



**Universidad de Concepción
Facultad Farmacia**

**PROCEDIMIENTO DE VERIFICACIÓN ANALÍTICA
BASADA EN CLSI EP15-A3 Y ANALISIS DE
DESEMPEÑO PARA LA DETERMINACIÓN DE COBRE
EN EL SISTEMA AUTOMATIZADO ATELLICA CH 930
REALIZADO EN EL LABORATORIO CLÍNICO
DIAGNOMED S.A
POR RICARDO ESTEBAN ÁVILA CRUZ**

Trabajo de Internado en Sector Salud presentado a la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción para optar al título profesional de Bioquímico

Profesor patrocinante: Dr. Juan Araya Quintana
Departamento de Análisis Instrumental
Facultad de Farmacia
Universidad de Concepción

Profesional guía: BQ. Jorge Gower Pastenes
Encargado de Calidad Laboratorio Clínico
Laboratorio Clínico Diagnomed S.A

Noviembre, 2022

Concepción, Chile

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

AGRADEMIENTOS

A mis padres, hermanos y familia, gracias por su apoyo incondicional, paciencia, alegría, comprensión y apoyo constante que me han brindado para lograr cada una de mis metas.

A mis amigos, quienes en todos estos años de universidad me entregaron compañía, momentos, cariño y apoyo, sin ustedes la universidad hubiese sido muy diferente.

Al Laboratorio Clinico Diagnomed S.A. y a su grupo de profesionales por acogerme, enseñarme y apoyarme durante mi internado, además de entregarme las herramientas y permitirme realizar este trabajo de termino de carrera.

Y a todas las personas que de alguna u otra forma me ayudaron en la realización de este trabajo.

TABLA DE CONTENIDOS

TABLA DE CONTENIDOS	IV
ÍNDICE DE TABLAS	VI
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	VII
RESUMEN.....	IX
ABSTRACT	XI
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Importancia de la validación y calidad en el laboratorio clínico	1
1.2 Análisis de desempeño.....	8
1.3 Cobre y su homeostasis	12
1.4 Métodos analíticos para la determinación de cobre en suero.....	19
2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	23
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	24
4. HIPÓTESIS.....	24
5. OBJETIVO GENERAL	25
6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
7. MATERIALES Y MÉTODOS	26
7.1 Materiales	26
7.2 Métodos.....	28
8. RESULTADOS	32
8.1 Procedimiento de configuración para ensayos de canal abierto para la determinación del cobre en el sistema automatizado Atellica CH930	32
8.2 Especificaciones de calidad en base a Variabilidad Biológica para la determinación de Cobre	39

8.3 Estudio de Precisión (repetibilidad e intercorrida) según protocolo CLSI EP15-A3	42
8.3.1. Análisis del nivel de control 1 para el estudio de precisión.....	45
8.3.2. Análisis del nivel de control 2 para el estudio de precisión.....	52
8.3.3. Análisis del nivel de control 3 para el estudio de precisión.....	58
8.4 Estudio de Estimación de Sesgo (BIAS) según protocolo CLSI EP15-A364	
8.4.1. Análisis del nivel de control 1 para el estudio de estimación de sesgo	67
8.4.2. Análisis del nivel de control 2 para el estudio de estimación de sesgo	69
8.4.3. Análisis del nivel de control 13 para el estudio de estimación de sesgo	71
8.5 Análisis de Desempeño	73
9. DISCUSIÓN	84
10. CONCLUSIÓN	91
11. GLOSARIO	94
12. REFERENCIAS	96
13. ANEXOS	102
13.1 Inserto kit “Determinación colorimétrica directa sin desproteinización de la concentración de cobre (Cu) es suero y plasma” de Sentinel Diagnostics.	102
13.2. Folleto de la aplicación del ensayo Copper de Sentinel Diagnostics para el analizador Atellica ® CH930	104
13.3. Inserto control comercial 3ra opinión “InteliQ Assayed Multiquel Control” Lote 45900T para la determinación colorimétrica de cobre en el sistema Siemens Atellica Solutions.	106
13.4. Planilla Excel ® de Siemens Diagnostics utilizada para la verificación del usuario de la presión y estimación del sesgo según las directrices del protocolo CLSI EP15-A3.....	108

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 8.1. Especificaciones de calidad de variación biológica para la determinación de cobre en suero.....	41
Tabla 8.2: Compilación de datos para el análisis del nivel 1 de control.....	45
Tabla 8.3. Estimación de imprecisión mediante análisis de varianza unidireccional (ANOVA) para el nivel 1 de control.....	48
Tabla 8.4. Comparación de estimaciones de imprecisión con la afirmación del fabricante para el nivel 1 de control.....	51
Tabla 8.5: Compilación de datos para el análisis del nivel 2 de control.....	52
Tabla 8.6. Estimación de imprecisión mediante análisis de varianza unidireccional (ANOVA) para el nivel 2 de control.....	55
Tabla 8.7. Comparación de estimaciones de imprecisión con la afirmación del fabricante para el nivel 2 de control.....	58
Tabla 8.8. Compilación de datos para el análisis del nivel 3 de control.....	59
Tabla 8.9. Estimación de imprecisión mediante análisis de varianza unidireccional (ANOVA) para el nivel 3 de control.....	61
Tabla 8.10. Comparación de estimaciones de imprecisión con la afirmación del fabricante para el nivel 3 de control.....	64
Tabla 8.11. Datos obtenidos del análisis de 20 muestras de tres controles de calidad comercial de concentración conocida, procesadas durante 20 días consecutivos.....	74
Tabla 8.12. Relación entre el valor de la sigma métrica, la regla de control (Westgard) y el desempeño del método analítico.....	81
Tabla 8.13. Relación entre el valor del error crítico sistemático, la regla de control (Westgard) y el desempeño del método analítico.....	82

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 1.1. Reacción del ensayo según el método 3,5-DiBr-PAESA.....	22
Figura 8.1. Definición del ensayo de cobre, tipo de muestra, intervalos de medición y criterios de dilución en el sistema automatizado Atellica CH930.....	33
Figura 8.2. Definición de unidades de medidas y alertas rechazo de acuerdo con el estado de la muestra lo que puede causar interferentes en la medición.....	34
Figura 8.3. Definición de parámetros de calibración indicando los días estabilidad de la calibración para el lote y el cartucho de reactivo.....	35
Figura 8.4. Definición de los valores de referencia indicando limite alto y bajo.....	36
Figura 8.5. Diagrama de flujo del experimento de evaluación de precisión.....	44
Figura 8.6. Representación gráfica de los resultados obtenidos en las 25 mediciones diarias del nivel 1 de control.....	46
Figura 8.7. Representación gráfica de los resultados obtenidos en las 25 mediciones diarias del nivel 2 de control.....	53
Figura 8.8. Representación gráfica de los resultados obtenidos en las 25 mediciones diarias del nivel 3 de control.	59
Figura 8.9. Diagrama de flujo del experimento de estudio de estimación de sesgo.....	66
Figura 8.10. Representación gráfica de los resultados obtenidos en las 20 mediciones diarias del nivel 1 de control.....	75
Figura 8.11. Representación gráfica de los resultados obtenidos en las 20 mediciones diarias del nivel 2 de control.....	75
Figura 8.12. Representación gráfica de los resultados obtenidos en las 20 mediciones diarias del nivel 2 de control.....	76

Figura 8.13. Informe de los resultados obtenidos del análisis de la muestra de control 01 del ciclo 21 EQAS	79
Figura 8.14. Gráfico OPSpecs normalizado para procedimientos de control de calidad para 3N de QC, con 90% AQA.....	83

RESUMEN

La verificación del rendimiento analítico del método por el cual son determinados distintos analitos en el laboratorio clínico es un requisito esencial para el análisis de muestras de pacientes. En este trabajo el objetivo fue Implementar la determinación de cobre mediante el ensayo *Copper* de Sentinel Diagnostics por método colorimétrico en el sistema automatizado Atellica CH 930, usado en el laboratorio clínico DIAGNOMED

Para ello se verificó el rendimiento de la determinación de cobre mediante un método colorimétrico en el sistema automatizado Atellica CH930 en el Laboratorio Clínico Diagnomed S.A frente a las afirmaciones indicadas por el fabricante (Sentinel Diagnostics) utilizando las directrices del protocolo CLSI EP15-A3. El estudio fue realizado utilizando 3 niveles de control de calidad de tercera opinión de BioRad®. Se estableció la configuración de ensayos de canal abierto de la determinación de cobre en el sistema automatizado Atellica CH930 y posteriormente se llevó a cabo el estudio de verificación de la precisión y estimación del sesgo de la técnica utilizando cinco repeticiones de control de calidad por cada nivel de control durante cinco días. Con los resultados obtenidos se calcularon las estimaciones de imprecisión en forma de coeficiente de variación y fueron comparadas con las afirmaciones del fabricante siendo

aceptada la verificación de la precisión y se estableció un requisito de calidad siendo mediante este aceptada la verificación de la estimación de sesgo. Finalmente se realizó un análisis de desempeño mediante un programa de calidad externo mediante el cual se obtuvo un rendimiento analítico bueno.

ABSTRACT

Verification of the analytical performance of the method by which distinct analytes are determined in the clinical laboratory is an essential requirement for the analysis of patient samples. In this study, the performance of copper determination by a colorimetric method in the Atellica CH930 system at "Laboratorio Clínico Diagnomed S.A" was verified against the statements indicated by the manufacturer (Sentinel Diagnostics) using the guidelines of the CLSI EP15-A3 protocol. The study was performed using 3 levels of BioRad® quality control. The configuration of open channel assays for the determination of copper was established in the Atellica CH930 system and then the study of verification of the precision of the technique was carried out using five repetitions of quality control for each level of control for five days. With the results obtained, the imprecision estimates were calculated in the form of a coefficient of variation and were compared with the manufacturer's statements, the verification of the precision was accepted, and a quality requirement was established, through which the verification of the Bias estimate was accepted. Finally, a performance analysis was carried out through an external quality program through which a good analytical performance was obtained.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Importancia de la validación y calidad en el laboratorio clínico

El aseguramiento de la calidad implica monitorear y mantener la calidad a lo largo de todas las fases del proceso de prueba, incluidas las fases preanalíticas, analítica y la postanalítica (Rehnuma B. et al, 2015).

El Control de Calidad (QC) es el resultado de un largo proceso que se inició en la década de 1940, período en que se cuestionó la validez de los resultados proporcionados por los laboratorios, confirmado por numerosos estudios que evaluaban el desempeño entre laboratorios (Belk W & Sunderman F, 1988). Los primeros ensayos de evaluación de la calidad destinados a diseñar estrategias encaminadas a mejorar su funcionamiento fueron desarrollados por Levey y Jennings (1950), quienes propusieron la habituación de los métodos de control de calidad industrial empleados por Shewhart a los laboratorios clínicos, transformándose en la primera prueba de la aplicación de cartas de control en la zona del laboratorio clínico. (Levey S & Jennings ER, 1950).

En 1952, Henry y Segalove proporcionaron muestras estándar y pacientes duplicados para producir gráficos de control inspirados en Levi y Jennings. Inicialmente, los criterios de valoración para evaluar el rendimiento del método incluían reglas de control de $\pm 2s$ y $\pm 3s$; sin embargo, con el desarrollo y el uso frecuente de analizadores de propósito general, se hizo evidente que la regla de control de $\pm 2s$ producía una gran cantidad de resultados falsos positivos, por lo que comenzó a ser visto como una guía para los estados de "alarma" en lugar de una regla de "control" (Henry RJ & Segalove, 1952). A fines de 1974, Haven propuso agregar una regla de $\pm 2s$, esta y otras reglas de control han sido probadas por Westgard, quien también inició estudios estadísticos para calcular dos propiedades distintas que determinan el desempeño del sistema de control de calidad (Westgard JO. et al, 1977). En 1981 Westgard y colaboradores describieron un procedimiento QC que incluía la aplicación de un conjunto de reglas adicionales. Dos reglas de detección de errores aleatorios (reglas de control 1_{3s} y R_{4s}) y tres reglas de detección de errores del sistema (2_{2s} , 4_{1s} y 10_x). Hoy en día, el uso combinado de esta regla se conoce como el proceso de multirreglas de Westgard.

En el caso de la calidad en la fase analítica, esta se encuentra determinada por el método utilizado para este análisis, donde el requisito esencial que determina la calidad de un método es su validez. La práctica actual de laboratorio en todo

el mundo implica el uso de métodos validados por el fabricante (ISO, 2012). Aun así, existen claras diferencias en la calidad de las pruebas entre laboratorios; esta diferencia puede explicarse por varias variables de error sistemático, incluidos los procedimientos de QC, los procedimientos de mantenimiento de los equipos (error instrumental) y los problemas de capacitación (error personal) (Rodríguez-Benavides G. & Blanco-Sáenz R., 2001).

La implementación de una nueva herramienta diagnóstica en el laboratorio implica determinar si los resultados derivados de su utilización serán analíticamente confiables. Una alternativa para evaluar el desempeño de un método es su validación, la que conduce a determinar su error total. Este se entiende como la máxima dispersión asociada a una medición dentro del laboratorio; una vez establecido, se compara con distintos requerimientos de calidad, es decir, límites de concentración definidos en términos de decisión clínica (F.J. Gella Tomás et al, 2011).

Después de seleccionar una metodología apropiada basada en los requisitos de cada laboratorio, la verificación se convierte en una responsabilidad esencial del laboratorio. Las Directrices del *Clinical & Laboratory Standard Institute* (CLSI) proporcionan la trazabilidad necesaria para la verificación de métodos en laboratorios. De esta forma el protocolo CLSI EP15-A3 describe la estimación de

la imprecisión y del sesgo para los procedimientos de medición cuantitativa del laboratorio clínico utilizando un protocolo que se puede completar en tan solo cinco días (CLSI, 2014)

En Chile, el Instituto de Salud Pública de Chile (ISP), por medio del Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia desde 1972 establece un programa de evaluación externa de la calidad (PEEC) en las diferentes áreas de desempeño de laboratorios clínicos, con el propósito de incentivar la mejora continua de la calidad de las prestaciones realizadas.

El marco legal para laboratorios clínicos sujeto al Decreto Supremo N°20 del año 2011 de Reglamento de Laboratorios Clínicos, artículo 23, indica que “Los laboratorios clínicos deberán diseñar sistemas de control interno para verificar que la calidad alcanzada es la especificada y deberán participar en programas de control externo de calidad de la etapa analítica, de las áreas de laboratorio en las que otorguen prestaciones y que se encuentren disponibles”. Por otra parte, los manuales que fijan los estándares de acreditación, el manual estándar general para prestadores institucionales de atención cerrada y el manual estándar general para prestadores institucionales de atención abierta, establecen en el ámbito servicios de apoyo laboratorio clínico (punto APL 1.4) que el laboratorio participa en un Programa de Control de Calidad Externo acorde

a la normativa vigente. Lo mismo ocurre con el manual que fija el estándar general de acreditación de prestadores institucionales de laboratorios clínicos en el Ámbito Gestión de Proceso (punto GP1.4), el que indica que el prestador institucional participa en un Programa de Control de Calidad Externo acorde a la normativa vigente.

Estos dos conceptos están interrelacionados, y para obtener el reconocimiento externo de la calidad se requiere un sistema de control de calidad interno establecido y desarrollado para asegurar el mejor resultado de la evaluación (Valcárcel & Ríos, 2009).

En definitiva, la calidad externa depende de la calidad interna, por lo cual se debe establecer el nivel de exigencia con el fin de asegurar resultados aceptables en la evaluación.

CLSI EP15-A3: Verificación de usuario de precisión y estimación de sesgo

El protocolo del CLSI EP15-A3 está diseñado para que los laboratorios verifiquen que sus métodos tengan un rendimiento equivalente al declarado por el fabricante en sus especificaciones.

Esta guía proporciona un protocolo y un análisis de datos para verificar las especificaciones operativas de un fabricante en condiciones de precisión y repetibilidad de laboratorio. Se caracteriza por describir el protocolo para precisión, basado en el análisis de cinco replicados sobre un material de control durante 5 días. Estas características de desempeño están definidas en EP 15-A3 de la siguiente forma:

Repetibilidad (de los resultados de una medición): Proximidad o consenso entre los resultados de mediciones continuas del mismo mensurando realizadas bajo las mismas condiciones de medición. Es lo que se conoce como el concepto de exactitud intra corrida o intraserie (BIPM, 2012).

Precisión intermedia de una medición (intralaboratorio): Exactitud obtenida en un definido tiempo; operadores, calibración y lotes de reactivos logrando cambiar dentro del mismo laboratorio y utilizando el mismo equipo (BIPM, 2012).

Por otra parte, para la estimación del sesgo se establece un período de capacitación para aprender a operar el sistema analizador, incluidos los procedimientos de calibración, mantenimiento y monitoreo (control de calidad estadístico interno). Se debe tener en cuenta que se pueden seleccionar al menos dos niveles de control con diferentes concentraciones, pero sus concentraciones deben ser cercanas o iguales a los valores de importancia

clínica. Del mismo modo, se requieren manuales o prospectos de reactivos del fabricante cuando corresponda.

