Límite: Fijo



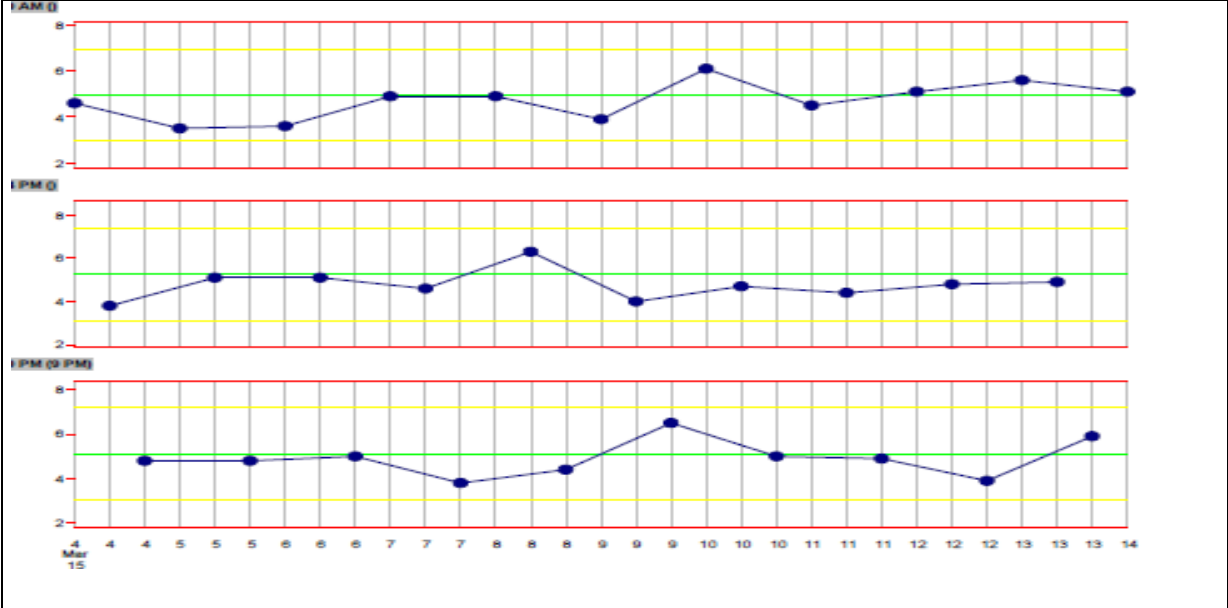
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Febrero/ 2015	Límite: Fijo



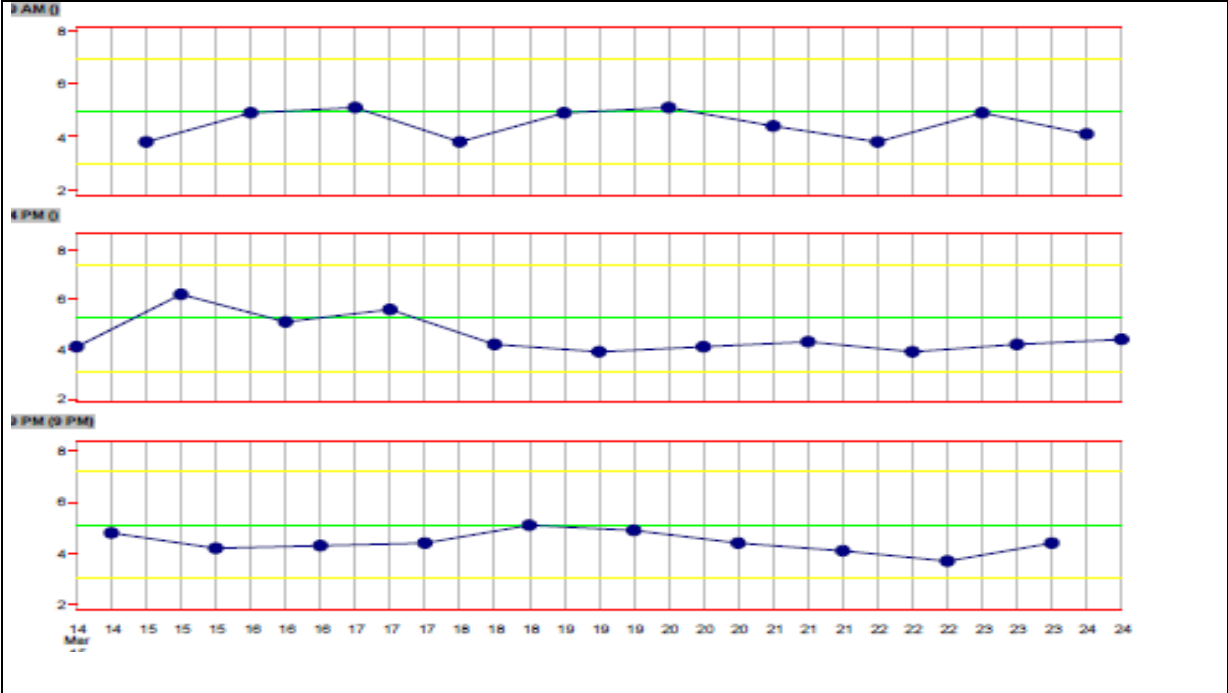
Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Febrero /2015	Límite: Fijo



Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Marzo/ 2015	Límite: Fijo



Software: MEDLAB QC	Termómetro: 1342-5
Fecha: Marzo /2015	Límite: Fijo



Anexo 6 Inserto de Glucosa Hexoquinasa

010404483190-021V10.0
GLUC3

cobas[®]

Información de pedido

REF	CONTENT	ID del sistema	Analizadores adecuados para el cobas c pack
04404483 190	Glucose HK 800 tests	07 6831 6	Roche/Hitachi cobas c 311, cobas c 501/502
10759350 190	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	Código 401	
12149435 122	Prednorm U plus (10 x 3 mL)	Código 300	
12149443 122	Precipath U plus (10 x 3 mL)	Código 301	
10171743 122	Prednorm U (20 x 5 mL)	Código 300	
10171735 122	Prednorm U (4 x 5 mL)	Código 300	
10171778 122	Precipath U (20 x 5 mL)	Código 301	
10171760 122	Precipath U (4 x 5 mL)	Código 301	
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	Código 391	
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	Código 391	
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	Código 392	
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	Código 392	
04489357 190	Diluent NaCl 9 % (50 mL)	ID del sistema 07 6869 3	

Español

Información del sistema

Analizadores cobas c 311/501:

GLUC3: ACN 717

SGLU3: ACN 668 (STAT, tiempo de reacción: 7)

Analizadores cobas c 502:

GLUC3: ACN 8717

SGLU3: ACN 8668 (STAT, tiempo de reacción: 7)

Uso previsto

Test in vitro para la determinación cuantitativa de la glucosa en suero, plasma, orina y líquido cefalorraquídeo (LCR) humanos en los sistemas Roche/Hitachi cobas c.

Características^{1,2,3}

La glucosa es el carbohidrato más importante de la sangre periférica que, al oxidarse, constituye la mayor fuente de energía celular en el organismo. La glucosa proveniente de la alimentación se convierte a glucógeno para su almacenamiento en el hígado o a ácidos grasos para ser almacenada en el tejido adiposo. El estrecho intervalo de concentración de la glucosa en sangre (glucemia) es controlado por numerosas hormonas, siendo las más importantes las sintetizadas en el páncreas.

La causa más frecuente de hiperglucemia es la diabetes mellitus, producida por una deficiencia en la secreción o en la acción de la insulina. Además, existen numerosos factores secundarios que contribuyen a elevar los niveles de glucemia, incluyendo la pancreatitis, la distonía tiroidea, la insuficiencia renal y las hepatopatías.

La hipoglucemia se observa con menor frecuencia. Está causada por estados tales como el insulinooma, el hipopituitarismo o el exceso de insulina. La determinación de la glucosa en orina (glucosuria) se utiliza como procedimiento de cribado de la diabetes y constituye un auxiliar en la evaluación de la glucosuria, la detección de defectos en los túbulos renales y la gestión de la diabetes mellitus. La determinación de la glucosa en el líquido cefalorraquídeo se utiliza en la evaluación de la meningitis, la implicación neoplásica de las meninges y trastornos neurológicos.

Principio del test

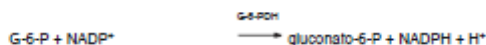
Test por radiación ultravioleta

Método enzimático de referencia empleando hexoquinasa.^{4,5}

La hexoquinasa cataliza la fosforilación de la glucosa a glucosa-6-fosfato por ATP.



En presencia de NADP, la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa oxida el glucosa-6-fosfato a gluconato-6-fosfato. No se oxidan otros hidratos de carbono. La velocidad de formación de NADPH durante la reacción es directamente proporcional a la concentración de glucosa y se determina fotométricamente.



Reactivos - Soluciones de trabajo

R1 Tampón MES: 5.0 mmol/L, pH 6.0; Mg²⁺: 24 mmol/L; ATP: ≥ 4.5 mmol/L; NADP: ≥ 7.0 mmol/L; conservante

R2 Tampón HEPES: 200 mmol/L, pH 8.0; Mg²⁺: 4 mmol/L; HK (levadura): ≥ 300 μkat/L; G-6-PDH (E. coli): ≥ 300 μkat/L; conservante

R1 está en la posición B y R2 en la posición C.

Medidas de precaución y advertencias

Sólo para el uso diagnóstico in vitro.

Observar las medidas de precaución usuales para la manipulación de reactivos.

Eliminar los residuos según las normas locales vigentes.

Ficha de datos de seguridad a la disposición del usuario profesional que la solicite.

Preparación de los reactivos

Los reactivos están listos para el uso.