Luego sigue un plan de trabajo consistente en lecturas durante 5 días con cinco repeticiones.

A partir de estos datos se calcula, como proceso:

- Coeficiente de variación en condiciones de repetibilidad: CV_R
- Coeficiente de variación en condiciones intralaboratorio: CV_{WL}

De ese modo, el resultado de este proceso es comparable con: CV_R del fabricante o límite superior de verificación para CV_R , y con CV_{WL} del fabricante o límite superior de verificación para CV_{WL} .

Por lo tanto, si los valores obtenidos por las mediciones son mayores a los del fabricante, la verificación se rechaza; caso contrario se aprueba. Aun así, al ser rechazada, se pueden verificar los datos del proceso con el límite superior de verificación para CV_{WL} .

1.2 Análisis de desempeño

La participación en un programa de calidad externo (EQA, por sus siglas en inglés) le da al laboratorio una visión general de su desempeño en una prueba en particular en comparación con otros laboratorios que usan reactivos e instrumentos similares o incluso diferentes (ISO 15189, 2012). El EQA mide la precisión del laboratorio utilizando muestras ciegas que se analizan como si fueran muestras de pacientes. Los resultados se informan periódicamente al organizador del sistema para su análisis estadístico. Luego, cada laboratorio recibirá un informe que compara su desempeño con los resultados de otros participantes en el mismo programa. Estos gráficos proporcionan una confirmación externa de los resultados del laboratorio y también son una herramienta valiosa para el control interno de los procesos del laboratorio dando así certeza de un correcto informe de los resultados de cada paciente. Esto genera beneficios para el laboratorio, los pacientes e incluso organismos de acreditación y/o reguladores donde entidades acreditadoras exigen dentro de los requisitos estar adscritos a distintos programas de evaluación externa de la calidad. El uso de este tipo de programas como herramienta de control interno no se limita a la investigación de hallazgos inaceptables. El seguimiento de todos los resultados (aceptados y rechazados) y la evaluación constante del reporte final con respecto a los reportes anteriores permite que el laboratorio identifique sesgos y tendencias que, según el tiempo, pueden conducir a rechazo de los

resultados emitidos por el laboratorio, lo que resalta problemas potenciales y no reconocidos relacionados con grandes errores aleatorios y fallas del sistema, o incluso fallas operador (Sciacovelli L. et al, 2010).

De esta forma, el desempeño analítico es la capacidad del laboratorio clínico para evaluar el proceso de control de calidad considerando la máxima exactitud y precisión permitidas, rango analítico, las interferencias, la repetibilidad del error y el análisis del tiempo. Su cálculo se puede obtener mediante metodologías como: cartas OPSpecs, Sigma métrico y el error sistemático crítico.

Cartas Normalizadas OPSpecs

Las cartas OPSpecs son una herramienta gráfica que permiten correlacionar las imprecisiones e inexactitudes del método con el QC necesario para lograr los requisitos de calidad especificados para el método (Westgard JO. Et al. 1992). Una Carta Normalizada OPSpecs muestra la relación entre la calidad de prueba requerida, la imprecisión e inexactitud, el QC requerido para garantizar que la calidad sea alcanzable en cada análisis, y muestra la imprecisión permisible en el eje Y para la imprecisión de coordenadas, así como los límites operativos correspondientes a diferentes bases y diferentes números para las medidas de control.

Sigma Métrico (SM)

Es una medida que relaciona la tolerancia máxima especificada para un proceso con el rendimiento analítico de ese proceso y la frecuencia probable de defectos. Este representa la capacidad del proceso y, con base en el modelo "six sigma", calcula el número de desviaciones estándar o "sigma" que se encuentran dentro de los límites de tolerancia especificados para cada proceso. Por lo tanto, cuanto mayor sea el número de "sigma" dentro de los límites aceptables, habrá menos resultados no conformes que permiten verificar el funcionamiento de un análisis para un proceso de medición determinado. Para realizar el cálculo de sigma métrico del método asociado al analito que se está determinando, se debe aplicar la siguiente fórmula:

$$Sigma\ métrico = \frac{\%TEa - \%Sesgo}{\%CV}$$

Donde %TEa es el Error total permitido entregado por el criterio de calidad, %Sesgo es la medida del sesgo entregada por resultado del control de calidad externo y %CV es el coeficiente de variación entregado por el control de calidad interno.

Error sistemático crítico (ΔE_{Scrit})

Esta metrología corresponde a la magnitud del error sistémica clínicamente significativa que debe ser detectada por el proceso de calidad para cumplir y

mantener los requisitos de calidad especificados. El error sistemático crítico nos indica el tamaño del error que se debe detectar en el proceso de control de calidad y está directamente relacionado con el sigma métrico, lo que supone un complemento del desempeño de la capacidad del proceso en términos de números sigma. De esta forma, con una alta capacidad de proceso, los errores que causan resultados defectuosos son grandes y serán fácilmente detectados por el procedimiento de control de calidad, al contrario, cuando la capacidad del proceso es baja, los errores que deben ser detectados se hacen más pequeños, lo que requiere mejorar la capacidad de detección del procedimiento de control de calidad. Para calcular el error sistemático crítico relacionado con el analito a determinar, se aplica la siguiente fórmula con un 95% de confianza:

$$\Delta E_{Scrit} = \left(\frac{\%TEa - \%Sesgo}{\%CV} \right) - Z$$

Donde Z, es un valor que especifica una tasa máxima de defectos con la cual una corrida analítica debe ser rechazada. El valor Z se suele establecer como 1,65.

1.3 Cobre y su homeostasis

El Cobre, es un elemento traza esencial en los sistemas biológicos donde puede estar presente en ambos estados de valencia +1 y +2, por lo tanto, su función principal involucra reacciones de oxido-reducción actuando como cofactor para la transferencia electrónica de diversas cuproenzimas como en el caso de la ferroxidasa-1 comúnmente conocida como ceruloplasmina (transportador de cobre), citocromo-c oxidasa (transporte de electrones), superóxido dismutasa de zinc-cobre (defensa antioxidante), dopamina-b-hidroxilasa (pigmentación de la piel) dopamina-mono-oxigenasa (síntesis de neurotransmisores), lisil oxidasa (reticulación del colágeno, formación de hueso), tirosinasa (producción de melanina), entre otras (Fernández MD. 1998). De esta forma, el cobre interviene en importantes procesos como la oxidación del hierro, la respiración celular, la eliminación de radicales libres, la biosíntesis de catecolaminas y melanina, así como la formación de tejidos conectivos y la flexibilidad de los vasos sanguíneos, procurando una presión arterial favorable (Alarcón, OM. et al. 2003). Por otra parte, cuando el cobre se encuentra en exceso genera radicales libres altamente tóxicos (Mejia O. et al, 2006) y reduce la proliferación celular (Royer A. & Sharman T.,2021).

Al igual que el resto de los minerales que se encuentran en los seres vivos, el cobre no puede ser sintetizado por estos y solo puede obtenerse a través de los alimentos y el agua. Los alimentos en que lo podemos encontrar son variados; pero principalmente está contenido en cereales, frutos secos, legumbres, frutas, hígado, mariscos y algunos alimentos como el chocolate o el vino tinto (Feoktistova I. & Clark Y. 2018). En el caso del agua, la cantidad recomendada de cobre que debe contener el agua potable según la Organización Mundial de la Salud es de 2 mg por litro. Ahora bien, factores pueden aumentar el nivel de cobre, como el pH al que este se encuentra, si el medio en el que se transporta contiene cobre (tuberías), o si se trata de agua sin tratar (Araya et al. 2009).

Los niveles de cobre normales en el organismo varían a medida que las personas crecen, en neonatos de 0-2 meses: 40-140 µg/dL, de 3-6 meses: 40-160 µg/dL, de 7-9 meses: 40-170 µg/dL, de 10-12 meses: 80-170 µg/dL, en niños de 13 meses-10 años: 80-180 µg/dL, adolescentes de 11-17 años: 75-145 µg/dL y en hombres adultos 73-129 µg/dL, mientras que en mujeres adultas 77-206 µg/dL (Santos. et al, 2018). Al igual que los niveles normales de cobre, los requerimientos diarios de cobre que necesita el cuerpo también aumentan, por lo que la cantidad diaria recomendada de este oligoelemento es de 350 µg/día para niños de 1 a 3 años, 450 µg/día para personas de 4 a 8 años, 890 µg/día

para adolescentes de 14 a 18 años, mientras que para personas mayores de 18 años esta cifra se eleva a 900 µg/día (García-Gabarra A. et al. 2017)

Los niveles séricos altos de este elemento se han asociado con toxicidad y, de manera inespecífica, con infección, daño hepático, colestasis e insuficiencia pancreática exocrina. Su deficiencia puede dar lugar a hipopigmentación y anemia microcítica, trastornos neurológicos, defectos en la queratinización, formación y osificación del cartílago, anomalías en la pigmentación de la piel, entre otros (Yu L. et al. 2019). También se asocian con el cobre: enfermedad de Wilson (incapacidad para secretar cobre unido a ferroxidasa en el hígado), cirrosis biliar primaria, enfermedad de Menkes (defecto hereditario en el transporte y almacenamiento de cobre) (Mehri A. 2020).

La principal transportadora de cobre plasmático se refiere a una proteína, considerando su reacción electroforética, de tipo α -2 globulina llamada ceruloplasmina. Esta proteína transporta prácticamente la totalidad del cobre en la sangre, cerca de un 90%, ya que el resto de este oligoelemento es transportado por otro tipo de proteína denominada albúmina (Rodríguez Ferrer, 2011). La ceruloplasmina se desarrolla en el hígado, más concretamente en los hepatocitos, a modo de cadena polipeptídica simple, se secreta como α -2-glucoproteína en el plasma (Aguilar Cordero, M^a. 2011). Sin embargo, también

puede ser igualmente sintetizada por células integrantes de otros tejidos, como monocitos, astrocitos y células de Sertoli (Fox PL. 2000). La excelente concordancia entre el nivel de cobre sérico y la cantidad de su proteína transportadora, la ceruloplasmina, convierte a esta en un marcador muy eficaz del estado de cobre en el organismo. (González, HF, & Visentin, S. 2016).

Se ha descubierto que varios componentes que se encuentran naturalmente en los alimentos afectan la absorción de cobre en el intestino y aumentan o disminuyen la biodisponibilidad del cobre (Calton JB., 2010). Además de una dieta baja en cobre, que parece aumentar la eficiencia de absorción del cobre, el otro factor dietético importante que mejora la biodisponibilidad del cobre es el alto consumo de proteínas (Khaghani, S. et al, 2010).

El cobre, tras ser ingerido mediante la dieta, se absorbe principalmente en el estómago y el duodeno, penetrando en la mucosa intestinal mediante difusión pasiva (Mejia O. et al, 2006). El estómago facilita su liberación a través de los alimentos y el agua debido a su pH ácido. La forma química en que se encuentra el cobre en el lumen intestinal influye mucho en su absorción, cuanto mayor sea la solubilidad de la molécula, más eficaz será la absorción. El pH gástrico juega un papel importante para facilitar la disolución de cobre y regular las interacciones con los ligandos y otros componentes del bolo. Los factores que

reducen la absorción de cobre reducen la solubilidad intestinal de este mineral y/o compiten con el transporte de cobre a través de la mucosa. Las proteínas animales, la leche materna y la histidina favorece la absorción de cobre. En contraste, la leche de vaca, fitatos, fructosa, ácido ascórbico, Zn, Fe, Ni y Mo tuvieron efectos inhibidores (Lonnerdal B., 1998).

El cobre se transporta a través de la vena porta unido a la albúmina, la transcupreína y los aminoácidos, principalmente la histidina, donde es dirigido hacia el hígado, su principal órgano homeostático, donde se acumula por medio de los hepatocitos, de manera controlada mediante las proteínas *Copper transporter* (Gupta, A., & Lutsenko, S. 2009), para luego ser distribuido en el organismo por la ceruloplasmina. Cualquier exceso de cobre no exportado por los enterocitos se une a la metalotioneína, que actúa como una proteína de unión a metales intracelular (Arredondo & Núñez, 2005).

El exceso de cobre en el cuerpo se elimina a través del tracto gastrointestinal a través de la bilis devolviéndolo a los intestinos y se excreta en las heces con una pérdida diaria estimada de cobre de 2 a 3 mg, la orina también actúa como medio de excreción de este mineral, aunque por ella solo se pierde un 3% del total excretado (González HF. & Visentin S. 2016).

Trastornos asociados al metabolismo del cobre

La determinación del cobre sérico es importante en el diagnóstico de la enfermedad de Wilson y el síndrome de Menkes, dos errores congénitos del metabolismo del cobre, además, también se han detectado niveles anormales de cobre sérico en pacientes con artritis reumatoide, embarazos anormales y ciertos tipos de cáncer (Jiménez-Díaz, M. et al. 2002)

Como se describió anteriormente, cuando se prescribe el diagnóstico con referencia a condiciones que involucran niveles elevados o deficientes de cobre en el cuerpo, es necesaria una dosis sérica de este mineral. En la fisiopatología de este elemento encontramos que debido al aumento del contenido de cobre en la sangre se produce la enfermedad de Wilson; la cual fue clasificada en 1912 por el neurólogo británico Samuel Alexander Kinnear Wilson como un trastorno neurológico con deterioro progresivo de la perforación hepática. (Solís Muñoz, P., & Solís Herruzo, J. A. 2008). Esta enfermedad se caracteriza por una acumulación excesiva de cobre en varios tejidos, la que se produce por la combinación de dos mutaciones heterogéneas, ya que el cobre no puede transferirse a la bilis y es acumulado en los hepatocitos (Miranda M & Venegas P. 2002). Esta es una enfermedad autosómica recesiva causada por mutaciones en el gen ATP 7B ubicado en el brazo largo del cromosoma 13, (Miranda M &

Venegas P. 2002), lo que provoca cambios en la ATPasa 7B, que transporta el cobre a través de la membrana del hepatocito hasta los polos biliares.

La enfermedad progresa hasta que se administra un tratamiento eficaz a tiempo, lo que conduce a cirrosis y daño nervioso alterado. Entre los principales signos de la enfermedad se encuentran niveles elevados de transaminasas, sangrado gastrointestinal y el anillo de Kaiser-Fleischer alrededor del iris, que se asemeja a la acumulación de cobre en el tejido corneal (Agudo R. et al. 2008). Para el tratamiento se recomienda el uso de D-penicilamina, penicilamina, la trientina y también las sales de zinc, los cuales actúan como secuestradores de cobre que impide su absorción en el intestino, en algunos casos, también se recomienda un trasplante de hígado (Foruny, J. & Boixeda, D. 2010).

Contrario a la patología anteriormente mencionada, se encuentra la enfermedad de Menkes, la cual es causada por una alteración en el metabolismo del cobre, lo que provoca una deficiencia en el transporte de dichos micronutrientes a los tejidos (Leiva J. & Palestini M. 2012). Este trastorno es causado por niveles insuficientes o alterados de la proteína responsable del transporte de cobre intracelular, ATP 7A. Por esta razón, los niveles de cobre en el cerebro y el hígado son demasiado bajos, mientras que en los riñones y el intestino delgado estos aumentan significativamente (Leon-Garcia G. et al. 2012). La enfermedad

está ligada al cromosoma X, por lo que las mujeres son portadoras asintomáticas y los hombres reproductores de síntomas (García-González E. et al. 2017). En los recién nacidos, los signos de enfermedad comienzan con hipotonía, convulsiones y/o temperatura corporal baja. Con el tiempo, se desarrolla microcefalia y el cabello se vuelve pobremente pigmentado y quebradizo (Jiménez-Díaz, M. & Schosinsky-Neumann, K. 2002). A nivel neuronal, la materia gris en el cerebro y el cerebelo se daña de manera progresiva y las alteraciones arteriales pueden causar sangrado gastrointestinal o cerebral (Leiva J. & Palestini M. 2012).

Para diagnosticar la enfermedad de Menkes, a menudo es necesario para determinar el nivel de cobre en sangre, así como la concentración de ceruloplasmina, ya que ambos son excesivamente bajos en este contexto y, por lo tanto, están indicados cuando se realiza el diagnóstico. (Jiménez-Díaz, M. & Schosinsky-Neumann, K. 2002).