Conservación y estabilidad

GLUC3

Sin abrir, a 2-8 °C:

véase la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del cobas c pack.

En uso y refrigerado en el analizador:

8 semanas

Diluyente NaCl al 9 %

Sin abrir, a 2-8 °C:

véase la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del **cobas c pack**.

En uso y refrigerado en el analizador:

12 semanas

Obtención y preparación de las muestras

Emplear únicamente tubos o recipientes adecuados para recoger y preparar las muestras.

Sólo se han analizado y considerado aptos los tipos de muestra aquí indicados.

Suero.

Plasma tratado con heparina de litio, EDTA dipotásico, EDTA con fluoruro sódico/disódico, EDTA con fluoruro potásico/disódico, oxalato con fluoruro sódico/potásico y EDTA con fluoruro sódico/citrato/disódico.

Recoger la sangre por punción venosa con un sistema de tubos al vacío en individuos que estén en ayunas. La estabilidad de la glucosa en las muestras depende de la temperatura de almacenamiento, de la contaminación bacteriana y la glucólisis. Separar las muestras de plasma de suero sin conservante (NaF) de las células o del coágulo dentro del lapso de media hora tras su extracción. Si la sangre se deja coagular tras su extracción y reposar sin ser centrifugada a temperatura ambiente, la glucosa en suero disminuye en una tasa promedio de 7 % por hora (0,28-0,56 mmol/L o 5-10 mg/dL). Esta reducción se debe a la glucólisis. Ésta puede ser inhibida recogiendo las muestras en tubos conteniendo fluoruro sódico.¹

Los tipos de muestra aquí indicados fueron analizados con tubos de recogida de muestras seleccionados, comercializados en el momento de efectuar el análisis, lo cual significa que no fueron analizados todos los tubos de todos los fabricantes. Los sistemas de recogida de muestras de diversos fabricantes pueden contener diferentes materiales que, en ciertos casos, pueden llegar a afectar los resultados de los análisis. Si las muestras se procesan en tubos primarios (sistemas de recogida de muestras), seguir las instrucciones del fabricante de los tubos.

Estabilidad (sin hemólisis):⁵ 8 horas a 15-25 °C
72 horas a 2-8 °C

Estabilidad en plasma con fluoruro:⁶ 3 días a 15-25 °C

Orina.

Utilizar un frasco pardo para recoger la orina. Antes de recoger orina de 24 horas, añadir 5 mL de ácido acético glacial al frasco para conservar la glucosa. Si las muestras de orina no se conservan adecuadamente pierden, conservadas a temperatura ambiente durante 24 horas, hasta el 40 % de su contenido de glucosa.³ Por esta razón, conservar las muestras en hielo mientras se recogen.⁵

LCR.

El líquido cefalorraquídeo puede contener bacterias u otros componentes celulares. Por esta razón, las muestras de LCR destinadas a la determinación de glucosa deben analizarse inmediatamente o conservarse a 4 °C o -20 °C.^{3,5}

Centrifugar las muestras que contienen precipitado antes de realizar el ensayo.

Material suministrado

Consultar la sección "Reactivos - Soluciones de trabajo" en cuanto a los reactivos suministrados.

Material requerido adicionalmente (no suministrado)

Consultar la sección "Información de pedido"

Equipo usual de laboratorio

Realización del test

Para garantizar el funcionamiento óptimo del test, observe las instrucciones de la presente metódica referentes al analizador empleado. Consulte el

manual del operador del analizador en cuanto a las instrucciones específicas de ensayo.

Roche no se responsabiliza del funcionamiento de las aplicaciones no validadas por la empresa. En su caso, el usuario se hace cargo de su definición.

Aplicación para suero, plasma, orina y LCR

Definición del test para el analizador cobas c 311

Tipo de medición	2 puntos finales
Tiempo de reacción/ Puntos de medición	10 / 6-32 (STAT 7 / 6-32)
Longitud de onda (sub/princ)	700/340 nm
Dirección de reacción	Aumentado
Unidades	mmol/L (mg/dL, g/L)
Pipeteo de reactivo	Diluyente (H ₂ O)
R1	28 µL 141 µL
R2	10 µL 20 µL

	Muestra	Dilución de muestra	
		Muestra	Diluyente (NaCl)
Normal	2 µL	-	-
Disminuido	10 µL	15 µL	135 µL
Aumentado	2 µL	-	-

Definición del test para el analizador cobas c 501

Tipo de medición	2 puntos finales
Tiempo de reacción/ Puntos de medición	10 / 10-47 (STAT 7 / 10-47)
Longitud de onda (sub/princ)	700/340 nm
Dirección de reacción	Aumentado
Unidades	mmol/L (mg/dL, g/L)
Pipeteo de reactivo	Diluyente (H ₂ O)
R1	28 µL 141 µL
R2	10 µL 20 µL

	Muestra	Dilución de muestra	
		Muestra	Diluyente (NaCl)
Normal	2 µL	-	-
Disminuido	10 µL	15 µL	135 µL
Aumentado	2 µL	-	-

Definición del test para el analizador cobas c 502

Tipo de medición	2 puntos finales
Tiempo de reacción/ Puntos de medición	10 / 10-47 (STAT 7 / 10-47)
Longitud de onda (sub/princ)	700/340 nm
Dirección de reacción	Aumentado



Sin abrir, a 2-8 °C:

véase la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del **cobas c** pack.

En uso y refrigerado en el analizador:

12 semanas

Obtención y preparación de las muestras

Emplear únicamente tubos o recipientes adecuados para recoger y preparar las muestras.

Sólo se han analizado y considerado aptos los tipos de muestra aquí indicados.

Suero.

Plasma tratado con heparina de litio, EDTA dipotásico, EDTA con fluoruro sódico/disódico, EDTA con fluoruro potásico/disódico, oxalato con fluoruro sódico/potásico y EDTA con fluoruro sódico/citrato/disódico.

Recoger la sangre por punción venosa con un sistema de tubos al vacío en individuos que estén en ayunas. La estabilidad de la glucosa en las muestras depende de la temperatura de almacenamiento, de la contaminación bacteriana y la glucólisis. Separar las muestras de plasma o suero sin conservante (NaF) de las células o del coágulo dentro del lapso de media hora tras su extracción. Si la sangre se deja coagular tras su extracción y reposar sin ser centrifugada a temperatura ambiente, la glucosa en suero disminuye en una tasa promedio de 7 % por hora (0.28-0.56 mmol/L o 5-10 mg/dL). Esta reducción se debe a la glucólisis. Ésta puede ser inhibida recogiendo las muestras en tubos conteniendo fluoruro sódico.¹

Los tipos de muestra aquí indicados fueron analizados con tubos de recogida de muestras seleccionados, comercializados en el momento de efectuar el análisis, lo cual significa que no fueron analizados todos los tubos de todos los fabricantes. Los sistemas de recogida de muestras de diversos fabricantes pueden contener diferentes materiales que, en ciertos casos, pueden llegar a afectar los resultados de los análisis. Si las muestras se procesan en tubos primarios (sistemas de recogida de muestras), seguir las instrucciones del fabricante de los tubos.

Estabilidad (sin hemólisis):⁵ 8 horas a 15-25 °C
72 horas a 2-8 °C

Estabilidad en plasma con fluoruro:⁵ 3 días a 15-25 °C

Orina.

Utilizar un frasco pardo para recoger la orina. Antes de recoger orina de 24 horas, añadir 5 mL de ácido acético glacial al frasco para conservar la glucosa. Si las muestras de orina no se conservan adecuadamente pierden, conservadas a temperatura ambiente durante 24 horas, hasta el 40 % de su contenido de glucosa.³ Por esta razón, conservar las muestras en hielo mientras se recogen.⁵

LCR.

El líquido cefalorraquídeo puede contener bacterias u otros componentes celulares. Por esta razón, las muestras de LCR destinadas a la determinación de glucosa deben analizarse inmediatamente o conservarse a 4 °C o -20 °C.^{3,5}

Centrifugar las muestras que contienen precipitado antes de realizar el ensayo.

Material suministrado

Consultar la sección "Reactivos - Soluciones de trabajo" en cuanto a los reactivos suministrados.

Material requerido adicionalmente (no suministrado)

Consultar la sección "Información de pedido"

Equipo usual de laboratorio

Realización del test

Para garantizar el funcionamiento óptimo del test, observe las instrucciones de la presente metódica referentes al analizador empleado. Consulte el

manual del operador del analizador en cuanto a las instrucciones específicas de ensayo.

Roche no se responsabiliza del funcionamiento de las aplicaciones no validadas por la empresa. En su caso, el usuario se hace cargo de su definición.