1.4 Métodos analíticos para la determinación de cobre en suero

Para el diagnóstico clínico de estos trastornos metabólicos, así como la caracterización bioquímica de metaloproteínas y enzimas es indispensable un método sensible y específico. Sin embargo, el análisis de cobre en suero y otros

fluidos biológicos presenta ciertos obstáculos debido a que este metal se encuentra en cantidades trazas por lo que necesita técnicas que presenten una linealidad a bajas concentraciones (Jiménez-Díaz, M. & Schosinsky-Neermann, K. 2002). Existen diversas técnicas que los laboratorios utilizan para la determinación de niveles de cobre y otros oligoelementos trazas en muestras sanguíneas de pacientes las cuales se describen a continuación

Espectrometría de absorción molecular

Fue uno los primeros métodos de análisis, desarrollado entre los años 1950 y 1960, para medir las concentraciones de cobre en la sangre, aunque desde entonces se han adaptado para su medición también en la orina y los tejidos. Este método se basa en la absorción de un complejo de cobre (I y II) con un agente quelante. Entre estos, los más utilizados son dietilditiocarbamato, 4,7-difenil-1, 10-fenantrolina, 2,9-dimetil-4,7-difenil-1, 10-fenantrolina (batocuproína), bisciclohexanona oxalil dihidrazona (cuprizona) y oxaledihidrazona. Los dos últimos tienen la mayor sensibilidad analítica (mayor absorbancia molar) pero se debe tener especial cuidado con las condiciones analíticas debido a su mayor susceptibilidad a la contaminación. El método de la batocuproína es el más específico, manteniendo una sensibilidad analítica aceptable. (Pérez, E. 2013)

Espectrometría de absorción atómica de llama

Se basa en el hecho de que la energía de la llama de aire/acetileno hace que los átomos de cobre en la solución estén en estado fundamental y, por lo tanto, pueden absorber la radiación de 324,7 nm de la lámpara de cátodo de cobre hueco. La absorbancia es directamente proporcional a la concentración de cobre en la solución (ley de Lambert-Beer-Buger). Con esta técnica se puede medir la concentración o contenido de cobre en suero, orina y tejidos (Soltero D. et al, 2009).

Colorimetría

El principio del método (como se muestra en la figura 1) se basa en un sistema tampón pH 4,7 donde el cobre se libera de su proteína transportadora, la ceruloplasmina, y forma con el complejante específico 3,5-DiBr-PAESA [4-(3,5-Bromo-2-piridilazo)-N-etil-N-(3-sulfopropil) anilina] un complejo coloreado estable donde la intensidad de este complejo a una longitud de onda de 580 nm es proporcional a la concentración de cobre de la muestra (Abe A. et al, 1989).

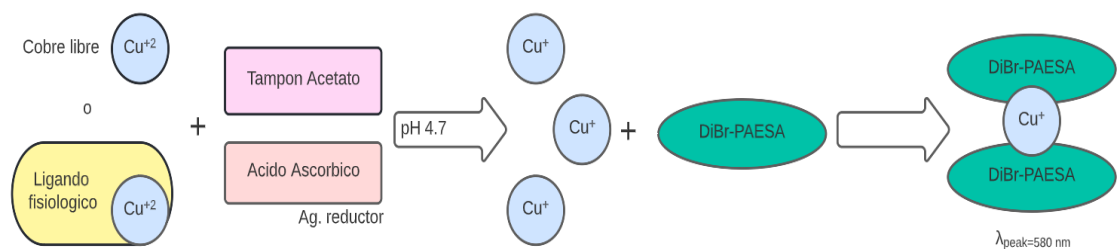


Figura 1.1. Reacción del ensayo según el método 3,5-DiBr-PAESA. En un sistema tampón pH4.7, el cobre se libera de su proteína portadora, la ceruloplasmina, y forma con el complejante específico 3,5-DiBr-PAESA [4-(3,5-dibromo-2-piridilazo)-N-etil-N-(3-sulfopropil) anilina] un complejo coloreado estable. La intensidad del color de este complejo es proporcional a la cantidad de cobre en la muestra. Elaboración propia basada en el principio de la reacción colorimétrica.

Voltametría de disolución anódica

Este método se basa en la deposición por reducción de iones de cobre en forma de cobre metálico sobre un ánodo (electrodo de mercurio). Luego, el potencial se vuelve más positivo y este cobre se vuelve a disolver (re-oxidar) nuevamente en la solución, produciendo una corriente proporcional a la concentración de cobre en la muestra (Romero B. et al, 2019)

2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

El laboratorio clínico ejerce un importante rol en el diagnóstico y seguimiento de síndromes y enfermedades relacionadas con el aumento y descenso de los niveles de cobre en el organismo; entre las que destacan la enfermedad de Wilson, la enfermedad de Menkes, el síndrome del cuerno occipital y la cirrosis biliar primaria. De esta forma, el laboratorio tiene la responsabilidad de establecer procedimientos de medida de cobre sérico y urinario adecuados. Para evaluar el estado funcional de cobre del organismo se han propuesto diversos métodos indirectos (como la medida de la actividad catalítica y/o masa de enzimas como la ferroxidasa, actividad de la superóxido-dismutasa o la citocromo-c oxidasa) y directos (concentración de cobre en suero). En el caso del laboratorio clínico Diagnomed, actualmente no existe un ensayo para la determinación de cobre sérico, por lo que se hace necesario su implementación sujeta al protocolo CLSI EP15-A3 y así aportar al diagnóstico temprano y certero de enfermedades relacionadas con desequilibrios en la homeostasis del cobre.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el grado de cumplimiento del ensayo *Copper* de Sentinel Diagnostics para la determinación de cobre en el análisis de desempeño establecido por un control de calidad externo y con la especificación del protocolo CLSI EP15-A3 de veracidad y precisión, utilizando el sistema automatizado Atellica CH930 usado en el laboratorio clínico DIAGNOMED?

4. HIPÓTESIS

El ensayo *Copper* de Sentinel Diagnostics para determinación de cobre sérico implementado en laboratorio clínico Diagnomed cumple satisfactoriamente con un análisis de desempeño y además con las especificaciones del protocolo CLSI EP15-A3.

5. OBJETIVO GENERAL

Implementar la determinación de cobre mediante el ensayo *Copper* de Sentinel Diagnostics por método colorimétrico en el sistema automatizado Atellica CH 930 en el laboratorio clínico DIAGNOMED

6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Establecer el procedimiento de configuración para ensayos de canal abierto para la determinación del cobre en el sistema automatizado Atellica CH930.
2. Realizar la verificación de precisión y veracidad mediante el protocolo CLSI EP15-A3 de la determinación de cobre en el sistema automatizado Atellica CH930.
3. Comparar y establecer distintos criterios de calidad aplicables a la validación de la determinación de cobre realizada en el sistema automatizado Atellica CH930.
4. Ejecutar un análisis de desempeño satisfactorio para la determinación de cobre.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

El Estudio se realizó en la sección de química clínica del laboratorio clínico DIAGNOMED S.A, se aplicará la verificación del ensayo Copper de Sentinel Diagnostics para la determinación de cobre mediante un método colorimétrico, mediante las pautas del CLSI EP15-A3 de precisión y estimación de veracidad (CLSI, 2014).

7.1 Materiales

Analizador

El análisis se realizó en un autoanalizador Siemens Atellica Solutions, (Analizador de inmunoensayo y química clínica), utilizando el canal abierto (configuración de ensayos que no son fabricados por Siemens Healthcare Diagnostics Inc.) del módulo de química clínica CH 930. El analizador requiere una configuración previa para incorporar el ensayo de la determinación de cobre mediante el kit *Copper* de Sentinel Diagnostis. Esto debido a que a la alianza entre Siemens Healthcare Diagnostics y Sentinel Diagnostics permite que el

ensayo para determinación de cobre se considere de canal abierto, los cuales son ensayos en que el analizador es compatible con reactivos fabricados por terceros y distribuidos por el fabricante del analizador.

Reactivos

El reactivo utilizado para la determinación fue el Kit *Cooper* de Sentinel Diagnostics “Determinación colorimétrica directa sin desproteinización de la concentración de cobre (Cu) en suero y plasma”, Lote 10625, el cual incluye:

- Reactivo 1a (5 x 20 mL): Tampón acetato de concentración 1.0 mol/L a un pH 4.7.
- Reactivo 1b (1 x 10 tabletas): Acido ascórbico (agente reductor)
- Reactivo 2 (1 x 21 mL): Complejante 3,5-DiBr-PAESA de concentración 0,1 mol/L
- Calibrador (1 x 10 mL): Estándar de cobre 100µg/dL (15,73 mol/L)

Control de calidad utilizado como estándar verificable de 3ra opinión

Para la verificación se utilizaron materiales de control comercial de BioRad®, *InteliQ Assayed Multiquel Control* Lote 45900T en tres niveles de control, Nivel 1 (Lote 45901T) en un rango de 39,1-58,6 mg/dL, Nivel 2 (Lote 45902T) en un rango de 56,4-84,5 mg/dL, Nivel 3 (Lote 45903T) en un rango de 73,9-111,0

mg/dL. Cada nivel de control se fracciona en 5 alícuotas (una para cada día de proceso), a las cuales se le determinó la concentración presente en cada control, realizando el análisis por quintuplicado, obteniendo así 25 determinaciones en los 5 días por cada nivel de control.

Análisis de desempeño

Para el análisis de desempeño se utilizará el kit *"EQAS Clinical Chemistry (Monthly) Program External Quality Assurance Services"* de BioRad®, Lote 212000, el cual es preparado a partir de suero humano con químicos agregados, material bioquímico purificados (grupos humanos y animales) y estabilizadores. Usando una pipeta volumétrica se debe llenar cada vial con 5,0 ml de agua destilada, luego cerrar y dejar reposar la muestra a temperatura ambiente (18-25°C) durante aproximadamente 20 minutos, revolviendo ocasionalmente. Se recomienda por parte del proveedor no invertir la muestra si lo que se quiere analizar son metales traza, además es fundamental que el agua de reconstitución no esté contaminada con estos elementos.

7.2 Métodos

Procedimiento de configuración para ensayos de canal abierto para la determinación del cobre en el sistema automatizado Atellica CH930

Los ensayos de Canal abierto amplían las capacidades de los ensayos de Siemens Healthineers y permiten configurar reactivos de terceros. Debido a la alianza entre Sentinel Diagnostics y Siemens Healthcare Diagnostics, los reactivos del Kit *Copper* pueden ser utilizados para la determinación de cobre en el sistema automatizado Atellica CH930.

Para que el kit sea compatible se debe acudir a la “guía de operación de ensayos de canal abierto del equipo” donde se explica la manera de proceder. Primeramente, se debe ingresar a la configuración del equipo, definición de prueba de canal abierto, debido a la alianza el ensayo de determinación de cobre (Cop, abreviación de la prueba en el equipo), en la configuración de la prueba se deberá registrar y completar los parámetros solicitados por el sistema tales como, unidades de medida, cifras significativas, tipo de muestra, dilución correspondiente, intervalos de referencia (límites alto y bajo).

Posterior a la definición del ensayo se deberá configurar los reactivos para que estos puedan ser compatibles con el sistema, indicando los volúmenes de reactivos en cada pocillo, la cantidad de determinaciones por reactivo y la estabilidad de los reactivos en el equipo.

Verificación de la determinación de cobre en el sistema automatizado Atellica CH930

Con cada nivel de control se preparan 5 muestras de igual volumen a las cuales serán procesadas por quintuplicado durante una vez al día por 5 días, se debe procurar que las condiciones en las cuales se procesen las muestras durante los días deben ser similares con el fin de no aplicar factores externos que pueden implicar diferencias de resultados. Los resultados obtenidos por cada nivel ingresados en una planilla en formato Excel® (Anexo 13.4) con el fin de realzar el análisis estadístico correspondiente.

Comparar y establecer distintos criterios de calidad aplicables a la validación de la determinación de cobre realizada en el sistema automatizado Atellica CH930

Mediante una búsqueda bibliográfica se definirán aquellos requisitos de calidad que incluyan la determinación de cobre, estos serán comparados y de los cuales se aprobará aquel en el cual el cobre sea aceptable de acuerdo con el error total proveniente de los datos de la verificación del ensayo.

Análisis de Desempeño

Se evaluará el desempeño analítico de la determinación de cobre en base a los gráficos: Error total crítico, métrica Sigma, gráfico de decisión de método

normalizado en base a los CV% obtenidos desde los resultados del programa de calidad externo (EQAS).

8. RESULTADOS

8.1 Procedimiento de configuración para ensayos de canal abierto para la determinación del cobre en el sistema automatizado Atellica CH930

Los ensayos de Canal abierto amplían las capacidades de los ensayos de Siemens Healthineers y permiten configurar reactivos de tercero, Así la alianza con Sentinel Diagnostics permite el uso del Kit *Copper* como reactivo para el ensayo de cobre sérico en el sistema automatizado Atellica CH930.

Configuración de los parámetros del ensayo.

Los parámetros del ensayo han sido predeterminados en el software del instrumento, el laboratorio tiene la responsabilidad confirmar que estos parámetros son óptimos para el uso del laboratorio, en caso de no estar correctos se debe comunicar con el proveedor del analizador. De esta forma se debe revisar la definición del ensayo indicando como se ve en la figura 8.1 :

- Nombre prueba / ID: Cop
- Tipo de Prueba: Estándar
- Nombre de visualización e impresión: Cop
- Código LIS: Cop

Se revisó si los intervalos de medición coinciden con los declarados por el fabricante, el cual indica en el inserto del reactivo que el rango analítico es de 3,00 µg/dL a 500,0 µg/dL y la revisión de la configuración en caso de obtener un resultado por encima del intervalo de medición, considerando el factor de dilución y cantidad de muestra necesaria, siendo el volumen de muestra 25,0 µg/dL y un factor de dilución de 10,0.

Figura 8.1. Definición del ensayo de cobre, tipo de muestra, intervalos de medición y criterios de dilución en el sistema automatizado Atellica CH930.

Se establecieron las unidades de medición para la concentración del analito siendo µg/dL e informando el resultado con 2 dígitos tras el decimal. Considerando que la determinación no incluye el tratamiento de desproteinización de la muestra se consideran como interferentes valores de

bilirrubina sobre los 40 mg/dL, hemoglobina sobre los 300 mg/dL y lípidos sobre los 1500 mg/dL asignando umbrales de rechazo de muestra siendo para muestras hemolizadas umbral 3, para muestras ictericas umbral 5 y para muestras lipémicas umbral 5 (figura 8.2)

Figura 8.2. Definición de unidades de medidas y alertas rechazo de acuerdo con el estado de la muestra lo que puede causar interferentes en la medición.

La configuración de la calibración (figura 8.3.) establece para la calibración del cartucho una duración de 30 días, mientras que para la calibración del lote se establece una duración de 41 días.

Figura 8.3. Definición de parámetros de calibración indicando los días estabilidad de la calibración para el lote y el cartucho de reactivo.

Finalmente, como se observa en la figura 8.4. se debe establecer los valores de referencia del ensayo, siendo considerado como valores normales aquellos resultados entre 70 $\mu\text{g/dL}$ y 155 $\mu\text{g/dL}$, valores bajos aquellos resultados menores a 70 $\mu\text{g/dL}$ y valores altos aquellos resultados mayores a 155 $\mu\text{g/dL}$.

Figura 8.4. Definición de los valores de referencia indicando limite alto y bajo

Cualquier modificación de estos parámetros puede afectar el rendimiento de este y otros ensayos en uso en el sistema y los valores de ensayo resultantes. Es responsabilidad del usuario validar cualquier modificación y su impacto en todos los resultados del ensayo.

Estabilidad, almacenamiento y preparación del reactivo

Los componentes del kit *Copper* deben ser almacenados a una temperatura de 2 a 8 °C, siendo estables hasta la fecha de caducidad del lote. El kit incluye:

- Reactivo 1a (5 x 20 mL): Tampón acetato de concentración 1.0 mol/L a un pH 4.7.

- Reactivo 1b (1 x 10 tabletas): Acido ascórbico (agente reductor)
- Reactivo 2 (1 x 21 mL): Complejante 3,5-DiBr-PAESA de concentración 0,1 mol/L
- Calibrador (1 x 10 mL): estándar de cobre 100µg/dL (15,73 mol/L)
- Plástico Tweezer (pinza)

La preparación de los reactivos consiste en:

- Reactivo Cop R1: tomar 2 comprimidos del reactivo 1b utilizando únicamente el plástico Tweezer (para evitar contaminantes) en un vial de reactivo 1a y mezclar hasta que los comprimidos estén completamente disueltos.
- Reactivo Cop R2 y Estándar: no requieren tratamiento previo

Debido a que los pocillos de reactivos del kit *Copper* no son compatibles con el analizador, se debe utilizar los packs de reactivos vacíos EMPTY 1 y EMPTY 2, según lo declarado en el inserto “Sentinel Diagnostics, Folleto de la aplicación del ensayo *Copper* para el Atellica® CH Analyzer”.

De esta forma el volumen total (20 mL) del Reactivo Cop R1 (con los comprimidos ya disueltos) se transfieren al pocillo 1 (W1) del pack de reactivo

vacío EMPTY1. Por otra parte, se deben tomar 7 mL del reactivo Cop R2 y transferirlos al pocillo 1 (W1) del pack de reactivo vacío EMPTY2.

Posterior a la preparación de los reactivos y siendo estos ya compatibles, se procedió a cargar los reactivos en el analizador Atellica CH930, los cuales mediante el reconocimiento del código QR del recipiente del reactivo se debe seleccionar en el equipo a que ensayo pertenece el reactivo, el lote de reactivo y si este corresponde al reactivo Cop R1 o Cop R2 para ser estos reconocidos por el analizador.

Calibración

Teniendo la configuración de la definición del ensayo y cargados los reactivos en el analizador, se realiza la calibración del ensayo mediante el estándar incluido en el kit *Copper* resultando la calibración aceptada por el analizador.

8.2 Especificaciones de calidad en base a Variabilidad Biológica para la determinación de Cobre

Con el fin de establecer el nivel de calidad del laboratorio clínico, este debe alcanzar diversos criterios establecidos por las especificaciones de calidad. En 1974 se estableció en la Conferencia de Consenso Internacional de Estocolmo un modelo jerárquico sobre las especificaciones de calidad, este modelo propone recomendaciones con el fin de mejorar las prestaciones analíticas basado en 5 niveles (Kenny D, et al. 1999):

1. Evaluación del efecto de las prestaciones analíticas en los resultados clínicos.
2. Evaluación del efecto de las prestaciones analíticas en:
 - a. Datos basados en componentes de la variabilidad biológica.
 - b. Datos basados en el análisis de las opiniones de los clínicos.
3. Recomendaciones publicadas por profesionales de organismos expertos (locales, nacionales o internacionales).
4. Objetivos aportados por organismos reguladores y organismos evaluadores de la calidad externa.
5. Objetivos basados en recurrir al estado del arte:
 - a. Los demostrados con datos de controles de la calidad externa.
 - b. Los encontrados en publicaciones actuales sobre metodología.

Debido a que la determinación de cobre sérico es un análisis traza y de poca frecuencia de implementación en laboratorios clínicos, existen solo 3 organismos que actualmente entregan especificaciones de calidad para esta determinación.

- Gost (Rusia): El estándar estatal de la Federación Rusa el cual establece límites de errores permisibles de los resultados de las mediciones de analitos en laboratorios de diagnóstico clínico (Gost, 2018). Para la determinación de cobre en matriz de suero, Gost establece un error total permitido (%TEa) de 8,40%.
- RCPA: El Colegio Real de Patólogos de Australasia ha desarrollado un conjunto integral de especificaciones para el error permitido en bioquímica. Estas especificaciones establecen para la determinación de cobre en matriz de suero (RCPA, 2021):
 - Límite inferior, el cual genera un intervalo en relación con el error total permitido de $\pm 1,6 \mu\text{mol/L}$ en concentraciones menores a $20,0 \mu\text{mol/L}$
 - Límite superior, el cual genera un intervalo con relación al error total permitido de 8% en concentraciones mayores a $20,0 \mu\text{mol/L}$
- Variabilidad Biológica (VB): La Federación Europea de Química Clínica y Medicina de Laboratorio (EFLM), establece una base de datos de variación biológica donde se evalúa una serie de muestras un paciente donde se observa una variación entre los resultados de las muestras las cuales se asocian a una variación inherente desde un punto de vista

homeostático (variación biológica intraindividual) y además evalúa una serie de mediciones de un mismo test en varios individuos donde se observan distintos valores medios para el mismo test para cada uno de los individuos en estudio denominado variación biológica interindividual, de esta forma en relación a la variación biológica intraindividual e interindividual se establecen 3 especificaciones de calidad, Especificaciones de la base de datos de variación biológica óptima, Especificaciones de la base de datos de variación biológica deseables y Especificaciones de la base de datos de variación biológica mínima, siendo la VB mínima la de menor exigencia y VB óptima la de mayor exigencia. La tabla 8.1 muestra las especificaciones de calidad para los 3 niveles de variabilidad biológica para la determinación de cobre en suero

Tabla 8.1. Especificaciones de calidad de variación biológica para la determinación de cobre en suero. CV_i%: Coeficiente de variación intraindividual, CV_g%: Coeficiente de variación interindividual, CV (%): Coeficiente de variación como especificación de calidad, B(%): Sesgo como especificación de calidad y TEa: Error total permitido como especificación de calidad

Analito (Matriz)	Variación Biológica		Especificación mínima			Especificación deseable			Especificación Óptima		
	CV _i (%)	CV _g (%)	CV (%)	B (%)	TEa (%)	CV (%)	B (%)	TEa (%)	CV (%)	B (%)	TEa (%)

Cobre (S)	7,5	13,2	5,63	5,70	14,83	3,75	3,80	9,89	1,88	1,90	4,94
-----------	-----	------	------	------	-------	------	------	------	------	------	------

8.3 Estudio de Precisión (repetibilidad e intercorrida) según protocolo CLSI EP15-A3

La Verificación de la precisión por parte del usuario, se da contra las especificaciones operativas publicadas por el fabricante y/o las especificaciones de calidad analítica adoptadas por el laboratorio. El laboratorio debe evaluar la precisión del procedimiento analítico bajo dos condiciones:

- Precisión en condiciones de repetibilidad.
- Precisión en condiciones de precisión intermedia o intralaboratorio

Para la precisión en condiciones de repetibilidad, debemos tener en consideración la utilización del mismo procedimiento de medida, el mismo laboratorio, el mismo equipo, el mismo operador, el mismo reactivo (lote y envase) y la misma calibración, y repeticiones en un intervalo corto de tiempo (dentro de una corrida analítica). Es lo que se suele denominar precisión intracorrida o intraserie, en cuyo caso las variables que pueden generar dispersión en los resultados son muy limitadas.

Para la precisión en condiciones de precisión intermedia o intralaboratorio debemos tener en consideración la utilización del procedimiento de medida, el mismo laboratorio, el mismo equipo, el mismo operador o no y repeticiones en un intervalo prolongado de tiempo. Es muy importante especificar que, durante un largo período de tiempo, hay más variables que pueden generar dispersión de los resultados, como cambios de lote de reactivos, calibraciones, cambios en las condiciones ambientales, mantenimiento y reparaciones. Según lo declarado por la Guía del CLSI EP15-A3:

- Para Repetibilidad se debe procesar cada material de control por quintuplicado (5 réplicas diarias), durante cinco días. A partir de estos resultados vamos a calcular el coeficiente de variación en condiciones de repetibilidad (CV_R).
- Para Precisión Intermedia, se debe procesar cada material de control por quintuplicado durante cinco días. A partir de estos resultados vamos a calcular el coeficiente de variación intralaboratorio (CV_{WL})

Seguimos un enfoque paso a paso para verificar la precisión. La precisión se evaluó utilizando tres niveles (Nivel 1, Nivel 2 y Nivel 3) de material de control de calidad “*InteliQ Assayed Multiquel Control*” de Bio-Rad. Las estimaciones de precisión se obtuvieron mediante mediciones por quintuplicado de alícuotas del mismo nivel de control realizadas durante un total de 5 días consecutivos,

siguiendo el protocolo EP15-A3 del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2014), esto con confirmar que el laboratorio utilizando un procedimiento de medida puede obtener un desempeño semejante al declarado por el fabricante en el inserto del ensayo.

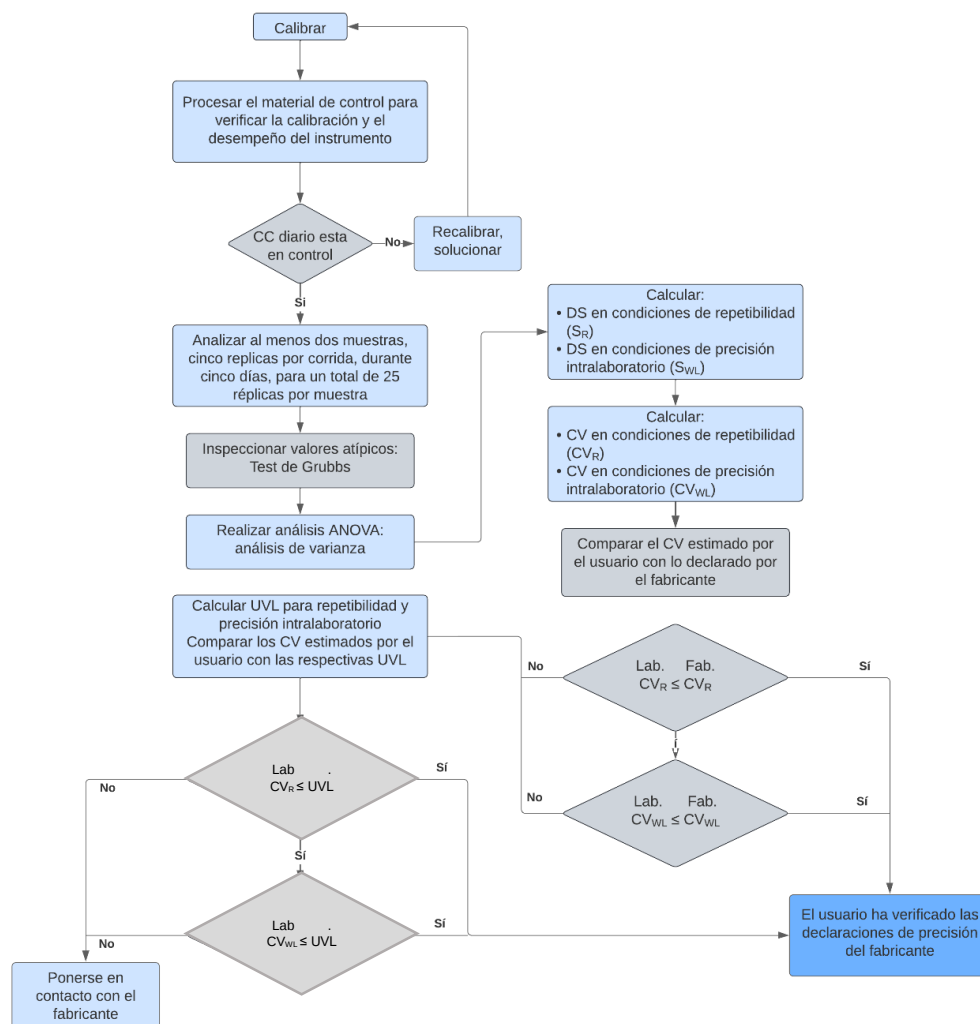


Figura 8.5. Diagrama de flujo del experimento de evaluación de precisión. Donde, CV: Coeficiente de variación, UVL: Límite superior de verificación, Lab:

Laboratorio (Usuario) y Fab: Fabricante. Elaboración propia adaptado basado en las directrices del protocolo EP15-A3 del CLSI

8.3.1. Análisis del nivel de control 1 para el estudio de precisión

Resultados de la medición del Nivel 1

Los resultados de las veinticinco repeticiones realizadas al nivel 1 de control de se trazaron como una tabla (Tabla 8.2). Los valores atípicos estadísticamente significativos fueron los valores atípicos estadísticamente significativos fueron descartados mediante la prueba de Grubbs.

Tabla 8.2: Compilación de datos para el análisis del nivel 1 de control

Dia	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5
Replica	25-07-22	26-07-22	27-07-22	28-07-22	29-07-22
Replica 1	51,64 µg/dL	51,96 µg/dL	52,96 µg/dL	50,20 µg/dL	51,72 µg/dL
Replica 2	49,65 µg/dL	52,87 µg/dL	52,54 µg/dL	52,00 µg/dL	52,75 µg/dL
Replica 3	50,40 µg/dL	49,22 µg/dL	49,30 µg/dL	49,13 µg/dL	52,06 µg/dL
Replica 4	51,39 µg/dL	52,69 µg/dL	51,27 µg/dL	51,02 µg/dL	50,91 µg/dL
Replica 5	49,64 µg/dL	52,98 µg/dL	52,85 µg/dL	53,05 µg/dL	52,93 µg/dL

El protocolo además recomienda un análisis visual con el fin de considerar posibles valores atípicos. Donde para la gráfica obtenida en este análisis no se observan de forma visual datos con comportamiento atípicos.

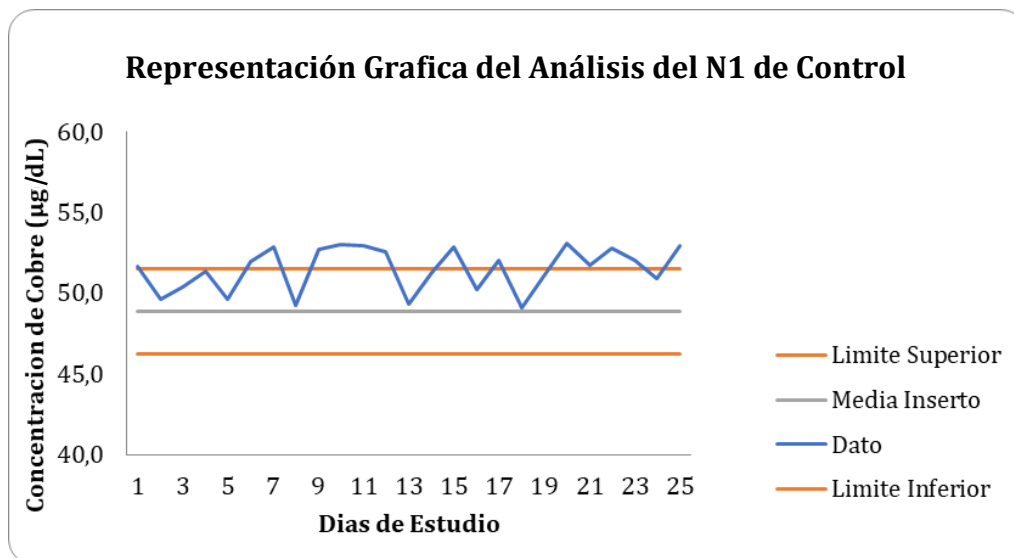


Figura 8.6. Representación Gráfica de los resultados obtenidos en las 25 mediciones diarias del nivel 1 de control. Se grafica concentración de cobre ($\mu\text{g/dL}$) vs. días de estudio.

Análisis estadístico

Mediante el análisis estadístico de los 25 datos se obtuvo una media de 51,49 $\mu\text{g/dL}$, una desviación estándar (SD) de 1,35 y un coeficiente de variación (%CV) de 2,62%.

Prueba de Grubbs para valores atípicos

De acuerdo con la prueba de Grubbs, un resultado se considera como un valor atípico si este es mayor que el $G \cdot SD$ (límite de Grubbs) de la media de la muestra,

donde G es el coeficiente de Grubbs y SD es la desviación estándar de los datos sin procesar, incluidos los valores atípicos sospechosos. El factor G de Grubbs se calculó utilizando los datos la tabla 8.2 por lo que para N=25 G se calculó como 3,135. A esto le siguió el cálculo de los límites de Grubbs.

$$GDS = Media \pm G \times DS$$

Donde la media obtenida fue 51,49 µg/dL y la SD 1,35. De esto se obtiene:

$$GDS = 51,49 \mu\text{g/dL} \pm (3,135 \times 1,35)$$

$$\text{Límite inferior de Grubbs} = 47,27 \mu\text{g/dL}$$

$$\text{Límite superior de Grubbs} = 55,70 \mu\text{g/dL}$$

Dado que todos los resultados se encontraban dentro de estos límites, se descartaron los valores atípicos estadísticos.

Análisis de varianza de una vía (ANOVA)

Paso 1. En nuestro estudio, utilizamos ANOVA unidireccional para averiguar las estimaciones de imprecisión del ensayo “Copper” en forma de variabilidad dentro de la serie y entre series (Ostertagova E.& Ostertag O. 2013). Se preparó un formato ANOVA de una vía utilizando Hoja de Cálculo Excel (Tabla 8.3). A partir del análisis ANOVA, se calcularon DF (grados de

libertad), DF_{total} (grados de libertad totales), MS (cuadrados medios), SS (suma de cuadrados), SS_{total} (suma total de cuadrados).

Tabla 8.3. Estimación de imprecisión mediante análisis de varianza unidireccional (ANOVA) para el nivel 1 de control.

Fuente de variación	SS	DF	MS
Intercorrida	8,48	4	2,12 (MS1)
Intracorrida	34,97	20	1,75 (MS2)
Total	43,45	24	1,81

Donde, DF=Grados de libertad, DF Total =Grados de libertad totales, MS= Cuadrados medios, SS= Suma de cuadrados, SS Total= Suma total de cuadrados

Para el cálculo de la varianza, los dos componentes de la varianza se calcularon mediante la tabla ANOVA (Tabla 8.3).

$$V_W = MS2$$

$$V_B = \frac{MS1 - MS2}{n_0}$$

$$V_{WL} = V_W + V_B$$

donde, V_W = varianza de repetibilidad (dentro de la serie), V_B = varianza entre series, V_{WL} = varianza dentro del laboratorio, n_0 = número medio de resultados por serie, $MS1$ = cuadrado medio de la variación dentro de la serie y $MS2$ = cuadrado medio de la variación entre series.

$$V_W = MS2 = 1,75$$

$$V_B = \frac{2,12 - 1,75}{5} = 0,074$$

La suma de dos varianzas ($V_W + V_B$) produce la varianza dentro del laboratorio (V_{WL}),

$$V_{WL} = 2,12 + 0,074 = 2,20$$

Paso 2. Cálculo de la imprecisión en términos de desviación estándar

La raíz cuadrada de la varianza nos indica la desviación estándar. Se estimaron tres componentes de la desviación estándar, incluidos,

$$S_R = \sqrt{V_W}$$

$$S_B = \sqrt{V_B}$$

$$S_{WL} = \sqrt{V_W + V_B}$$

donde, S_R = desviación estándar de repetibilidad (dentro de la serie), S_B = desviación estándar entre series y S_{WL} = desviación estándar dentro del laboratorio.

$$S_R = \sqrt{1,75} = 1,32$$

$$S_B = \sqrt{0,074} = 0,27$$

$$S_{WL} = \sqrt{V_W + V_B} = 1,35$$

Así, tenemos que la desviación estándar en condiciones de repetibilidad (S_R) es de 1,32; mientras que la desviación estándar en condiciones de precisión intralaboratorio (S_{WL}) es de 1,35.