Aplicación para suero, plasma, orina y LCR

Definición del test para el analizador cobas c 311

Tipo de medición	2 puntos finales
Tiempo de reacción/ Puntos de medición	10 / 6-32 (STAT 7 / 6-32)
Longitud de onda (sub/princ)	700/340 nm
Dirección de reacción	Aumentado
Unidades	mmol/L (mg/dL, g/L)
Pipeteo de reactivo	Diluyente (H ₂ O)
R1	28 µL 141 µL
R2	10 µL 20 µL

Volúmenes de muestra	Muestra	Dilución de muestra	
		Muestra	Diluyente (NaCl)
Normal	2 µL	–	–
Disminuido	10 µL	15 µL	135 µL
Aumentado	2 µL	–	–

Definición del test para el analizador cobas c 501

Tipo de medición	2 puntos finales
Tiempo de reacción/ Puntos de medición	10 / 10-47 (STAT 7 / 10-47)
Longitud de onda (sub/princ)	700/340 nm
Dirección de reacción	Aumentado
Unidades	mmol/L (mg/dL, g/L)
Pipeteo de reactivo	Diluyente (H ₂ O)
R1	28 µL 141 µL
R2	10 µL 20 µL

Volúmenes de muestra	Muestra	Dilución de muestra	
		Muestra	Diluyente (NaCl)
Normal	2 µL	–	–
Disminuido	10 µL	15 µL	135 µL
Aumentado	2 µL	–	–

Definición del test para el analizador cobas c 502

Tipo de medición	2 puntos finales
Tiempo de reacción/ Puntos de medición	10 / 10-47 (STAT 7 / 10-47)
Longitud de onda (sub/princ)	700/340 nm
Dirección de reacción	Aumentado



Unidades	mmol/L (mg/dL, g/L)		
Pipeteo de reactivo		Diluyente (H ₂ O)	
R1	28 µL	141 µL	
R2	10 µL	20 µL	
Volúmenes de muestra	Muestra	Dilución de muestra	
		Muestra	Diluyente (NaCl)
Normal	2 µL	–	–
Disminuido	10 µL	15 µL	135 µL
Aumentado	4 µL	–	–
Calibración			
Calibradores	S1: H ₂ O S2: C.f.a.s.		
Modo de calibración	Lineal		
Intervalo de calibraciones	Calibración a dos puntos - con cada lote de reactivos - si fuera necesario según los procedimientos de control de calidad		

Trazabilidad: El presente método ha sido estandarizado frente a DI/EM.

Control de calidad

Para el control de calidad, emplear los controles indicados en la sección "Información de pedido".

Adicionalmente pueden emplearse otros controles apropiados.

Adaptar los intervalos y límites de control a los requisitos individuales del laboratorio. Los resultados deben hallarse dentro de los límites definidos. Cada laboratorio debería establecer medidas correctivas en caso de obtener valores fuera del intervalo definido.

Sírvase cumplir con las regulaciones gubernamentales y las normas locales de control de calidad pertinentes.

Cálculo

Los analizadores Roche/Hitachi **cobas c** calculan automáticamente la concentración de analito de cada muestra.

Factores de conversión:	mmol/L x 18.02 = mg/dL
	mmol/L x 0.1802 = g/L
	mg/dL x 0.0555 = mmol/L

Limitaciones del análisis - interferencias

Criterio: Recuperación dentro de ± 10 % del valor inicial con una concentración de glucosa de 3.9 mmol/L (70.3 mg/dL).

Suero/plasma

Ictericia:⁷ Sin interferencias significativas hasta un índice I de 60 para bilirubina conjugada y sin conjugar (concentración de bilirubina conjugada y sin conjugar: aprox. 1026 µmol/L o 60 mg/dL).

Hemólisis:⁷ Sin interferencias significativas hasta un índice H de 1000 (concentración de hemoglobina: aprox. 621 µmol/L o 1000 mg/dL).

Lipemia (Intralipid):⁷ Sin interferencias significativas hasta el índice L de 1000. No existe una correlación satisfactoria entre el índice L (que corresponde a la turbidez) y la concentración de triglicéridos.

Fármacos: No se han registrado interferencias con paneles de fármacos de uso común en concentraciones terapéuticas.^{8,9}

En casos muy raros pueden obtenerse resultados falsos debidos a la gammapatía, particularmente del tipo IgM (macroglobulinemia de Waldenström).¹⁰

Orina

Fármacos: No se han registrado interferencias con paneles de fármacos de uso común en concentraciones terapéuticas.⁹

Para el diagnóstico, los resultados del test siempre deben interpretarse teniendo en cuenta la anamnesis del paciente, el análisis clínico así como los resultados de otros exámenes.

NOTA: En una comparación de método con un método de glucosa oxidasa-electrodo de oxígeno efectuada con un material de control interlaboratorio, los valores de glucosa demostraron tener una desviación positiva promedio del 3 %.

ACCIÓN REQUERIDA

Programa especial de lavado: Se requieren ciclos de lavado especial en caso de combinar ciertos tests en los sistemas Roche/Hitachi **cobas c**. La versión más actual de la lista de contaminaciones por arrastre se encuentra en la metódica NaOH/SMS/Multiclean/SCCS o la metódica NaOH/SMS/SmpCln1+2/SCCS. Para mayor información consulte el manual del operador. Analizador **cobas c 502**: Todos los pasos de lavado necesarios para evitar la contaminación por arrastre están disponibles a través del **cobas link** de modo que no se requiere la entrada manual de los datos.

En caso de que sea necesario, implemente el lavado especial destinado a evitar la contaminación por arrastre antes de comunicar los resultados del test.

Límites e intervalos

Intervalo de medición

Suero, plasma, orina y LCR

0.11-41.6 mmol/L (2-750 mg/dL)

Determinar las muestras con concentraciones superiores a través de la función de repetición. Con la función de repetición, las muestras se diluyen 1:2. Los resultados de las muestras diluidas con la función de repetición se multiplican automáticamente por el factor 2.

Límites inferiores de medición

Límite inferior de detección del test

0.11 mmol/L (2 mg/dL)

El límite de detección inferior equivale a la menor concentración medible de analito que puede distinguirse de cero. Se calcula como el valor situado a 3 desviaciones estándar por encima del estándar más bajo (estándar 1 + 3 DE, repetibilidad, n = 21).

Valores teóricos

Plasma¹¹

En ayunas 4.11-6.05 mmol/L (74-109 mg/dL)

Orina¹²

1ª orina de la mañana 0.3-1.1 mmol/L (6-20 mg/dL)
Orina de 24 horas: 0.3-0.96 mmol/L (6-17 mg/dL)
(orina promedio de 1350 mL/24 h)

según Tietz:⁵

Suero, plasma

Adultos 4.11-5.89 mmol/L (74-106 mg/dL)

60-90 años 4.56-6.38 mmol/L (82-115 mg/dL)

> 90 años 4.16-6.72 mmol/L (75-121 mg/dL)

Niños 3.33-5.55 mmol/L (60-100 mg/dL)

Neonatos (1 día) 2.22-3.33 mmol/L (40-60 mg/dL)

Neonatos (> 1 día) 2.78-4.44 mmol/L (50-80 mg/dL)

Orina

Orina de 24 horas: < 2.78 mmol/24 h (< 0.5 g/24 h)

Orina aleatoria 0.06-0.83 mmol/L (1-15 mg/dL)

LCR



Niños	3.33-4.44 mmol/L	(60-80 mg/dL)
Adultos	2.22-3.89 mmol/L	(40-70 mg/dL)

Los valores de glucosa en LCR deberían equivaler al aproximadamente 60 % de los valores en plasma. Para una interpretación clínica adecuada, compararlos siempre con los valores de plasma obtenidos paralelamente. Cada laboratorio debería comprobar si los intervalos de referencia pueden aplicarse a su grupo de pacientes y, en caso necesario, establecer sus propios valores.

Datos específicos de funcionamiento del test

A continuación, se indican los datos representativos de funcionamiento de los analizadores. Los resultados de cada laboratorio en particular pueden diferir de estos valores.

Precisión

La precisión ha sido determinada mediante muestras humanas y controles según un protocolo interno. Suero/plasma: repetibilidad (n = 21), precisión intermedia (3 alícuotas por serie, 1 serie por día, 21 días); orina/LCR: repetibilidad (n = 21), precisión intermedia (3 alícuotas por serie, 1 serie por día, 10 días). Se obtuvieron los siguientes resultados:

Suero/plasma

<i>Repetibilidad</i>	<i>Media</i> <i>mmol/L (mg/dL)</i>	<i>DE</i> <i>mmol/L (mg/dL)</i>	<i>CV</i> <i>%</i>
Precinorm U	5.49 (98.9)	0.05 (0.9)	1.0
Precipath U	13.6 (245)	0.1 (2)	0.9
Suero humano 1	7.74 (139)	0.05 (1)	0.7
Suero humano 2	5.41 (97.5)	0.04 (0.7)	0.7

<i>Precisión intermedia</i>	<i>Media</i> <i>mmol/L (mg/dL)</i>	<i>DE</i> <i>mmol/L (mg/dL)</i>	<i>CV</i> <i>%</i>
Precinorm U	5.38 (96.9)	0.07 (1.3)	1.3
Precipath U	13.4 (241)	0.2 (2)	1.1
Suero humano 3	7.61 (137)	0.09 (2)	1.2
Suero humano 4	5.28 (95.1)	0.06 (1.1)	1.1

Orina

<i>Repetibilidad</i>	<i>Media</i> <i>mmol/L (mg/dL)</i>	<i>DE</i> <i>mmol/L (mg/dL)</i>	<i>CV</i> <i>%</i>
Nivel de control 1	1.54 (27.8)	0.02 (0.4)	1.1
Nivel de control 2	15.7 (283)	0.1 (2)	0.9
Orina humana 1	5.00 (90.1)	0.05 (0.9)	1.0
Orina humana 2	10.5 (189)	0.1 (2)	1.1

<i>Precisión intermedia</i>	<i>Media</i> <i>mmol/L (mg/dL)</i>	<i>DE</i> <i>mmol/L (mg/dL)</i>	<i>CV</i> <i>%</i>
Nivel de control 1	1.51 (27.2)	0.01 (0.2)	1.0
Nivel de control 2	15.4 (278)	0.1 (2)	0.8
Orina humana 3	4.86 (87.6)	0.05 (0.9)	1.0
Orina humana 4	10.3 (186)	0.1 (2)	0.8

LCR

<i>Repetibilidad</i>	<i>Media</i> <i>mmol/L (mg/dL)</i>	<i>DE</i> <i>mmol/L (mg/dL)</i>	<i>CV</i> <i>%</i>
Precinorm U	5.43 (97.8)	0.04 (0.7)	0.8
Precipath U	13.6 (245)	0.1 (2)	0.8
LCR humano 1	3.04 (54.8)	0.03 (0.5)	0.9

LCR humano 2	8.43 (152)	0.08 (1)	1.0
<i>Precisión intermedia</i>	<i>Media</i> <i>mmol/L (mg/dL)</i>	<i>DE</i> <i>mmol/L (mg/dL)</i>	<i>CV</i> <i>%</i>
Precinorm U	5.37 (96.8)	0.07 (1.3)	1.3
Precipath U	13.4 (241)	0.2 (4)	1.1
LCR humano 3	3.00 (54.1)	0.04 (0.7)	1.5
LCR humano 4	8.30 (150)	0.10 (2)	1.2

Comparación de métodos

Se han comparado los valores de glucosa en muestras de suero, plasma, orina y LCR humanos obtenidos en un analizador Roche/Hitachi **cobas c** 501 (y) con los obtenidos con el reactivo correspondiente en un analizador Roche/Hitachi MODULAR P (x).