Paso 3. Conversión de desviación estándar a coeficiente de variación

$$\%CV_R = \frac{(S_R \times 100)}{\text{media}} = \frac{(1,32 \times 100)}{51,49} = 2,57\%$$

$$\%CV_B = \frac{(S_B \times 100)}{\text{media}} = \frac{(0,27 \times 100)}{51,49} = 0,53\%$$

$$\%CV_{WL} = \frac{(S_{WL} \times 100)}{\text{media}} = \frac{(1,35 \times 100)}{51,49} = 2,62\%$$

Así, tenemos que el coeficiente de variación en condiciones de repetibilidad (CV_R) es de 2,57%; mientras que el coeficiente de variación en condiciones de precisión intralaboratorio (CV_{WL}) es de 2,62%.

Paso 4. Comparación de las estimaciones de imprecisión con las afirmaciones del fabricante

Paso 4.1. Las estimaciones de imprecisión obtenidas de nuestro estudio se compararon con las afirmaciones del fabricante. El %CV de repetibilidad (2,57%) fue menor que la afirmación del fabricante, σ_R (3,0%). Dentro del laboratorio, el % CV (2,62%) fue menor que lo declarado por el fabricante, σ_{WL} (4,5%).

Paso 4.2. Comparación de las estimaciones de imprecisión con la afirmación del fabricante, Se tabuló la comparación de las estimaciones de imprecisión con la afirmación del fabricante (Tabla 8.4).

Tabla 8.4. Comparación de estimaciones de imprecisión con la afirmación del fabricante para el nivel 1 de control.

Material de prueba	Media	N	Imprecisión Intracorrida Repetibilidad		Análisis	Imprecisión Intercorrida		Análisis
			CV Intracorrida Obtenido	CV Intracorrida Manufactura		CV Intercorrida Obtenido	CV Intercorrida Manufactura	
C.C nivel 1	51,49	25	2,57	3,0	Cumple	2,6	4,5	Cumple

8.3.2. Análisis del nivel de control 2 para el estudio de precisión

Recopilación de datos

Los resultados de las veinticinco repeticiones realizadas al nivel 2 de control de se trazaron como una tabla (Tabla 8.5). Los valores atípicos estadísticamente significativos fueron Los valores atípicos estadísticamente significativos fueron descartados mediante la prueba de Grubbs.

Tabla 8.5: Compilación de datos para el análisis del nivel 2 de control

Dia	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5
Replica	25-07-22	26-07-22	27-07-22	28-07-22	29-07-22
Replica 1	71,61 µg/dL	70,51 µg/dL	70,79 µg/dL	71,55 µg/dL	69,97 µg/dL
Replica 2	70,29 µg/dL	73,1 µg/dL	69,52 µg/dL	69,6 µg/dL	73,53 µg/dL
Replica 3	70,36 µg/dL	72,13 µg/dL	70,7 µg/dL	69,29 µg/dL	71,1 µg/dL
Replica 4	69,75 µg/dL	70,84 µg/dL	69,67 µg/dL	69,51 µg/dL	71,38 µg/dL
Replica 5	68,22 µg/dL	70,61 µg/dL	68,9 µg/dL	70,18 µg/dL	68,14 µg/dL

El protocolo además recomienda un análisis visual con el fin de considerar posibles valores atípicos. Donde para la gráfica obtenida en este análisis no se observan de forma visual datos con comportamiento atípicos.

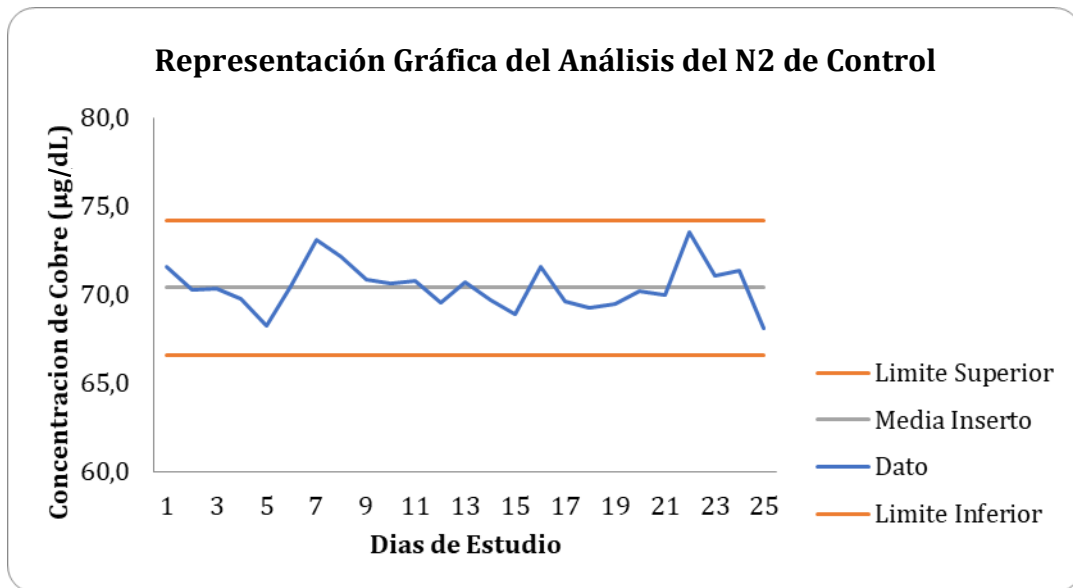


Figura 8.7. Representación gráfica de los resultados obtenidos en las 25 mediciones diarias del nivel 2 de control. Se grafica concentración de cobre (µg/dL) vs. días de estudio.

Análisis estadístico

Mediante el análisis estadístico de los 25 datos se obtuvo una media de 70,45 µg/dL, una desviación estándar (SD) de 1,32 y un coeficiente de variación (%CV) de 1,88%.

Prueba de Grubbs para valores atípicos

De acuerdo con la prueba de Grubbs, un resultado se considera como un valor atípico si este es mayor que el $G \cdot SD$ (límite de Grubbs) de la media de la muestra,

donde G es el coeficiente de Grubbs y SD es la desviación estándar de los datos sin procesar, incluidos los valores atípicos sospechosos. El factor G de Grubbs se calculó utilizando los datos la tabla 8.5. G se calculó como 3,135. A esto le siguió el cálculo de los límites de Grubbs.

$$G DS = Media \pm G \times DS$$

Donde la media obtenida fue 70,45 µg/dL y la SD es de 1,31. De esto se obtiene:

$$G DS = 70,45 \pm (3,135 \times 1,31)$$

$$\text{Límite inferior de Grubbs} = 66,33 \mu\text{g/dL}$$

$$\text{Límite superior de Grubbs} = 74,57 \mu\text{g/dL}$$

Dado que todos los resultados se encontraban dentro de estos límites, se descartaron los valores atípicos estadísticos.

Estimación de imprecisión mediante análisis de varianza de una vía (ANOVA)

Paso 1. En nuestro estudio, utilizamos ANOVA unidireccional para averiguar las estimaciones de imprecisión del ensayo “Copper” en forma de variabilidad dentro de la serie y entre series (Ostertagova E.& Ostertag O. 2013). Se preparó un formato ANOVA de una vía utilizando Hoja de Cálculo Excel (Tabla 8.6). A partir del análisis ANOVA, se calcularon DF (grados de

libertad), DF_{total} (grados de libertad totales), MS (cuadrados medios), SS (suma de cuadrados), SS_{total} (suma total de cuadrados).

Tabla 8.6. Estimación de imprecisión mediante análisis de varianza unidireccional (ANOVA) para el nivel 2 de control.

Fuente de variación	SS	DF	MS
Intercorrida	8,72	4	2,18 (MS1)
Intracorrida	32,75	20	1,64 (MS2)
Total	41,50	24	

Donde, DF=Grados de libertad, DF Total =Grados de libertad totales, MS= Cuadrados medios, SS= Suma de cuadrados, SS Total= Suma total de cuadrados

Para el cálculo de la varianza, los dos componentes de la varianza se calcularon mediante la tabla ANOVA (Tabla 8.6).

$$V_W = MS2$$

$$V_B = \frac{MS1 - MS2}{n_0}$$

$$V_{WL} = V_W + V_B$$

donde, V_W = varianza de repetibilidad (dentro de la serie), V_B = varianza entre series, V_{WL} = varianza dentro del laboratorio, n_0 = número medio de resultados

por serie, MS1 = cuadrado medio de la variación dentro de la serie y MS2 = cuadrado medio de la variación entre series.

$$V_W = MS2 = 1,64$$

$$V_B = \frac{2,18 - 1,64}{5} = 0,10$$

La suma de dos varianzas ($V_W + V_B$) produce la varianza dentro del laboratorio (V_{WL}),

$$V_{WL} = 2,18 + 0,18 = 2,29$$

Paso 2. Cálculo de la imprecisión en términos de SD

La raíz cuadrada de la varianza nos indica la desviación estándar. Se estimaron tres componentes de la desviación estándar, incluidos,

$$S_R = \sqrt{V_W}$$

$$S_B = \sqrt{V_B}$$

$$S_{WL} = \sqrt{V_W + V_B}$$

donde, S_R = desviación estándar de repetibilidad (dentro de la serie), S_B = desviación estándar entre series y S_{WL} = desviación estándar dentro del laboratorio.

$$S_R = \sqrt{1,64} = 1,28$$

$$S_B = \sqrt{0,108} = 0,33$$

$$S_{WL} = \sqrt{V_W + V_B} = \sqrt{1,64 + 0,108} = 1,32$$

Paso 3. Conversión de desviación estándar a coeficiente de variación

$$\%CV_R = \frac{(S_R \times 100)}{media} = \frac{(1,28 \times 100)}{70,45} = 1,82\%$$

$$\%CV_B = \frac{(S_B \times 100)}{media} = \frac{(0,33 \times 100)}{70,45} = 0,53\%$$

$$\%CV_{WL} = \frac{(S_{WL} \times 100)}{media} = \frac{(1,32 \times 100)}{70,45} = 1,88\%$$

Paso 4. Comparación de las estimaciones de imprecisión con las afirmaciones del fabricante

Paso 4.1. Las estimaciones de imprecisión obtenidas de nuestro estudio se compararon con las afirmaciones del fabricante. El %CV de repetibilidad (1,82%) fue menor que la afirmación del fabricante, σ_R

(3,0%). Dentro del laboratorio, el % CV (1,88%) fue menor que lo declarado por el fabricante, σ_{WL} (4,4%).

Paso: 4.2 Comparación de las estimaciones de imprecisión con la afirmación del fabricante: Se tabuló la comparación de las estimaciones de imprecisión con la afirmación del fabricante (Tabla 8.7).

Tabla 8.7. Comparación de estimaciones de imprecisión con la afirmación del fabricante para el nivel 2 de control.

Material de prueba	Media	N	Imprecisión Intracorrida Repetibilidad		Análisis	Imprecisión Intercorrida		Análisis
			CV Intracorrida Obtenido	CV Intracorrida Manufactura		CV Intercorrida Obtenido	CV Intercorrida Manufactura	
C.C nivel 2	70,45	25	1,82	3,0	Cumple	1,88	4,4	Cumple

8.3.3. Análisis del nivel de control 3 para el estudio de precisión

Recopilación de datos

Los resultados de las veinticinco repeticiones realizadas al nivel 3 de control de se trazaron como una tabla (Tabla 8.8). Los valores atípicos estadísticamente significativos fueron Los valores atípicos estadísticamente significativos fueron descartados mediante la prueba de Grubbs.

Tabla 8.8: Compilación de datos para el análisis del nivel 3 de control

Dia	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5
Replica	25-07-22	26-07-22	27-07-22	28-07-22	29-07-22
Replica 1	86,87 µg/dL	89,46 µg/dL	88,49 µg/dL	87,12 µg/dL	85,18 µg/dL
Replica 2	87,55 µg/dL	87,45 µg/dL	86,87 µg/dL	86,05 µg/dL	87,95 µg/dL
Replica 3	87,66 µg/dL	87,42 µg/dL	86,44 µg/dL	88,06 µg/dL	88,41 µg/dL
Replica 4	87,12 µg/dL	88,11 µg/dL	89,31 µg/dL	87,45 µg/dL	89,31 µg/dL
Replica 5	89,51 µg/dL	88,32 µg/dL	87,21 µg/dL	87,96 µg/dL	86,99 µg/dL

El protocolo además recomienda un análisis visual con el fin de considerar posibles valores atípicos. Donde para la gráfica obtenida en este análisis no se observan de forma visual datos con comportamiento atípicos.

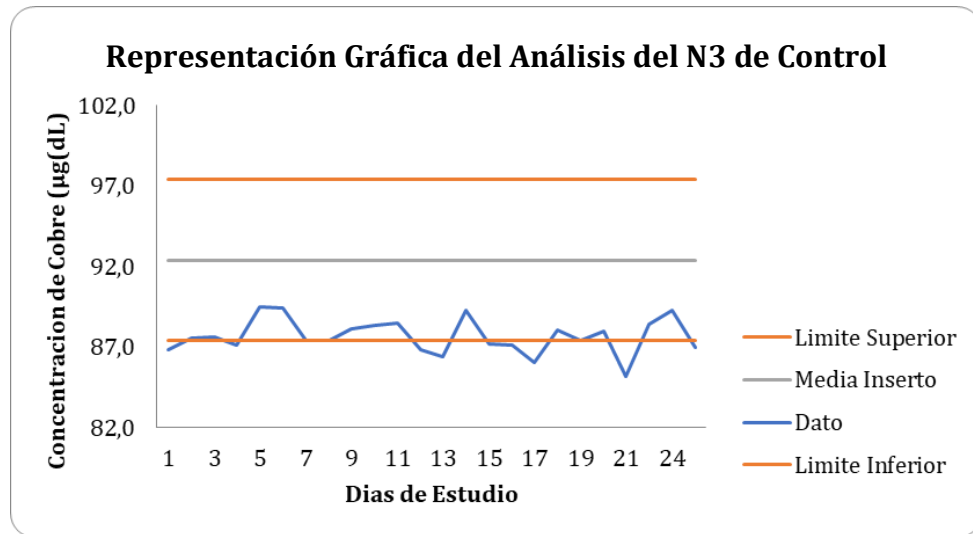


Figura 8.8. Representación grafica de los resultados obtenidos en las 25 mediciones diarias del nivel 3 de control. Se grafica concentración de cobre (µg/dL) vs. días de estudio

Análisis estadístico

Mediante el análisis estadístico de los 25 datos se obtuvo una media de 87,69 µg/dL, una desviación estándar (SD) de 1,06 y un coeficiente de variación (%CV) de 1,20%.

Prueba de Grubbs para valores atípicos

De acuerdo con la prueba de Grubbs, un resultado se considera como un valor atípico si este es mayor que el $G \times SD$ (límite de Grubbs) de la media de la muestra, donde G es el coeficiente de Grubbs y SD es la desviación estándar de los datos sin procesar, incluidos los valores atípicos sospechosos. El factor G de Grubbs se calculó utilizando los datos la tabla 8. G se calculó como 3,135. A esto le siguió el cálculo de los límites de Grubbs.

$$G \times DS = Media \pm G \times DS$$

Donde la media obtenida fue 87,69 µg/dL y la SD 1,05. De esto se obtiene:

$$G \times DS = 87,69 \pm (3,135 \times 1,05)$$

$$\text{Límite inferior de Grubbs} = 84,35 \mu g/dL$$

$$\text{Límite superior de Grubbs} = 91,03 \mu g/dL$$

Dado que todos los resultados se encontraban dentro de estos límites, se descartaron los valores atípicos estadísticos.

Estimación de imprecisión mediante análisis de varianza de una vía (ANOVA)

Paso 1. En nuestro estudio, utilizamos ANOVA unidireccional para averiguar las estimaciones de imprecisión del ensayo “*Copper*” en forma de variabilidad dentro de la serie y entre series (Ostertagova E.& Ostertag O. 2013). Se preparó un formato ANOVA de una vía utilizando Hoja de Cálculo Excel (Tabla 9). A partir del análisis ANOVA, se calcularon DF (grados de libertad), DF_{total} (grados de libertad totales), MS (cuadrados medios), SS (suma de cuadrados), SS_{total} (suma total de cuadrados).