Suero/plasma

Número de muestras (n) = 75

Passing/Bablok ¹³	Regresión lineal
y = 1.000x + 0.118 mmol/L	y = 0.996x + 0.179 mmol/L
τ = 0.983	r = 1.000

La concentración de las muestras se situó entre 1.64 y 34.1 mmol/L (28.8 - 614 mg/dL).

Orina

Número de muestras (n) = 75

Passing/Bablok ¹³	Regresión lineal
y = 1.000x + 0.060 mmol/L	y = 1.001x + 0.045 mmol/L
τ = 0.972	r = 1.000

La concentración de las muestras se situó entre 0.16 y 39.5 mmol/L (2.88 - 712 mg/dL).

LCR

Número de muestras (n) = 75

Passing/Bablok ¹³	Regresión lineal
y = 1.000x - 0.020 mmol/L	y = 1.001x - 0.038 mmol/L
τ = 0.980	r = 1.000

La concentración de las muestras se situó entre 0.92 y 38.0 mmol/L (16.6 - 685 mg/dL).

Referencias bibliográficas

- Sacks DB. Carbohydrates. In: Tietz NW, ed. *Fundamentals of Clinical Chemistry*. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders 1996;351-374.
- Knudson PE, Weinstock RS. Carbohydrates. In: Henry JB, ed. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 20th ed. Philadelphia: WB Saunders 2001;211-223.
- Sacks DB. Carbohydrates. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders 1999;750-785.
- Kunst A, Draeger B, Ziegenhorn J. In: Bergmeyer. *Methods of Enzymatic Analysis*, 3rd ed. Volume VI, Metabolites 1: Carbohydrates 1984;163-172.
- Tietz NW, ed. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Co 2006;444-451.
- Tietz NW. *Fundamentals of Clinical Chemistry*, 6th ed. Saunders Elsevier 2008;389.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470-475.



- 8 Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
- 9 Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.
- 10 Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007;45(9):1240-1243.
- 11 Thomas L, ed. Blutglucose. In: Thomas L, ed. Labor und Diagnose, 6th ed. Frankfurt/Main: TH-Books 2005;193-199.
- 12 Krieg M, Gunsser KJ, Steinhagen-Thiessen E, et al. Comparative quantitative clinico-chemical analysis of the characteristics of 24-hour urine and morning urine. J Clin Chem Clin Biochem 1986 Nov;24(11):863-869.
- 13 Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.

En la presente metódica se emplea como separador decimal un punto para distinguir la parte entera de la parte fraccionaria de un número decimal. No se utilizan separadores de millares.

 Símbolos

Roche Diagnostics emplea los siguientes símbolos y signos adicionalmente a los indicados en la norma ISO 15223-1.

CONTENT

Contenido del estuche



Volumen tras reconstitución o mezcla

La barra del margen indica cambios o suplementos significativos.

© 2013, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com



Anexo 7 Inserto Precicontrol Clinchem Multi 1

PreciControl ClinChem Multi 1 cobas®

05947626 190, 05117003 190, 05117208 922 (Q.C.S.) LOT 166632 Ver.1 2014-09

Roche/Hitachi analyzers

Value sheet Ver.1

Short name / component	Methods	ACN	Value	Range	1s	Unit
CREA Creatinine	plus	652	1.06 93.7 0.0937	0.88 - 1.24 76.9 - 110.5 0.0769 - 0.1105	0.06 5.6 0.0056	mg/dL µmol/L mmol/L
FERR4 Ferritin	particle enhanced immunoturbidimetric Gen.4	692	47.7 107 47.7	32.1 - 63.3 71 - 143 32.1 - 63.3	5.2 12 5.2	µg/L pmol/L ng/mL
GLU Glucose	GOD-PAP	525	101 5.61 1.01	86 - 116 4.77 - 6.45 0.86 - 1.16	5 0.28 0.05	mg/dL mmol/L g/L
GLU Glucose	HK	668	101 5.61 1.01	86 - 116 4.77 - 6.45 0.86 - 1.16	5 0.28 0.05	mg/dL mmol/L g/L
GLU Glucose	HK STAT	767	101 5.61 1.01	86 - 116 4.77 - 6.45 0.86 - 1.16	5 0.28 0.05	mg/dL mmol/L g/L
GLUH2 * Glucose	HK hemolysate Gen.2	409	101 5.61 1.01	86 - 116 4.77 - 6.45 0.86 - 1.16	5 0.28 0.05	mg/dL mmol/L g/L
GLUH2 * Glucose	HK hemolysate Gen.2 plasma-level	756	112 6.22 1.12	94 - 130 5.29 - 7.15 0.94 - 1.30	6 0.31 0.06	mg/dL mmol/L g/L
GLDH Glutamate dehydrogenase	opt. (DGKC)	588	25.5 0.426	19.5 - 31.5 0.324 - 0.528	2.0 0.034	U/L µKat/L
GGT Glutamyltransferase gamma	liquid stand. IFCC	219	51.8 0.865	42.5 - 61.1 0.709 - 1.021	3.1 0.052	U/L µKat/L
GGT Glutamyltransferase gamma	liquid stand. IFCC HiCo	220	51.8 0.865	42.5 - 61.1 0.709 - 1.021	3.1 0.052	U/L µKat/L
GGT Glutamyltransferase gamma	liquid stand. Szasz	479	46.1 0.770	37.7 - 54.5 0.632 - 0.908	2.8 0.046	U/L µKat/L
GGT Glutamyltransferase gamma	liquid stand. Szasz HiCo	480	46.1 0.770	37.7 - 54.5 0.632 - 0.908	2.8 0.046	U/L µKat/L
HDLC3 HDL-Cholesterol	plus 3rd generation	435	32.4 0.839 0.324	24.6 - 40.2 0.638 - 1.040 0.246 - 0.402	2.6 0.067 0.026	mg/dL mmol/L g/L

* not encoded in barcode

5/38



Anexo 8 Inserto PreciControl ClinChem Multi 2

PreciControl ClinChem Multi 2

cobas[®]

05947774 190, 05117216 190, 05117291 922 (Q.C.S.)

LOT 167262 Ver.1

2014-09

VSCBC 2012-07-0594774 - 5 - 31

Roche/Hitachi analyzers

Value sheet Ver.1

Short name / component	Methods	ACN	Value	Range	1s	Unit
GLU Glucose	GOD-PAP	525	240 13.3 2.40	204 - 276 11.2 - 15.4 2.04 - 2.76	12 0.7 0.12	mg/dL mmol/L g/L
GLU Glucose	HK	668	240 13.3 2.40	204 - 276 11.2 - 15.4 2.04 - 2.76	12 0.7 0.12	mg/dL mmol/L g/L
GLU Glucose	HK STAT	767	240 13.3 2.40	204 - 276 11.2 - 15.4 2.04 - 2.76	12 0.7 0.12	mg/dL mmol/L g/L
GLUH2 * Glucose	HK hemolysate Gen.2	409	240 13.3 2.40	204 - 276 11.2 - 15.4 2.04 - 2.76	12 0.7 0.12	mg/dL mmol/L g/L
GLUH2 * Glucose	HK hemolysate Gen.2 plasma-level	756	267 14.8 2.67	228 - 306 12.7 - 16.9 2.28 - 3.06	13 0.7 0.13	mg/dL mmol/L g/L
GLDH Glutamate dehydrogenase	opt. (DGKC)	588	37.5 0.626	28.5 - 46.5 0.476 - 0.776	3.0 0.050	U/L µKat/L
GGT Glutamyltransferase gamma	liquid stand. IFCC	219	174 2.91	144 - 204 2.40 - 3.42	10 0.17	U/L µKat/L
GGT Glutamyltransferase gamma	liquid stand. IFCC HiCo	220	174 2.91	144 - 204 2.40 - 3.42	10 0.17	U/L µKat/L
GGT Glutamyltransferase gamma	liquid stand. Szasz	479	155 2.59	128 - 182 2.11 - 3.07	9 0.16	U/L µKat/L
GGT Glutamyltransferase gamma	liquid stand. Szasz HiCo	480	155 2.59	128 - 182 2.11 - 3.07	9 0.16	U/L µKat/L
HDLC3 HDL-Cholesterol	plus 3rd generation	435	70.4 1.82 0.704	53.6 - 87.2 1.37 - 2.27 0.536 - 0.872	5.6 0.15 0.056	mg/dL mmol/L g/L
HGLOB Haptoglobin	immunoturbidimetric	228	119 1.19 11.9	89 - 149 0.89 - 1.49 8.9 - 14.9	10 0.10 1.0	mg/dL g/L µmol/L
HBDH Hydroxybutyrate dehydrogenase alpha	opt. (DGKC)	567	324 5.41	267 - 381 4.45 - 6.37	19 0.32	U/L µKat/L

* not encoded in barcode

5/35



Anexo 9 Resultados evaluación externa MLE

2014 MLE-M2
Page 8 of 13
Monday, August 11, 2014

Test/Your Method(s)	Specimen	Your Result	Target Mean	Group SD	Your SDI	Acceptable Range	Comparison Group	Comments
Glucose (mg/dL)	CH-6	83	82.7	2.0	0.2	74 - 91	Method Group	
Roche cobas c 311	CH-7	70	69.1	1.4	0.6	62 - 76	Method Group	
Roche cobas c 311	CH-8	96	92.6	2.0	1.7	83 - 102	Method Group	
	CH-9	148	142.8	3.3	1.6	128 - 158	Method Group	
CMS Analyte Score: 100%	CH-10	209	206.4	4.6	0.6	185 - 228	Method Group	
Total Protein (g/dL)	CH-6	4.5	4.30	0.16	1.3	3.8 - 4.8	Method Group	
Roche cobas c 311	CH-7	6.1	5.75	0.19	1.8	5.1 - 6.4	Method Group	
Roche cobas c 311	CH-8	8.4	7.77	0.23	2.7	6.9 - 8.6	Method Group	
	CH-9	7.4	7.00	0.22	1.8	6.2 - 7.7	Method Group	
CMS Analyte Score: 100%	CH-10	5.2	4.79	0.17	2.4	4.3 - 5.3	Method Group	
Urea Nitrogen (mg/dL)	CH-6	9	9.7	0.6	-1.2	7 - 12	Method Group	
Roche cobas c 311	CH-7	13	12.5	0.6	0.8	10 - 15	Method Group	
Roche cobas c 311	CH-8	25	24.2	0.8	1.0	22 - 27	Method Group	
	CH-9	32	30.2	1.1	1.6	27 - 33	Method Group	
CMS Analyte Score: 100%	CH-10	35	33.2	1.2	1.5	30 - 37	Method Group	
Uric Acid (mg/dL)	CH-6	5.5	5.44	0.17	0.4	4.5 - 6.4	Method Group	
Roche cobas c 311	CH-7	4.5	4.37	0.13	1.0	3.6 - 5.2	Method Group	
Roche cobas c 311	CH-8	5.2	4.97	0.14	1.6	4.1 - 5.9	Method Group	
	CH-9	7.8	7.72	0.24	0.3	6.4 - 9.1	Method Group	
CMS Analyte Score: 100%	CH-10	11.7	11.56	0.35	0.4	9.5 - 13.6	Method Group	
Potassium (mmol/L)	CH-6	5.0	4.99	0.08	0.1	4.4 - 5.5	Method Group	
ISE Diluted	CH-7	5.6	5.50	0.09	1.1	5.0 - 6.1	Method Group	
AVL 980 Series	CH-8	5.8	5.54	0.09	2.9	5.0 - 6.1	Method Group	
	CH-9	4.7	4.52	0.08	2.3	4.0 - 5.1	Method Group	
CMS Analyte Score: 100%	CH-10	2.9	2.99	0.07	-1.3	2.4 - 3.5	Method Group	
Sodium (mmol/L)	CH-6	140	141.0	1.8	-0.6	137 - 146	Method Group	
ISE Diluted	CH-7	146	145.2	1.8	0.4	141 - 150	Method Group	
AVL 980 Series	CH-8	149	144.8	2.1	2.0	140 - 149	Method Group	
	CH-9	139	136.1	1.9	1.5	132 - 141	Method Group	
CMS Analyte Score: 100%	CH-10	122	122.9	1.8	-0.5	118 - 127	Method Group	
ALT/SGPT (IU/L)	CH-6	34	35.0	1.0	-1.0	28 - 43	Method Group	
Roche cobas c 311	CH-7	55	55.8	1.5	-0.5	44 - 67	Method Group	
Roche cobas c 311	CH-8	135	136.6	2.6	-0.6	109 - 164	Method Group	
	CH-9	174	176.9	2.9	-1.0	141 - 213	Method Group	

Anexo 10 Muestras utilizadas en parámetros de validación

<u>PRECISIÓN</u>		
NÚMERO MUESTRA	CONCENTRACIÓN	UNIDADES
5230254	83	mg/dL
5230288	95	mg/dL
5230298	95	mg/dL
5230319	101	mg/dL
5230340	80	mg/dL

<u>LINEALIDAD</u>		
NÚMERO MUESTRA	CONCENTRACIÓN	UNIDADES
9293001	630	mg/dL

<u>VERACIDAD</u>		
NÚMERO MUESTRA	CONCENTRACIÓN	UNIDADES
7222045	147	mg/dL

<u>COMPARACIÓN DE MÉTODOS</u>		
NÚMERO MUESTRA	CONCENTRACIÓN	UNIDADES
7030413	435	mg/dL
5210358	289	mg/dL

Anexo 11 Informe de verificación de método Glucosa Hexoquinasa



**Laboratorio Clínico
C.A.A Central Quito**

**INFORME DE VERIFICACIÓN DE UN MÉTODO
ENZIMÁTICO PARA LA DETECCIÓN CUANTITATIVA DE
GLUCOSA HEXOQUINASA EN SUERO**

LESLY RUIZ

QUITO, 2015

1. OBJETIVO

Demostrar la calidad analítica de los resultados en la determinación cuantitativa de glucosa en el laboratorio clínico mediante la verificación del método.

2. ALCANCE

Este trabajo permitirá establecer parámetros de desempeño aplicables al método seleccionado, para posteriormente realizar la verificación del mismo. De esta manera el laboratorio emitirá resultados clínicamente útiles y demostrará competencia técnica de sus analistas.

3. REFERENCIAS

EMA. (Abril de 2008). Guía para la Validación y la Verificación de los Procedimientos de Examen Cuantitativos Empleados por el Laboratorio Clínico. 18-30.

OAE, G. (2011). *Validación de Métodos en el Laboratorio Clínico*. OAE. OAE.

Westgard, J. (2009). *Medical decisions levels*. Recuperado el 05 de 2014, de Westgard QC: <http://www.westgard.com/decision.htm>.

4. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO ESTUDIADO

4.1 ANTECEDENTES

Según la Entidad Mexicana de Acreditación (EMA), en su ***Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativo empleados por el laboratorio clínico***, puntualiza que la validación y verificación de los procedimientos es indispensable durante la evolución de la competencia técnica, además se requiere aplicación de criterios técnicos y consistentes. Los laboratorios clínicos deben ofrecer servicios con validez técnica, tomando en cuenta que los resultados reflejarán calidad y confiabilidad para el paciente. (EMA, 2008)

De tal manera que la calidad de los servicios deben especificar confiabilidad y uniformidad de las mediciones (trazabilidad e incertidumbre). En esta guía se describen pasos para el

aseguramiento de las mediciones que se realizan a diario en los servicios acreditados y también evalúan la competencia técnica de los laboratorios. (EMA, 2008)

5. EQUIPAMIENTO

5.1 Analizador de química sanguínea Cobas c-311 de Roche Diagnostics.

5.2 Pipetas calibradas de (100 – 1000uL) y (10 – 100uL).

5.3 Gradilla.

5.4 Cronómetro.

5.5 Tubos eppendorf.

5.6 Termómetros.

6. REACTIVOS

6.1 Control normal (PreciControl Multi1).

6.2 Control patológico (PreciControl Multi2).

6.3 C.e.f.a.s

6.4 Cassette Glucosa hexoquinasa.

6.5 Ampollas de agua bi destilada

7. PROCEDIMIENTOS

- **Precisión**

Se utilizó material control normal (Clin Chem Multi 1), patológico (Clin Chem Multi 2), además de suero de pacientes con valores de referencia de glucosa sérica.

Antes de realizar el ensayo de precisión , se tomó en cuenta que tanto en el mantenimiento del equipo como en el paso de controles no haya existido ningun tipo de error. (Ver Anexo 3).

El protocolo que se siguió para la evaluación de presición fue el descrito por la EMA; se realizó el exámen con:

- **Muestras control** de valor desconocido analizado por 20 veces (intracorrída) de la siguiente manera: se determinó 4 lecturas de la concentracion del material control normal (PreciControl Clin Chem Multi 1) y 4 del patológico (PreciControl Clin Chem Multi 2) durante 5 días. (Ver Anexo 10).

Los datos obtenidos en el ensayo se introdujeron en el programa Excel 2010, se tabularon las concentraciones por día, para obtener las estadísticas: media, desviación estándar y coeficiente de variación interdia que posteriormente se compararon con los valores descritos por el fabricante.

- **Pool de sueros** de valores conocidos, analizado 20 veces (interdía). (Ver Anexo 10).

Las concentraciones obtenidas se tabularon en el programa de Excel 2010, para obtener la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación, los que comparan con los valores descritos por el fabricante.

- **Linealidad del método**

Para el ensayo de linealidad se utilizaron sueros de pacientes cuyas concentraciones de glucosa estuvieron dentro de los niveles de decisión clínica. (Ver Anexo 10)

Antes de realizar el ensayo, se debe asegurar que tanto el mantenimiento del equipo como el paso de controles no tenga errores. (Vér Anexo 3)

Además se prepararon diluciones utilizando agua bi destilada de acuerdo a la EMA. (Ver Tabla 3).

Tabla 3 Preparación de diluciones

Número de dilución	Porción en volumen de la muestra 1	Porción en volumen de la muestra 2
1	Usar sin diluir	0
2	3	1
3	2	2
4	1	3
5	0	Usar sin diluir

Fuente:EMA, 2008

Por cada dilución se realizaron 4 mediciones; para calcular el volumen total de cada dilución se debe tomar en cuenta el volumen muerto del equipo (descrito en el manual de operaciones). Se realizaron las mediciones de cada dilución y se tabularon los resultados en el programa Microsoft Excel 2010 obteniéndose la media para cada dilución, de la siguiente manera, (Ver Tabla 4).