Tabla 9. Estimación de imprecisión mediante análisis de varianza unidireccional (ANOVA) para el nivel 3 de control.

Fuente de variación	SS	DF	MS
Intercorrida	8,48	4	2,12 (MS1)
Intracorrida	34,96	20	1,75 (MS2)
Total	43,45	24	

Donde, DF=Grados de libertad, DF_{Total} =Grados de libertad totales, MS= Cuadrados medios, SS= Suma de cuadrados, SS_{Total} = Suma total de cuadrados

Para el cálculo de la varianza, los dos componentes de la varianza se calcularon mediante la tabla ANOVA (Tabla 9).

$$V_W = MS2$$

$$V_B = \frac{MS1 - MS2}{n_0}$$

$$V_{WL} = V_W + V_B$$

donde, V_W = varianza de repetibilidad (dentro de la serie), V_B = varianza entre series, V_{WL} = varianza dentro del laboratorio, n_0 = número medio de resultados por serie, $MS1$ = cuadrado medio de la variación dentro de la serie y $MS2$ = cuadrado medio de la variación entre series.

$$V_W = MS2 = 1,75$$

$$V_B = \frac{2,12 - 1,75}{5} = 0,074$$

La suma de dos varianzas ($V_W + V_B$) produce la varianza dentro del laboratorio (V_{WL}),

$$V_{WL} = 1,75 + 0,074 = 1,82$$

Paso 2. Cálculo de la imprecisión en términos de SD

La raíz cuadrada de la varianza produjo la desviación estándar. Se estimaron tres componentes de la desviación estándar, incluidos,

$$S_R = \sqrt{V_W}$$

$$S_B = \sqrt{V_B}$$

$$S_{WL} = \sqrt{V_W + V_B}$$

donde, S_R = desviación estándar de repetibilidad (dentro de la serie), S_B = desviación estándar entre series y S_{WL} = desviación estándar dentro del laboratorio.

$$S_R = \sqrt{1,75} = 1,32$$

$$S_B = \sqrt{0,074} = 0,27$$

$$S_{WL} = \sqrt{V_W + V_B} = \sqrt{1,75 + 0,074} = 1,35$$

Paso 3. Conversión de desviación estándar a coeficiente de variación

$$\%CV_R = \frac{(S_R \times 100)}{media} = \frac{(1,32 \times 100)}{87,69} = 1,51\%$$

$$\%CV_B = \frac{(S_B \times 100)}{media} = \frac{(0,27 \times 100)}{87,69} = 0,30\%$$

$$\%CV_{WL} = \frac{(S_{WL} \times 100)}{media} = \frac{(1,35 \times 100)}{87,69} = 1,54\%$$

Paso 4. Comparación de las estimaciones de imprecisión con las afirmaciones del fabricante

Paso 4.1. Las estimaciones de imprecisión obtenidas de nuestro estudio se compararon con las afirmaciones del fabricante. El %CV de repetibilidad (1,51%) fue menor que la afirmación del fabricante, σ_R (3,0%). Dentro del laboratorio, el % CV (1,54%) fue menor que lo declarado por el fabricante, σ_{WL} (4,0%).

Paso: 4.2 Comparación de las estimaciones de imprecisión con la afirmación del fabricante: Se tabuló la comparación de las estimaciones de imprecisión con la afirmación del fabricante (Tabla 8.10).

Tabla 8.10. Comparación de estimaciones de imprecisión con la afirmación del fabricante para el nivel 3 de control.

Material de prueba	Media	N	Imprecisión Intracorrida Repetibilidad		Análisis	Imprecisión Intercorrida		Análisis
			CV Intracorrida Obtenido	CV Intracorrida Manufactura		CV Intercorrida Obtenido	CV Intercorrida Manufactura	
C.C nivel 3	87,69	25	1,51	3,0	Cumple	1,54	4,0	Cumple

8.4 Estudio de Estimación de Sesgo (BIAS) según protocolo CLSI EP15-

A3

La estimación del sesgo, en la evaluación de la veracidad, que se define como el grado de concordancia existente entre la media aritmética de un gran número de resultados y el valor verdadero o aceptado como referencia.

La verificación de la veracidad se basa en demostrar el sesgo (error sistemático) logrado por el laboratorio en el procedimiento evaluado. Por las características de trabajo del laboratorio clínico corresponde la verificación por estudios de comparación (comparación con muestras de pacientes, por grupos pares y/o programas de calidad externa).

Se tiene como objetivo verificar que la media obtenida en el experimento de 5 corridas y 5 replicados diarios se encuentre en el intervalo de confianza de la media que declara el grupo par para el material de control evaluado (Valor Verdadero, TV).

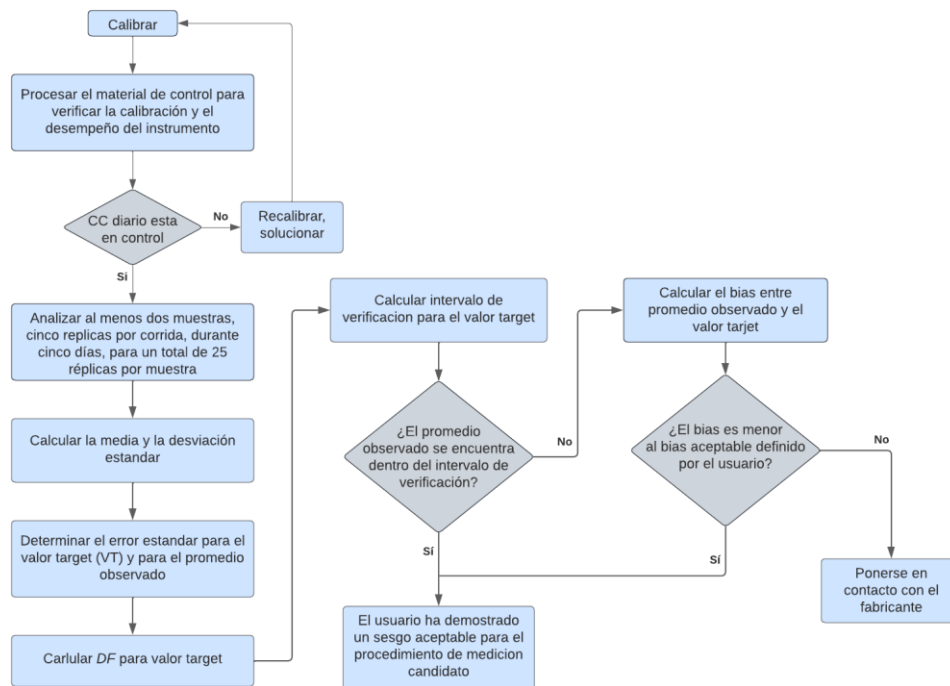


Figura 8.9. Diagrama de flujo del experimento de estudio de estimación de sesgo. Elaboración propia basado en las directrices del protocolo EP15-A3 del CLSI (CLSI, 2014)

En este estudio, el sesgo del ensayo *Copper* se estimó comparando la media de 25 repeticiones que se obtuvieron mediante mediciones por quintuplicado de alícuotas del mismo nivel de control realizadas durante un total de 5 días consecutivos utilizando tres niveles (Nivel 1, Nivel 2 y Nivel 3) de material de control de calidad “InteliQ Assayed Multiqual Control” de Bio-Rad, con la media correspondiente a cada nivel de control, siguiendo el protocolo EP15-A3 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2014).

El sesgo máximo permitido se estimó para este ensayo según lo descrito en las especificaciones mínimas de la base de datos de variabilidad biológica descritas en la tabla 1.

8.4.1. Análisis del nivel de control 1 para el estudio de estimación de sesgo

Análisis estadístico

A partir de los 25 datos obtenidos de la medición de la precisión para el nivel 1 de control (Tabla 8.2) se calculó la media la cual para el nivel 1 es de 51,49 µg/dL y es comparado con la media entregada por el inserto para este nivel de 48,9 µg/dL.

Prueba de Grubbs para valores atípicos

Tal como el apartado 8.3.1 no se estimaron valores atípicos sobre los límites de Grubbs

$$\text{Límite inferior de Grubbs} = 47,27 \text{ µg/dL}$$

$$\text{Límite superior de Grubbs} = 55,70 \text{ µg/dL}$$

Determinación del sesgo Máximo Permitido

El sesgo máximo permitido de acuerdo con las especificaciones de calidad es de 5,7% para un grado de confianza = 95%

Cálculo del Intervalo de verificación (IV)

$$(IV\ 95\%) = Media_{Inserto} \pm \frac{Sesgo_{Max\ Perm\ (95\%)} \times Media_{Inserto}}{100\%}$$

$$(IV\ 95\%) = 48,9\ \mu g/dL \pm \frac{5,7\% \times 48,9\ \mu g/dL}{100\%}$$

$$(IV\ 95\%) = 48,9\ \mu g/dL \pm 2,79\ \mu g/dL$$

$$L\acute{i}mite\ de\ aceptaci\acute{o}n\ Superior = 51,69\ \mu g/dL$$

$$L\acute{i}mite\ de\ aceptaci\acute{o}n\ Inferior = 46,11\ \mu g/dL$$

Nuestra media fue de 51,49 $\mu g/dL$, la cual estuvo dentro del Intervalo de verificación; por lo tanto, el sesgo no fue estadísticamente significativo.

Cálculo del %Sesgo

$$\%Sesgo = \frac{Media_{Inserto} - Media_{Obtenida}}{Media_{Inserto}} \times 100$$

$$\%Sesgo = \frac{48,9\ \mu g/dL - 51,49\ \mu g/dL}{48,9\ \mu g/dL} \times 100$$

$$\%Sesgo = 5,29\%$$

Al ser el sesgo menor al sesgo máximo permitido ($5,29\% < 5,40\%$) y la media al estar dentro del intervalos de verificación, se demuestra que el sesgo es aceptable tanto para el procedimiento de medición, como para las especificaciones de calidad establecidas por variabilidad biológica mínima.

8.4.2. Análisis del nivel de control 2 para el estudio de estimación de sesgo

Análisis estadístico

A partir de los 25 datos obtenidos de la medición de la precisión para el nivel 2 de control (Tabla 8.5) calculamos la media la cual para el nivel 2 es de 70,45 $\mu\text{g/dL}$ y es comparado con la media entregada por el inserto para este nivel de 70,40 $\mu\text{g/dL}$.

Prueba de Grubbs para valores atípicos

Tal como el apartado 8.3.2 no se estimaron valores atípicos sobre los límites de Grubbs

$$\text{Límite inferior de Grubbs} = 47,27 \mu\text{g/dL}$$

$$\text{Límite superior de Grubbs} = 55,70 \mu\text{g/dL}$$

Determinación del sesgo Máximo Permitido

El sesgo máximo permitido de acuerdo con las especificaciones de calidad es de 5,7% para un grado de confianza = 95%

Cálculo del Intervalo de verificación (IV)

$$(IV\ 95\%) = Media_{Inserto} \pm \frac{Sesgo_{Max\ Perm\ (95\%)} \times Media_{Inserto}}{100\%}$$

$$(IV\ 95\%) = 70,45\ \mu g/dL \pm \frac{5,7\% \times 70,45\ \mu g/dL}{100\%}$$

$$(IV\ 95\%) = 70,45\ \mu g/dL \pm 4,01\ \mu g/dL$$

$$L\acute{i}mite\ de\ aceptaci\acute{o}n\ Superior = 74,41\ \mu g/dL$$

$$L\acute{i}mite\ de\ aceptaci\acute{o}n\ Inferior = 66,39\ \mu g/dL$$

Como la media obtenida fue de 70,45 $\mu g/dL$, la cual estuvo dentro del Intervalo de verificación; por lo tanto, el sesgo no fue estadísticamente significativo.

Cálculo del %Sesgo

$$\%Sesgo = \frac{Media_{Inserto} - Media_{Obtenida}}{Media_{Inserto}} \times 100$$

$$\%Sesgo = \frac{70,4\ \mu g/dL - 70,45\ \mu g/dL}{70,4\ \mu g/dL} \times 100$$

$$\%Sesgo = 0,07\%$$

Al ser el sesgo menor al sesgo máximo permitido ($0,07\% < 5,40\%$) y la media al estar dentro del intervalos de verificación, se demuestra que el sesgo es aceptable tanto para el procedimiento de medición, como para las especificaciones de calidad establecidas por variabilidad biológica mínima.

8.4.3. Análisis del nivel de control 13 para el estudio de estimación de sesgo

Análisis estadístico

A partir de los 25 datos obtenidos de la medición de la precisión para el nivel 3 de control (Tabla 8.8) se calculó la media, la cual para el nivel 3 es de 87,69 µg/dL y es comparado con la media entregada por el inserto para este nivel de 92,4 µg/dL.

Prueba de Grubbs para valores atípicos

Tal como el apartado 8.3.3 no se estimaron valores atípicos sobre los límites de Grubbs

$$\text{Límite inferior de Grubbs} = 84,35 \text{ µg/dL}$$

$$\text{Límite superior de Grubbs} = 91,03 \text{ µg/dL}$$

Determinación del sesgo Máximo Permitido

El sesgo máximo permitido de acuerdo con las especificaciones de calidad es de 5,7% para un grado de confianza = 95%

Cálculo del Intervalo de verificación (IV)

$$(IV\ 95\%) = Media_{Inserto} \pm \frac{Sesgo_{Max\ Perm\ (95\%)} \times Media_{Inserto}}{100\%}$$

$$(IV\ 95\%) = 92,4\ \mu g/dL \pm \frac{5,7\% \times 92,4\ \mu g/dL}{100\%}$$

$$(IV\ 95\%) = 92,4\ \mu g/dL \pm 5.27\ \mu g/dL$$

$$L\acute{im}ite\ de\ aceptaci\acute{o}n\ Superior = 97,67\ \mu g/dL$$

$$L\acute{im}ite\ de\ aceptaci\acute{o}n\ Inferior = 87,13\ \mu g/dL$$

La media obtenida fue de 87,69 $\mu g/dL$, la cual estuvo dentro del Intervalo de verificación; por lo tanto, el sesgo no fue estadísticamente significativo.

Cálculo del %Sesgo

$$\%Sesgo = \frac{Media_{Inserto} - Media_{Obtenida}}{Media_{Inserto}} \times 100$$

$$\%Sesgo = \frac{92,4\ \mu g/dL - 87,69\ \mu g/dL}{92,4\ \mu g/dL} \times 100$$

$$\%Sesgo = 5,1\%$$

Al ser el sesgo menor al sesgo máximo permitido ($5,10\% < 5,40\%$) y la media al estar dentro del intervalos de verificación, se demuestra que el sesgo es aceptable tanto para el procedimiento de medición, como para las especificaciones de calidad establecidas por variabilidad biológica mínima.

8.5 Análisis de Desempeño

Graficas de Control de Calidad Interno

Para la realización del análisis de desempeño se realizó un N20 con el fin de tener resultados estadísticamente significativos, se procesaron 3 niveles de control de calidad comercial, el mismo utilizado para los estudios de precisión y sesgo posterior a los cinco días del estudio, de esto se obtuvo una media y el CV intralaboratorio.