Tabla 4 Resultado de la concentración de la dilución respectiva

Número de dilución	Resultados de la concentración o de la actividad			Media
	1	2	3	
1				
2				
3				
4				
5				

Fuente: EMA, 2008

Apartir de estos datos se efectuó un análisis estadístico determinando: la ecuación de la recta de regresión, la representación grafica de la recta de regresión, el coeficiente de correlación y el análisis de variancia para la regresión lineal.

- **Comparación de métodos**

Para la comparación de métodos se utilizó material control normal (Clin Chem Multi 1) y patológico (Clin Chem Multi 2). (Ver Anexo 7 y 8)

Antes de realizar el ensayo se debe asegurar que tanto el laboratorio de estudio (Dispensario Central IESS) como en el que se va a llevar a cabo la comparación (Dispensario IESS Chimbacalle), el paso de controles no haya tenido ningun tipo de errores.

Se utilizó la misma muestra del ensayo de linealidad, de esta se hicieron 8 alicuotas y se pipetearon 200 µL en cada copa, que fueron rotuladas respectivamente ; 4 se refrigeraron (2 a 10 °c) en el laboratorio clínico del Dispensario Central IESS y las sobrantes se transportaron al laboratorio clínico del Dispensario IESS Chimbacalle, utilizan equipo Roche cobas c 311 y método enzimático para determinación de glucosa hexoquinasa.(Ver Anexo 10).

- **Transporte de muestras:** se trasladaron las muestras en un cooler a una temperatura de 4 °c.

Las muestras se procesaron al mismo tiempo en los 2 laboratorios, las mediciones de la concentración fueron de cada dilución respectivamente.

Los datos obtenidos se introdujeron en el programa Microsoft Office Excel 2010, se tabularon las concentraciones obtenidas por los 2 laboratorios. El analisis de datos consistió en graficar y comparar los datos colectados con la finalidad de identificar discrepancias entre el método de prueba y el de comparación.

- **Valoración de veracidad por un material de referencia certificado**

Antes de realizar el ensayo, se aseguró que tanto el mantenimiento del equipo como el paso de controles no tuvo tipo de error. (Ver Anexo 3)

Para este ensayo se utilizó material de referencia certificado, se alicuotó 1000 µL en una copa identificada correctamente. (Ver Anexo 9).

Se realizó 10 lecturas de la concentración del material de referencia. Posteriormente se ingresaron los datos en el programa Microsoft Excel 2010 para ser tabulados. Se realizó cálculos estadísticos como: media, coeficiente de variación, porcentaje de error relativo y porcentaje de recuperación. Los resultados fueron comparados con el valor verdadero del material de referencia para conocer si existen errores en el método de estudio

- **Evaluación de veracidad utilizando comparación de métodos**

Para determinar la veracidad de un método analítico se utilizó los valores obtenidos en el análisis de comparación de métodos. Se elaboró una tabla con datos y cálculos estadísticos se obtuvo el valor del sesgo de la muestra en unidades convencionales y en porcentaje. (Ver Tabla 5).

Tabla 5 Validación del intervalo reportable

Día	Número de muestra	Resultado método de prueba	Resultado método de comparación	b_i	$b_i - \bar{b}$	$(b_i - \bar{b})^2$	$\%b_i$	$\%b_i - \overline{\%b}$	$(\%b_i - \overline{\%b})^2$

Fuente: EMA, 2008

Los valores se compararon con el error permitido para la prueba, de esta manera se pudo conocer si los métodos fueron consistentes (aceptados) de acuerdo a lo declarado por el fabricante.

Otra forma de evaluar la veracidad fue calculando el valor del sesgo en niveles de decisión médica para lo cual fue necesario conocer si existe algún tipo de error sistemático por medio de los valores de coeficiente de correlación y de la ecuación de la recta de regresión del experimento de comparación de métodos. Los resultados obtenidos (porcentaje de error) se compararon con el valor proporcionado por el fabricante.

- **Evaluación de Incertidumbre con el uso de valores de control interno y externo**

La incertidumbre es un parámetro no negativo que caracteriza la dispersión de los valores atribuidos a un mesurando a partir de la información que se utilizó. (EMA, 2008)

Para obtener el valor de la incertidumbre de medición fueron indispensables los valores tanto del ensayo de aptitud como del programa de control interno del laboratorio. Los ensayos de aptitud reportan el valor de índice de desviación (ID) o índice de varianza, que es el sesgo respecto al valor considerado como verdadero. (EMA, 2008)

Los resultados de control de calidad interno del último mes, dan un valor de desviación estándar. Estos datos se ingresaron en el programa Microsoft Excel 2010 para calcular el ECM (error cuadrático medio) correspondiente a glucosa, aplicando la fórmula descrita por el EMA. El resultado obtenido tendrá un valor de confianza correspondiente al 95%

$$ECM = \sqrt{b^2 + s^2}$$

Fuente: EMA, 2008

Donde b^2 es el índice de desviación del ensayo de aptitud y s^2 son los datos de la desviación estándar conseguidos por el control de calidad interno

8. RESULTADOS

Los resultados obtenidos para cada uno de los parámetros de desempeño analítico del método enzimático glucosa- hexoquinasa (GLUC3) de Roche en el proceso de verificación de los mismos, fueron los detallados a continuación:

- **Linealidad**

La prueba de linealidad involucra una serie de muestras de concentración conocida o una serie de diluciones conocidas de muestras altamente concentradas. Los valores de los ensayos reportados son comparados con los valores asignados o los valores de dilución. En este estudio se tomaron en cuenta siete niveles de concentración de glucosas previamente diluidas, de cada una se midió la concentración por triplicado (Valor obtenido). Los promedios obtenidos se detallan en la Tabla 6.

Tabla 6 Evaluación de linealidad del método

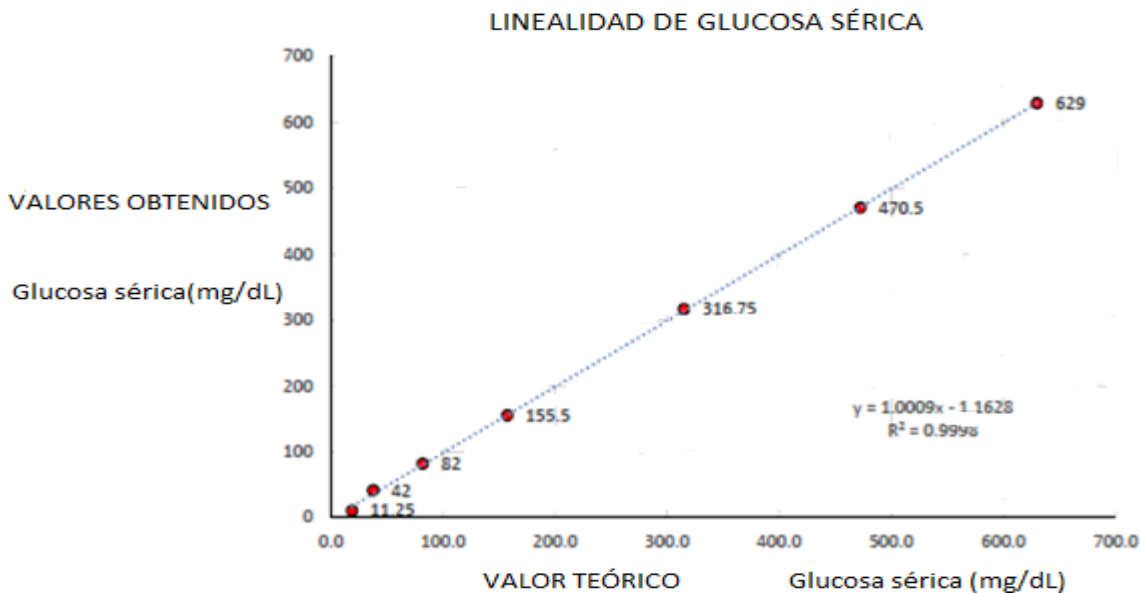
DILUCIÓN	Glucosa sérica	
	VALOR TEÓRICO mg/dL	VALOR OBTENIDO mg/dL
L1	630,0	629,00
L2	472,5	470,50
L3	315,0	316,75
L4	157,5	155,50
L5	81,9	82,00
L6	37,8	42,00
L7	18,9	11,25

FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

Con estos datos se graficó la recta en función a las concentraciones del valor teórico con las escalas apropiadas para cada media del valor obtenido. Al procesar estadísticamente los resultados, se obtuvo la linealidad del método analítico. (Gráfico 2)

Gráfico 1 Evaluación de linealidad del método



FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

Cada punto de la gráfica es el promedio de la concentración de los valores obtenidos, para cada dilución, con los datos obtenidos se realizó una regresión lineal simple a través de mínimos cuadrados obteniéndose la siguiente ecuación lineal: $y = 1.0009x - 1.1628$. Siendo y la concentración de glucosa sérica observada y x la concentración de glucosa sérica teórica.

El coeficiente de correlación (r) fue de 0,999 que indica una correlación positiva perfecta a los diferentes valores observados y teóricos. El ajuste del modelo es muy bueno, ya que el

valor del coeficiente de determinación (R^2) es de 0,999 es cercano a 1, es decir que el 99,99% de la variación total de la variable Y está explicada por la variable X de esta manera se demuestra un modelo de regresión ajustado.

De acuerdo a los resultados obtenidos por el método enzimático de Glucosa Hexoquinasa (GLUC 3) – Roche realizado en el autoanalizador Cobas c-311 puede considerarse lineal en las concentraciones obtenidas y de acuerdo a los criterios de aceptación de la EMA.