Tabla 8.11. Datos obtenidos del análisis de 20 muestras de tres controles de calidad comercial de concentración conocida, procesadas durante 20 días consecutivos

Días	Nivel 1 (µg/dL)	Nivel 2 (µg/dL)	Nivel 3 (µg/dL)
1	51,39	68,22	85,66
2	53,22	70,1	86,11
3	52,96	70,79	85,49
4	53,13	69,51	85,06
5	52,06	71,38	86,31
6	53,84	72,03	85,08
7	51,25	72,12	84,21
8	51,84	70,13	84,15
9	52,19	68,69	87,67
10	52,67	70,52	86,12
11	51,97	71,86	84,84
12	49,04	67,82	85,18
13	52,20	71,64	88,97
14	53,71	67,56	85,42
15	54,88	71,06	84,89
16	50,54	72,88	86,95
17	50,03	68,69	86,32
18	51,71	70,01	85,7
19	49,85	71,69	86,54
20	50,77	71,00	85,45

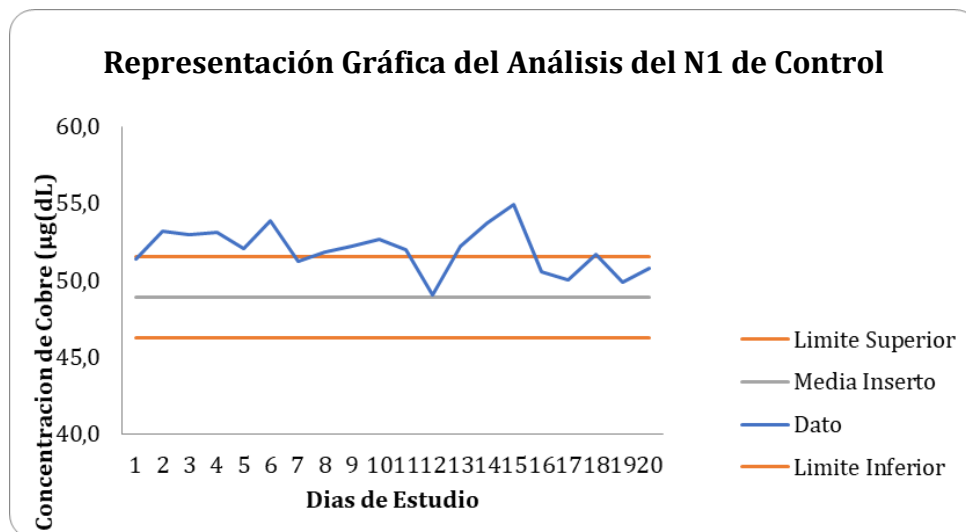


Figura 8.10. Representación gráfica de los resultados obtenidos en las 20 mediciones diarias del nivel 1 de control. Se grafica concentración de cobre (µg/dL) vs. días de estudio

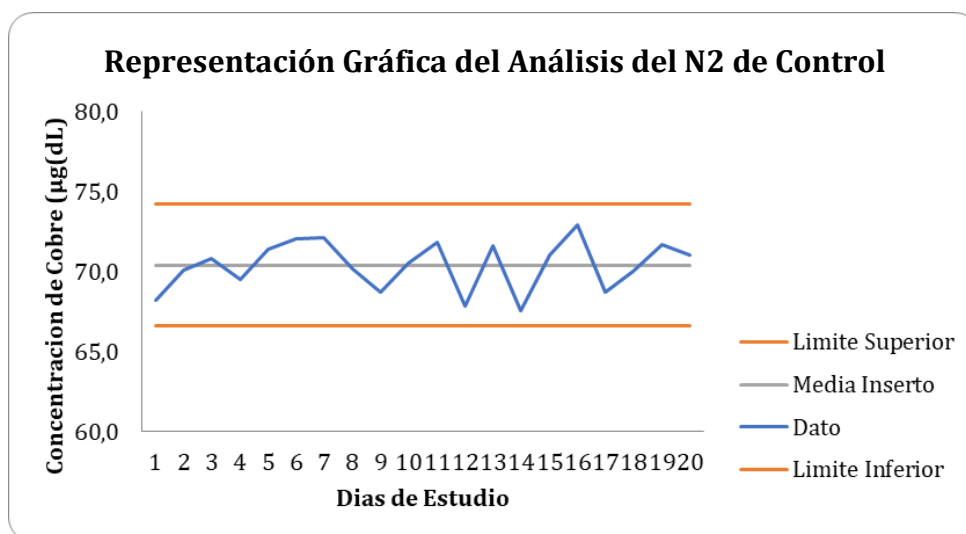


Figura 8.11. Representación gráfica de los resultados obtenidos en las 20 mediciones diarias del nivel 2 de control. Se grafica concentración de cobre (µg/dL) vs. días de estudio

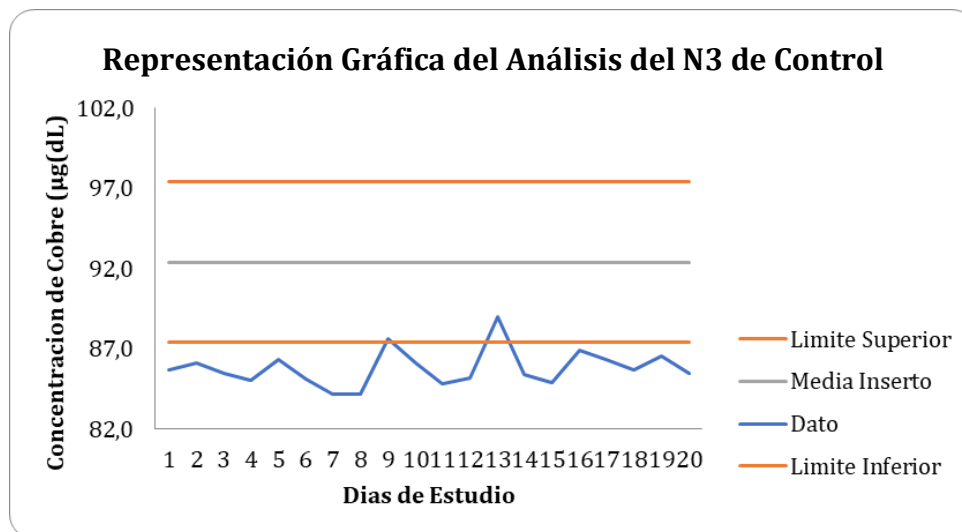


Figura 8.12. Representación gráfica de los resultados obtenidos en las 20 mediciones diarias del nivel 3 de control. Se grafica concentración de cobre (µg/dL) vs. días de estudio

Análisis estadístico:

- Para N1, la media fue de 51,96 µg/dL, la desviación estándar (SD) de 1,46 y el coeficiente de variación (CV%) fue 2,82
- Para N1, la media fue de 70,39 µg/dL, la desviación estándar (SD) de 1,55 y el coeficiente de variación (CV%) fue 2,20
- Para N1, la media fue de 85,81 µg/dL, la desviación estándar (SD) de 1,15 y el coeficiente de variación (CV%) fue 1,34

Reporte de resultados

Se procesó una muestra de QC de tercera opinión, *EQAS Clinical Chemistry (Monthly) Program External Quality Assurance Services* de Bio-Rad, Muestra 01 del Ciclo 21 (Lote 212000). El vial deber ser reconstituido utilizando una pipeta volumétrica o equivalente con 5,0 mL de agua destilada o desionizada, se tapa y deja reposar durante 20 min a temperatura ambiente (18-25 °C) realizando giros circulares suaves para así garantizar su homogeneidad. El inserto presenta recomendaciones que para el análisis de elementos trazas indicando que es fundamental que el de agua de reconstitución no esté contaminada con estos elementos, al igual que cualquier material volumétrico o recipiente utilizado para la reconstitución o almacenaje en caso de preparar muestras alícuotas.

El análisis de la muestra 01 del Ciclo 21 del EQAS Clinical Chemistry (Monthly) Program External Quality Assurance Services determinó que la concentración de cobre de la muestra fue de 61,61 µg/dL. El resultado fue ingresado a la plataforma QC-Net de propiedad del proveedor del control, la cual proporcionó los respectivos informes donde se detallan los comparativos estadísticos como el número de resultados recibidos (N), estimaciones sólidas de la media y la desviación estándar (SD), el coeficiente de variación (CV) y la incertidumbre expandida (I') de la media, el informe además permite analizar cómo fue la desviación del resultado informando el Z-score del análisis, Z-score promedio

obtenido por la media de reportes anteriores y el % de desviación tanto para el grupo par, como para el método y el modo.

El reporte entrega tres niveles de comparación según su grupo par, según el método y según el modo, donde se compara el resultado obtenido por el laboratorio, idealmente el laboratorio se debe comparar con su grupo par, que son otros laboratorios que utilizan la misma combinación entre analito, método, instrumento y reactivos. La comparación según el método se realiza con otros laboratorios que utilicen la misma combinación de analito y método para ese ensayo. Finalmente, la comparación según el modo combina una colección de grupos pares o métodos que producen un resultado similar, donde se puede incluir destinos instrumentos y reactivos para ese ensayo. Sin embargo, para que se realice una comparación a nivel de grupo par, según el método o según el modo, debe haber un mínimo de 9 resultados informados para esa prueba por parte de otros laboratorios. Si hay menos de 9 resultados informados, se procede a comparar con todos los resultados provenientes de todos los laboratorios que utilizan el mismo analito e incluye aquellos que utilizan otros métodos, instrumentos y combinaciones de reactivos para ese ensayo.

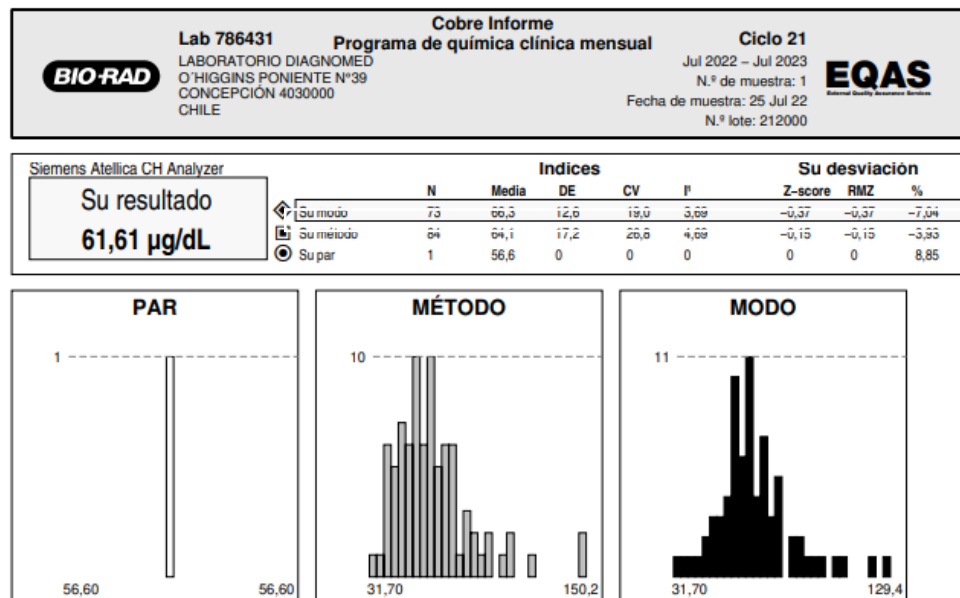


Figura 8.13. Informe de los resultados obtenidos del análisis de la muestra de control 01 del ciclo 21 EQAS.

Según el informe y debido que pocos laboratorios se encuentran como grupo par (1 resultado), se procede a utilizar aquellos índices informados según el método para la evaluación del desempeño analítico.

Análisis de Desempeño

De acuerdo con el estado del arte es recomendable el uso de tres herramientas (Sigma Métrico (SM), Error sistemático crítico (Δ EScrit) y Cartas Normalizadas

OPSpecs,) para evaluar el desempeño del proceso de control de calidad externo.

Los datos necesarios para el análisis fueron:

- %TEa: Error total permitido, el cual es entregado por el requisito de calidad (Variabilidad Biológica Mínima) el cual es 14,83%
- %Sesgo: El cual es entregado por el informe de análisis de la muestra de QC externo EQA, el cual es de 3,93%
- %CV: Coeficiente de variación obtenidos de procesamiento del Nivel 2 de control de calidad interno, el cual es de 2,20%

Sigma Métrico (SM)

$$Sigma\ métrico = \frac{\%TEa - \%Sesgo}{\%CV}$$

$$Sigma\ métrico = \frac{14,83\% - 3,93\%}{2,20\%}$$

$$Sigma\ métrico = 5,5\%$$

Por lo tanto, el desempeño del método es bueno, con observación de mejorar la imprecisión y según esta herramienta la regla recomendada es 1_{2.5s} o 1_{3s}

Tabla 8.12. Relación entre el valor de la sigma métrica, la regla de control (Westgard) y el desempeño del método analítico. Adaptado de guía técnica para control de calidad mediciones cuantitativas en el laboratorio clínico, ISP (2015).

Valor de sigma métrico	Reglas de control asociadas	Desempeño
> 6,0	1 _{3.5S} o 1 _{3S}	Excelente
> 5,0 y < 6,0	1 _{3S} o 1 _{2.5S}	Bueno
> 4,0 y < 5,0	1 _{2.5S} o 1 _{3S} /2 _{2S} /R _{4S}	Marginal, mejorar la imprecisión
< 4,0	1 _{3S} /2 _{2S} /R _{4S} /4 _{1S}	Pobre, mejorar imprecisión e inexactitud

Error Sistemático Crítico (ΔES_{crit})

$$\Delta ES_{crit} = \left(\frac{\%TEa - \%Sesgo}{\%CV} \right) - Z$$

$$\Delta ES_{crit} = \left(\frac{14,83\% - 3,93\%}{2,20\%} \right) - 1,65\%$$

$$\Delta ES_{crit} = 3,85\%$$

Por lo tanto, el desempeño es bueno y es posible mejorar el proceso de control de calidad con un 95% de confianza.

Tabla 8.13. relación entre el valor del error crítico sistemático, la regla de control (Westgard) y el desempeño del método analítico. Adaptado de guía técnica para control de calidad mediciones cuantitativas en el laboratorio clínico, ISP (2015)

Valor de sigma métrico	Reglas de control asociadas	Desempeño
> 4,0	1 _{3.5S} o 1 _{3S}	Excelente
> 3,0 y < 4,0	1 _{3S} o 1 _{2.5S}	Bueno, puede mejorar el proceso de control de calidad.
> 2,0 y < 3,0	1 _{2.5S} o 1 _{3S} /2 _{2S} /R _{4S}	Marginal, debe mejorar el proceso de control de calidad.
< 2,0	1 _{3S} /2 _{2S} /R _{4S} /4 _{1S}	Pobre, mejorar imprecisión e inexactitud

Carta OPSpecs Normalizada

Se calculo el punto de operación normalizado el cual en su imprecisión e inexactitud observadas expresadas como un porcentaje del error total permitido.

Calculamos %CV_{NORM} y %Sesgo_{NORM}

$$\%CV_{NORM} = \frac{\%CV \times 100\%}{\%TEa}$$

$$\%Sesgo_{NORM} = \frac{\%Sesgo \times 100\%}{\%TEa}$$

$$\%CV_{NORM} = \frac{2,2\% \times 100\%}{14,83\%}$$

$$\%Sesgo_{NORM} = \frac{3,93\% \times 100\%}{14,83\%}$$

$$\%CV_{NORM} = 14,84\%$$

$$\%Sesgo_{NORM} = 26,50\%$$

Aplicando los valores normalizados a la carta normalizada OPSpecs se obtiene: como valor X: %CV_{NORM} y como valor Y: %Sesgo_{NORM}. Así reemplazando el punto (14,83;26,50) en la Gráfico OPSpecs de la figura 9. se extrae de la gráfica que el análisis de cobre tiene un desempeño bueno.

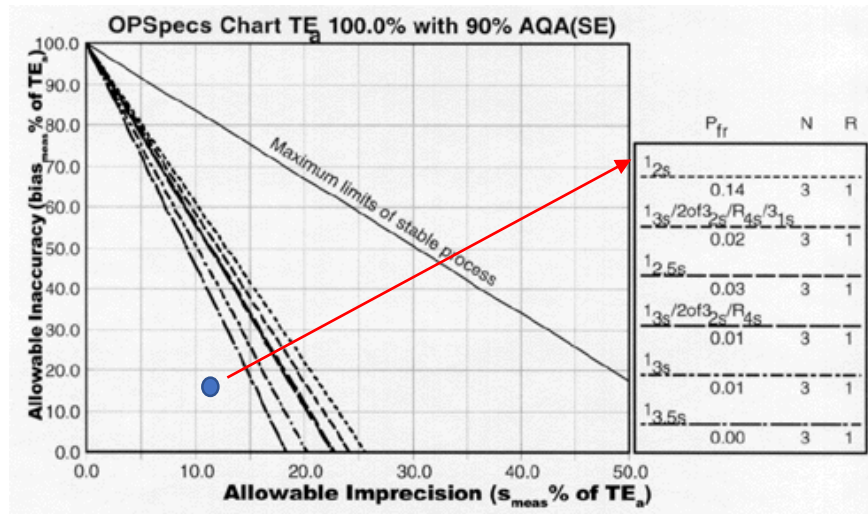


Figura 8.14. Gráfico OPSpecs normalizado para procedimientos de control de calidad para 3N de QC, con 90% AQA. Se grafica Inexactitud permitida (%sesgo como %ETa) vs Imprecisión permitida (%CV como %ETa).

9. DISCUSIÓN

A la hora de emitir resultados de pacientes por parte de un laboratorio clínico, estos siempre siembre estar asociados a un posible error en la medición, siendo el error cometido inversamente proporcional a la calidad del resultado emitido “a menor magnitud de error mayor es el grado de calidad del resultado” siendo obligación y responsabilidad del laboratorio asegurar, monitorear e incluso mejorar la calidad a lo largo de todas las fases del proceso analítico (fase preanalítica, fase analítica y fase postanalítica) pudiendo así cumplir con la emisión de resultados los más puntuales, exactos, fiables posibles para ser estos útiles en el contexto clínico solicitado (Agarwal R. 2013).

La calidad de los errores de laboratorio debe evaluarse continuamente para comprender en qué medida afectan la seguridad de los resultados del paciente, y para que esto suceda, es esencial una comprensión básica de qué, cómo y dónde pueden ocurrir los errores en el laboratorio.