- **Precisión**

Se obtuvieron las desviaciones estándar y coeficientes de variación de los controles utilizados que se pueden apreciar en las Tablas 7 y 8:

Tabla 7 Evaluación de precisión del método. PreciControl Clin Chem Multi 1

Concentraciones de glucosa (mg/dL)	102	103	103	103	103
	103	104	103	104	103
	103	104	104	104	103
	104	104	105	105	104
Promedio Día (mg/dL)	103,00	103,80	103,80	104,00	103,30
Promedio interdía (mg/dL)			103,60		
DS. Día (mg/dL)	0,82	0,50	0,96	0,82	0,50
DS. Interdía (mg/dL)			0,76		
CV. Día (%)	0,79	0,48	0,92	0,79	0,48
CV. Interdía (%)			0,73		

FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

Tabla 8 Evaluación de precisión del método. PreciControl Clin Chem Multi 2

Concentración de Glucosa (mg/dL)	245	244	245	244	244
	246	245	246	245	245
	246	245	246	246	246
	247	246	247	246	247
Promedio Día (mg/dL)	246,00	245,00	246,00	245,30	245,50
Promedio Interdía			245,60		
DS. Día (mg/dL)	0,82	0,82	0,82	0,96	1,29
DS. Interdía (mg/dL)			0,94		
CV. Día (%)	0,33	0,33	0,33	0,39	0,53
CV. Interdía (%)			0,38		

FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

La desviación estándar interdía fue de 0,76 (mg/dL) y un coeficiente de variación 0,73% para el material control M1 y una desviación estándar interdía de 0,94 (mg/dL), con un coeficiente de variación 0,38 % para el control M2 (Ver Tabla 7 y 8).

De acuerdo a estos resultados la imprecisión del método de glucosa hexoquinasa utilizado en el laboratorio del Dispensario Central IESS y trabajado en el autoanalizador Cobas c-311 es menor a los establecidos por el fabricante. Al evaluar el promedio de coeficiente de variación día e interdía de los dos materiales, la imprecisión es similar a las condiciones de repetibilidad y reproducibilidad establecidos por el fabricante (Ver Tabla 9 y10).

Tabla 9 Criterio de aceptabilidad precisión PreciControl Clin Chem Multi 1.

PRECISIÓN	REQUISITO FABRICANTE	PreciControl Chem Multi 1	MENOR FABRICANTE	DECISIÓN
REPETIBILIDAD	1%	0,69% ⁽¹⁾	SI	ACEPTADO
PRECISIÓN INTERMEDIA	1,30%	0,73% ⁽²⁾	SI	ACEPTADO

(1) Promedio del coeficiente de variación día.

(2) Coeficiente de variación interdía.

FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

Tabla 10 Criterio de aceptabilidad precisión PreciControl Clin Chem Multi 2

PRECISIÓN	REQUISITO FABRICANTE	PreciControl Chem Multi 2	MENOR FABRICANTE	DECISIÓN
REPETIBILIDAD	0.9%	0,38% ⁽¹⁾	SI	ACEPTADO
PRECISION INTEMEDIA	1,10%	0,36% ⁽²⁾	SI	ACEPTADO

(1) Promedio del coeficiente de variación día.

(2) Coeficiente de variación interdía.

FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

- **Evaluación de la veracidad de un método analítico utilizando el cálculo de error relativo y porcentaje de recuperación**

La veracidad demuestra el grado de concordancia que existe entre la media aritmética de diez datos de resultados y el valor verdadero o aceptado como referencia. Esta se relaciona con la presencia de errores de tipo sistemático también llamado sesgo o desviación.

Al evaluar este parámetro se evidencia la relación existente entre las concentraciones medidas de un material de referencia certificado CH-9 y el valor verdadero. (Ver Tabla 11).

Se obtuvo un error relativo del 2,66%, es decir que no es significativo el margen de error obtenido en el procedimiento de medida. Entre menor es el error relativo mayor es la veracidad del método, más se acerca al valor considerado como verdadero.

El porcentaje de recuperación es menor al 100% (97,41%). Se evidencia que el valor es aceptable, al encontrarse dentro del intervalo establecido ($100\% \pm 3\%$), es decir que existe menor cantidad recuperada del analito cuantificado. (Ver Tabla 11)

Tabla 11 Evaluación de la veracidad del método de acuerdo al error relativo y porcentaje de recuperación

MATERIAL UTILIZADO	CH-9
GLUCOSA VALOR VERDADERO (mg/dL)	142,8
GLUCOSA VALOR OBTENIDO (mg/dL)	147,0
	146,0
	147,0
	146,0
	146,0
	147,0
	147,0
	146,0
	147,0
PROMEDIO (mg/dL)	146,6
D.ESTANDAR (mg/dL)	0,52
CV (%)	0,35
ERROR RELATIVO (%)	2,66⁽¹⁾
% RECUPERACION	97,41⁽²⁾

(1) $(\text{val. Verdadero} - \text{promedio val. medida}) / \text{val. verdadero} \times 100$

(2) Resultado del cociente del promedio de concentraciones obtenidas y el valor verdadero.

FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

- **Evaluación de la veracidad de acuerdo a la comparación de dos métodos analíticos**

Para la evaluación del método empleado por el IESS Chimbacalle se tomaron en cuenta algunas características similares a las del IESS Central:

- Analizador Cobas c- 311
- Método Glucosa Hexoquinasa
- Curvas de control de calidad interno a niveles normal y patológico sin errores
- Participación ensayos interlaboratorios con calificación satisfactoria

Con las características mencionadas se procedió a evaluar la veracidad comparando dos métodos analíticos similares de Glucosa Hexoquinasa, los promedios de concentración de cada nivel de dilución en los dos laboratorios, se detalla en la Tabla 12.

Tabla 12 Evaluación de la veracidad de acuerdo a la comparación de dos métodos de Glucosa Hexoquinasa

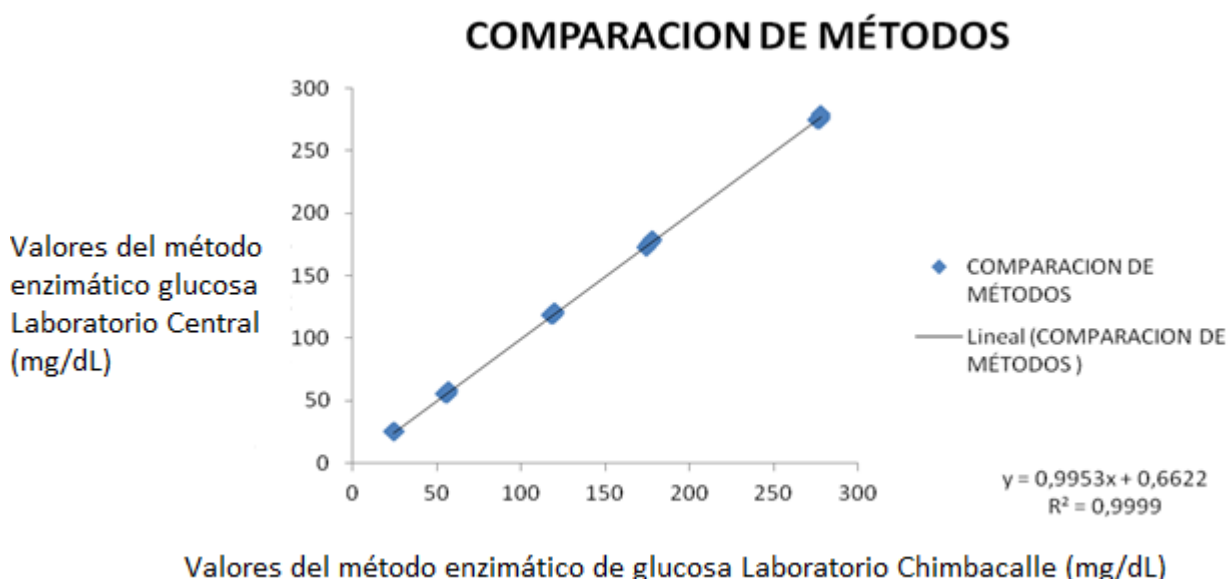
LABORATORIO CENTRAL IESS Glucosa (mg/dL)					LABORATORIO CHIMBACALLE IESS Glucosa (mg/dL)				
L1	L2	L3	L4	PROMEDIO	L1	L2	L3	L4	PROMEDIO
275	275	277	279	276,50	276	277	278	278	277,25
173	175	177	179	176,00	174	176	177	178	176,25
119	119	120	121	119,75	118	119	120	120	119,25
56	56	56	58	56,50	55	56	56	57	56,00
25	25	25	25	25,00	24	25	25	25	24,75

FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

Con estos datos se graficó la recta en función a las concentraciones del método de prueba (Dispensario Central) con el de comparación (Dispensario Chimbacalle). Después de procesar estadísticamente los resultados, se evidencia que estos se relacionan positivamente y linealmente. (Ver Gráfico 3).

Gráfico 2 Comparación de dos métodos enzimáticos de Glucosa Hexoquinasa



FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

La ecuación de la regresión lineal simple obtenida fue $y = 0.9953x + 0.6622$ siendo Y la concentración promedio de glucosa sérica para cada dilución obtenida en el Dispensario Central y X el promedio de glucosa sérica obtenida en el Dispensario Chimbacalle.

El coeficiente de determinación $R^2=0,9999$ que indica una alta bondad del ajuste, los valores obtenidos en un método son similares a los valores obtenidos en el otro en un 99,99%. De esta forma se cumple con el protocolo para verificar la veracidad del análisis evaluado.

- **Evaluación de veracidad de un método de prueba por medio de la comparación contra un método aceptado**

Se evaluó la veracidad de los métodos contrastando los resultados obtenidos por el método de prueba con el método de comparación. (Ver Tabla 13).

Se recolectaron mínimo cuatro muestras por día durante cinco días, se alicuotaron por duplicado y fueron refrigeradas hasta el análisis. La cuantificación de glucosa en cada dispensario se realizó luego de dos horas de haber sido derivadas y manteniendo una cadena de frío adecuada, el análisis se realizó de forma simultánea en los dos laboratorios

Se obtiene el valor de las diferencias (sesgo individual) resultado del método de prueba menos el resultado del método de comparación, con la suma de estos valores se obtiene un valor de 1 para ^{bi} y de -2,26 para ^{%bi}, Se obtuvo así el valor del sesgo en valores absolutos (0.5 mg/dL) y en porcentaje (1,09%)

Los resultados se compararon con el valor declarado por el fabricante (3%), es decir que los dos métodos analíticos evaluados fueron aceptables de acuerdo a los establecido en el inserto del fabricante.

Tabla 13 Resultados de la comparación entre los dos métodos enzimáticos para Glucosa Hexoquinasa

Método de Prueba (mg/dL)	Método de Comparación (mg/dL)	bi	bi-b	(bi-b) ²	%bi	%b%bi	(%b-%bi) ²
275	276	-1	0,5	0,25	0,181	-0,909	0,827
173	174	-1	0,5	0,25	0,287	0,287	0,083
119	118	1	0,5	0,25	0,424	-0,667	0,445
56	55	1	0,5	0,25	0,909	0,909	0,826
25	24	1	0,5	0,25	2,083	2,083	4,340
275	277	-2	1,5	2,25	0,542	0,542	0,293
175	176	-1	0,5	0,25	0,284	0,284	0,081
119	119	0	-0,5	0,25	-0,420	-0,420	0,177
56	56	0	-0,5	0,25	-0,893	-0,893	0,797
25	25	0	-0,5	0,25	-2,000	-2,000	4,000
277	278	-1	0,5	0,25	0,180	0,180	0,032
177	177	0	-0,5	0,25	-0,282	-0,282	0,080
120	120	0	-0,5	0,25	-0,417	-0,417	0,174
56	56	0	-0,5	0,25	-0,893	-0,893	0,797
25	25	0	-0,5	0,25	-2,000	-2,000	4,000
279	278	1	0,5	0,25	0,180	0,180	0,032
179	178	1	0,5	0,25	0,281	0,281	0,079
121	120	1	0,5	0,25	0,417	0,417	0,174
58	57	1	0,5	0,25	0,877	0,877	0,769
25	25	0	-0,5	0,25	-2,000	-2,000	4,000
	Σ	1	3	7	-2,260		
Sesgo (mg/dL)		0,5	Sesgo%		1,091		

bi: (resultado del método de prueba – resultado del método de comparación)

b: sesgo individual de la muestra

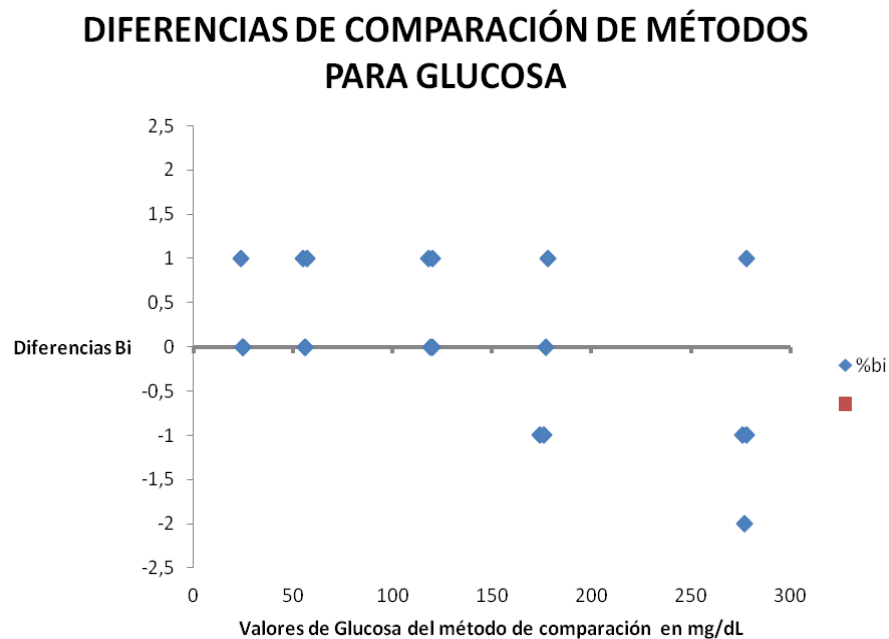
FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

Posteriormente se realizó el gráfico de diferencias, que expresa el valor de b en porcentajes. (Ver Gráfico 4)

Los valores aparecieron cerca de la línea de diferencias nulas aproximadamente en la misma proporción por encima y por debajo de la línea, es decir que los dos métodos evaluados presentan una relación equivalente de uno a uno en cada valor.

Gráfico 3 Diferencias de la comparación de métodos enzimáticos para determinar Glucosa Hexoquinasa



$$\%bi: [(Resultado del método de prueba - resultado del método de comparación) / (resultado del método de comparación)] * 100$$

FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

Otra forma de verificar la veracidad del método analítico, es tomando en cuenta si existe algún tipo de error sistemático en los puntos de interés médico descritos en Medical Decision Levels de Westgard QC.

Con los datos obtenidos del coeficiente de determinación R^2 (Gráfico 2) y los puntos de decisión médica se calcularon los porcentajes de error sistemático, los cuales se compararon con el sesgo del fabricante. (Ver Tabla 14).

En la Tabla 15 se observa que el error sistemático para hipoglucemia y prediabetes se encuentra dentro del límite establecido por el fabricante (3%), confirmándose que el porcentaje de error no es significativo y el método es conforme con lo establecido por el fabricante.

Tabla 14 Evaluación de veracidad de acuerdo a los puntos de interés médico

	PUNTOS DECISIÓN CLÍNICA GLUCOSA (mg/dL)	VALOR OBTENIDO	ERROR SISTEMÁTICO ⁽¹⁾	ERROR SISTEMÁTICO %
HIPOGLICEMIA	45	45,45	0,45	1,00
VALOR NORMAL	120	120,09	0,09	0,08
PREDIABETES	180	179,81	-0,18	-0,10

(1) Los resultados de la comparación de métodos $y = 0,9953x + 0,6622$ permiten estimar el error sistemático en cada caso, sustituyendo los valores de x por cada uno de los valores de decisión clínica.

FUENTE: Westgard, 2009

ELABORACION: Lesly Ruiz

- **Evaluación de Incertidumbre con el uso de valores de control interno y externo**

El procedimiento para la cuantificación de glucosa en suero por el método de glucosa hexoquinasa permitió obtener resultados trazables con un nivel apropiado de incertidumbre.(Ver Tabla 15)

Tabla 16 Estimación de nivel de incertidumbre

	b^2	s^2	$b^2 + S^2$	$ECM = \sqrt{b^2 + S^2}$
Control Normal	1,28	2,56	3,84	5,79

FUENTE: investigación

ELABORACION: Lesly Ruiz

Se obtiene el valor de ECM (error cuadrático medio) tomando en cuenta el índice de desviación del ensayo de aptitud b^2 y los datos de la desviación estándar obtenida por el control de calidad interno s^2 , para una concentración de 147 mg/dl

El valor de ECM de 5,79 corresponde al valor de la incertidumbre para la medición de glucosa sérica en el laboratorio clínico del Dispensario Central con un margen de confiabilidad del 95%.

9. CONCLUSIONES

El método tiene un comportamiento lineal ya que el valor obtenido del coeficiente de correlación alcanzado es cercano a 1 como lo describe el fabricante, además la recta línea toca la mayor cantidad de puntos de decisión clínica. Tomando en cuenta los criterios de

aceptación los resultados mínimos que pueden ser reportados son 11.25 y máximo 629 mg/dl.

La veracidad del método se obtuvo tomando en cuenta resultados de programa de evaluación externa y criterios de aceptación descritos por la EMA, el mismo que reflejan que no existe presencia de error de tipo sistemático en las mediciones

No se encontró diferencias significativas en base a los resultados obtenidos de acuerdo a la comparación de los dos métodos analíticos, es decir el comportamiento de los dos es lineal; para dar como aceptable la veracidad de los métodos en estudio.

El método es veraz para los puntos de decisión médica es decir: hipoglucemia, valor normal y prediabetes, los que demuestran que el sesgo obtenido es menor al descrito por el fabricante.



Laboratorio
Clínico

**VERIFICACIÓN DE UN MÉTODO
ENZIMÁTICO PARA LA DETECCIÓN
CUANTITATIVA DE GLUCOSA
HEXOQUINASA EN SUERO**

R4 – P4

Revisión N° 1

Página 1 de 2

N° de Protocolo:

Responsable:

1.- Objetivos del estudio

2.- Fecha de realización

3.- Alcance de la validación

Análito (ej. agente infeccioso)

Muestra

Rango de trabajo

Procedimiento de ensayo (Código del procedimiento de ensayo)

Tipo de Método Cualitativo Cuantitativo Semi-Cuantitativo

Nombre y código de los equipos empleados

4.- Parámetros de Validación

- Intervalo de linealidad
- Precisión: Repetibilidad
- Precisión: Reproducibilidad
- Exactitud
- Otros

5.- Criterios de aceptación

$R^2 \geq$ $CL \geq$

$CV\% \geq$

$CV\% \geq$

$E\% \leq$

Indicar

6.- Observaciones

Cargo

Firma

Fecha