La estimación del sesgo (inexactitud) y el coeficiente de variación (imprecisión) de los resultados son estimaciones de los errores cometidos durante el proceso

analítico de una medición cuantitativa. La directriz CLSI EP15 es una herramienta alternativa de solución de problemas que se puede utilizar para investigar y verificar el rendimiento de precisión y estimación del sesgo del método ya sea al momento de implementar una nueva técnica en el laboratorio o posterior a un mantenimiento importante en el instrumento. Esta guía permite especificar el rendimiento analítico de un laboratorio clínico en términos de precisión aceptable (%CV) e inexactitud aceptable (%Sesgo).

La actual versión de la Guía CLSI EP15-A3 permite en un experimento de análisis de un mínimo de 2 materiales de muestra realizando 5 réplicas diarias por 5 días, de esta forma poder verificar la precisión y estimar la veracidad (exactitud) en términos estadísticos, donde la para verificar la precisión se debe comparar el CV% en condiciones de repetibilidad ($CV_R\%$) y precisión intermedia ($CV_{WL}\%$) obtenidas por el laboratorio tras el análisis de las muestras y compararlos con los valores de CV% de repetibilidad y precisión intermedia declarados por el fabricante, donde si los valores obtenidos por el laboratorio son menores a lo declarado por el fabricante se concluye como aceptada la verificación de la precisión.

Por otro lado, la guía nos permite estimar el sesgo mediante el uso del error total permitido entregado por especificaciones de calidad y el valor real de la

concentración de la muestra tratada, generando entre estos un intervalo de verificación, donde si la media del análisis de la muestra se encuentra dentro de este intervalo, se concluye como aceptada la verificación de la estimación del sesgo.

En el presente estudio se verifico la determinación de cobre mediante el kit *Copper* de Sentinel Diagnostics en el sistema automatizado Atellica CH930, de esta forma se configuro tanto el analizador (Definición de la técnica y revisión de parámetros declarados por el fabricante sobre especificaciones de la técnica) como los reactivos con el fin de que éstos fueran compatibles con el instrumento. Se utilizaron 3 niveles de material de QC de tercera opinión como muestra para el experimento siendo éste útil tanto para el protocolo de verificación de la precisión como para la estimación de sesgo debido a que es un material de concentración conocida.

Los resultados del estudio de verificación arrojaron las estimaciones de imprecisión en forma de $\%CV_R$ y $\%CV_{WL}$ las cuales fueron comparadas por el fabricante σ_R y σ_{WL} obtenido para cada nivel:

Nivel 1: $\%CV_R$ (2,57%) y $\%CV_{WL}$ (2,62%) siendo estos mejores a los declarados por el fabricante σ_R (3,0%) y σ_R (4,5%) por lo cual se acepta la verificación de la precisión para el nivel 1 de control.

Nivel 2: $\%CV_R$ (1,82%) y $\%CV_{WL}$ (1,88%) siendo estos mejores a los declarados por el fabricante σ_R (3,0%) y σ_R (4,4%) por lo cual se acepta la verificación de la precisión para el nivel 2 de control.

Nivel 3: $\%CV_R$ (1,28%) y $\%CV_{WL}$ (1,20%) siendo estos mejores a los declarados por el fabricante σ_R (3,0%) y σ_R (4,0%) por lo cual se acepta la verificación de la precisión para el nivel 3 de control.

Luego, la verificación de la estimación del sesgo se realizó utilizando la media del inserto para cada nivel de control y las especificaciones de calidad de variabilidad biológica mínima, la cual indicó un sesgo permitido de 5,70% calculando así el intervalo de verificación y la verificación es aceptada si el valor promedio del análisis del nivel de control se encuentra dentro de este intervalo de verificación y si el sesgo de la medición es mejor al sesgo permitido, así para cada nivel se obtuvo:

Nivel 1: Media inserto (48,9 $\mu\text{g/dL}$) y el sesgo permitido (5,70%), Intervalo de verificación (46,11 $\mu\text{g/dL}$ - 51,69 $\mu\text{g/dL}$). La media obtenida (51,49 $\mu\text{g/dL}$) se encontró dentro del Intervalo de verificación y el sesgo calculado (5,29%) fue

menor al sesgo permitido por lo cual se acepta la verificación de la estimación del sesgo para el nivel 1 de control.

Nivel 2: Media inserto (70,40 µg/dL) y el sesgo permitido (5,70%), Intervalo de verificación (66,39 µg/dL – 74,41 µg/dL). La media obtenida (70,45 µg/dL) se encontró dentro del Intervalo de verificación y el sesgo calculado (0,07%) fue menor al sesgo permitido por lo cual se acepta la verificación de la estimación del sesgo para el nivel 2 de control.

Nivel 3: Media inserto (92,4 µg/dL) y el sesgo permitido (5,70%), Intervalo de verificación (97,67 µg/dL – 87,13 µg/dL). La media obtenida (87,69 µg/dL) se encontró dentro del Intervalo de verificación y el sesgo calculado (5,10%) fue menor al sesgo permitido por lo cual se acepta la verificación de la estimación del sesgo para el nivel 3 de control.

Con el fin de evaluar el desempeño se realizó una evaluación de esta técnica mediante un control de calidad externo. Tras el procesamiento y posterior resultado de la muestra, éste fue informado al proveedor de control quien emite un informe donde se detalla el comportamiento y media obtenida de la misma medición por distintos laboratorios clínicos a nivel mundial.

El informe nos entrega el sesgo (3.98%) obtenido en relación con la media de laboratorios que utilicen el mismo método, donde mediante el uso del coeficiente de variación obtenido por el procesamiento diario del control de calidad interno (2,20%) y el error total permitido (14,83%) indicado por la especificación de calidad de variabilidad biológica mínima, se puede calcular:

Sigma Métrico (SM) = 5,5%, obteniendo un desempeño bueno con consideración y recomendación en mejorar la imprecisión.

Error Sistemático Crítico (ΔE_{Scrit}) = 3,85%, obteniendo un desempeño bueno con recomendación en mejorar si es posible el proceso de control de calidad.

Carta OPSpecs Normalizada, donde se calculó las coordenadas $\%CV_{\text{NORM}}$ y $\%\text{Sesgo}_{\text{NORM}}$ obteniendo el punto 14,83;26,50, del cual se extrae un desempeño analítico bueno.

Así, el desempeño general del ensayo es bueno, según lo calculado en las tres herramientas, lo que nos entrega mayor seguridad sobre la exactitud del resultado informado por el laboratorio. Esto sumado a la aceptación de la verificación de la precisión y estimación del sesgo para la determinación de cobre, Ésta puede ser implementada en el sistema automatizado Atellica CH930

y generar de este modo resultados clínicamente útiles para el diagnóstico y estudio de patologías asociadas al metabolismo del cobre en el organismo.

10. CONCLUSIÓN

En el presente estudio se verificó la determinación de cobre, mediante el Kit Copper desarrollado por Sentinel Diagnósticos y fue implementado en el Sistema automatizado Atellica CH930 de Siemens Healthcare Diagnostics, donde debido a la alianza estratégica entre estos proveedores el ensayo pudo ser compatible en el instrumento para posteriormente ir a la definición del ensayo, adecuación de los reactivos y calibración de la técnica.

Posterior al procedimiento de verificación mediante el uso de un control de calidad comercial de tercera opinión, se procedió a comparar el coeficiente de variación en condiciones de repetibilidad y precisión intermedia con los coeficientes de variación de la presión en mismas condiciones declaradas por el fabricante, como los coeficientes de variación obtenidos por el laboratorio obteniéndose fueron menores a los del fabricante, razón por la cual la verificación de la precisión fue aceptada.

La estimación del sesgo fue verificada mediante el mismo material de control y resultados obtenidos, de esta forma el promedio obtenido de la medición fue comparado con un intervalo de verificación calculado dado por las especificaciones de calidad indicadas para la variabilidad biológica mínima y la media de la concentración del control, indicada en el inserto, en donde la media obtenida por la medición del control en el laboratorio se encontró dentro de este intervalo de verificación. Además, el %sesgo fue inferior al permitido por la especificación de calidad indicada para este ensayo, por lo que se estimó como aceptada la verificación de la estimación.

De forma general se pudo concluir como aceptada la verificación por parte del usuario de precisión y veracidad realizada según las directrices del CLSI EP15-A3 para la determinación de cobre en el sistema automatizado Atellica CH930 realizada en el Laboratorio Clínico Diagnomed. S.A.

Tras el informe entregado por el procesamiento de un control de calidad externo, éste nos indicó el sesgo de la medición en relación con el método, comparando el resultado informado por el laboratorio con la media obtenida de aquellos laboratorios que utilizan el mismo modo y analito.

Mediante el sesgo obtenido del control de calidad externo, el error total permitido entregado por la especificación de calidad de variabilidad biológica mínima y el coeficiente de variación calculado tras el análisis diario del control de calidad interno en el laboratorio, fue posible determinar el desempeño analítico del ensayo en el instrumento, para lo cual se utilizaron las herramientas metrológicas; Sigma Métrico (SM), Error sistemático crítico (ΔE_{Scrit}) y Cartas Normalizadas. El cálculo de estas herramientas metrológicas concluyó un buen desempeño analítico para la determinación de cobre en el sistema automatizado Atellica CH930 realizada en el Laboratorio Clínico Diagnomed. S.A

Debido a la aceptación de la verificación del ensayo *Copper* de Sentinel Diagnostics en el Sistema Automatizado Atellica CH930 en términos de precisión y estimación del sesgo según las directrices del CLSI EP15-A3 y al buen desempeño analítico, se implementó la técnica para la determinación de cobre en matriz de suero en el laboratorio Clínico Diagnomed S.A.

11. GLOSARIO

ANOVA : Análisis de varianza de una vía

AQA: Analytical quality assurance (control de calidad analítico)

CLSI: Clinical & Laboratory Standards Institute (Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio)

CV: Coeficiente de variación

CV_g: Coeficiente de variación interindividual

CV_i: Coeficiente de variación intraindividual

CV_R: Coeficiente de variación en condiciones de repetibilidad

CV_{WL}: Coeficiente de variación en condiciones de

DF: Grados de libertad

DF_{total}: Grados de libertad totales

EQA: External quality assessment (evaluación externa de la calidad)

MS: Cuadrados medios

PEEC: Programa de evaluación externa de la calidad

QC: Control de calidad

S_B: Desviación estándar entre series

SD: Desviación estándar

SM: Sigma Métrico

S_R: Desviación estándar de repetibilidad

SS: Suma de cuadrados

SS_{total}: Suma total de cuadrados

SWL: Desviación estándar dentro del laboratorio

TEa: Error total permitido

UVL: Límite superior de verificación

VB: Variabilidad Biológica

V_B: Varianza entre series

V_R: Varianza de repetibilidad

V_{WL}: Varianza dentro del laboratorio

Δ EScrit: Error sistemático crítico

σ_R : Coeficiente de variación declarado por el fabricante en condiciones de repetibilidad

σ_{WL} : Coeficiente de variación declarado por el fabricante en precisión intermedia o intralaboratorio

12. REFERENCIAS

- Abe, A, Yamashita, S., Noma, A. (1989), Ensayo colorimétrico sensible y directo para cobre en suero. Clin. Chem., 35(4), 552-554.
- Agarwal R. (2013). Medición de errores en laboratorios clínicos. Indian journal of clinical biochemistry : IJCB, 28(3), 227–234.
- Aguilar Cordero, M^a J., González Jiménez, E., Perona, J. S., Alvarez Ferre, J., Padilla López, C. A., Rivas García, F., Katarzyna, P., & Ocete Hita, E. (2011). Ceruloplasmina y su importancia clínica como factor indicador del riesgo cardiovascular en una población de escolares de Granada. Nutrición Hospitalaria, 26(3), 655-658.
- Alarcón, OM, Guerrero, Y, Ramírez de Fernández, M, D'Jesús, I, Burguera, M, Burguera, JL, & Di Bernardo, ML. (2003). Efecto de la suplementación con cobre sobre los valores de presión arterial en pacientes con hipertensión moderada estable. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 53(3), 271-276.
- Araya, M., Olivares, M., & Pizarro, F. (2009). Cobre: salud, medio ambiente y nuevas tecnologías (1ra ed.). Copper Connects Life.
- Arnaud J, Chappuis P, Zawislak R, Jaudon MC, Bullanger J. (1989) Desarrollo de un ensayo de oligoelementos por absorción atómica electrotérmica. Ann Biol Clin; 47, 583-95.
- Arnaud J. (1995) Determinación de cobre y zinc. Técnicas de análisis de micronutrientes. Lavoisier TEC & DOC. 77-89.
- Belk Wp, Sunderman FW. (1988). Un estudio de la precisión de los análisis químicos en laboratorios clínicos. Arch Pathol Lab Med.112(4):320-326.
- Bureau International des Poids et Mesures (2012). Vocabulario Internacional de Metrología – Conceptos Básicos y Generales y Términos Asociados 3rd edición.

- Calton JB. (2010). Prevalencia de la deficiencia de micronutrientes en los planes de dieta populares. *J Int Soc Sports Nutr.*; 7, 24
- Calvo Ruata ML, Velázquez Balsué C, Llorente Ballesteros MT, Izquierdo Álvarez S, (2013). Valores de referencia del cobre en diferentes matrices, Documentos de la SEQC.13, 47-60.
- Cox DW, Roberts EA (1998). Enfermedad de Wilson. *Sleisenger & Fordtran`s: gastrointestinal and Liver Disease*, 6ª ed. Saunders. p. 1104-12.
- Duffau, B., Rojas, F., Guerrero, I., Roa, L., Rodríguez, L., Soto, M., Aguilera, M., y Sandoval, S. (2010). Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: "Aspectos generales sobre la validación de métodos". Departamento de salud ambiental. Ministerio de salud. Chile
- F.J. Gella Tomás, N. Alonso Nieva, B. Boned Juliani, F. Canalias Reverter, S. Izquierdo Álvarez, R. López Martínez. (2011). Especificaciones para la exactitud de los procedimientos de medida en el laboratorio clínico. Recomendación. Publicaciones de la SEQC. 12-15
- Feoktistova Victorava, Liudmila; Clark Feoktistova, Yulia. (2018). El metabolismo del cobre. Sus consecuencias para la salud humana *MediSur*, Universidad de Ciencias Médicas de Cienfuegos Cuba. 16(4). 579-587
- Fernández MD. (1998). Cobre en elementos traza: Aspectos bioquímicos, analíticos y clínicos. Publicaciones de la SEQC. 223-59
- Foruny Olcina, J. R., & Boixeda de Miquel, D. (2010). Enfermedad de Wilson. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 102(1), 53-54.
- Fox PL, Mazumder B, Ehrenwald E, Mukhopadhyay CK. (2000). Ceruloplasmin and cardiovascular disease. *Free Radic Biol Med*; 28, 1735-44.
- García-Gabarra, Antoni, Castellà-Soley, Marta, & Calleja-Fernández, Alicia. (2017). Ingestas de energía y nutrientes recomendadas en la Unión Europea: 2008-2016. *Nutrición Hospitalaria*, 34(2), 490-498.
- García-González E., Rello L., Lalaguna P., Conde S., García-Jiménez I., Castejón E., et. al. (2017). Utilidad de la determinación de cobre en periodo neonatal. Enfermedad de Menkes. *Rev Lab Clin*; 10, 95-99.
- González, Horacio F, & Visentin, Silvana. (2016). Micronutrientes y neurodesarrollo: actualización. *Archivos argentinos de pediatría*, 114(6), 570-575.

- Gupta, A., & Lutsenko, S. (2009). Transportadores humanos de cobre: mecanismo, papel en las enfermedades humanas y potencial terapéutico. *Future medicinal chemistry*, 1(6), 1125–1142.
- H. Kodama, C. Fujisawa, W. (2012). Trastornos del transporte de cobre: mecanismos bioquímicos, diagnóstico y tratamiento. *Current drug Metabolism.*, 13, 237-250
- Henry RJ, Segalove M. (1952) Ejecución de estándares en química clínica y uso de los gráficos de control. *J Clin Pathol*; 5, 305-11.
- Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio. (2014) Verificación del usuario de la precisión y estimación del sesgo; pauta aprobada-3ra (ed) Wayne, PA, EE. UU. CLSI. CLSI documento EP15-A3.
- ISO 15189 (2012) Laboratorios médicos: requisitos de calidad y competencia. ISO, Geneva.
- Jiménez-Díaz, Manuel, & Schosinsky-Neveermann, Karl. (2002). Validación de la determinación de cobre en suero empleando el ácido bicinconínico: relación cobre/ceruloplasmina en pacientes con enfermedad de Wilson y pacientes sin la enfermedad. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*, 23(1-2), 33-43.
- Khaghani, S., Ezzatpanah, H., Mazhari, N., Givianrad, M. H., Mirmiranpour, H., & Sadrabadi, F. S. (2010). Concentraciones de zinc y cobre en la leche materna y las fórmulas infantiles. *Iranian journal of pediatrics*, 20(1), 53–57.
- Leiva R, Juan, & Palestini Q, Mario. (2012). El cobre en la neurofisiología del hipocampo. *Revista chilena de neuro-psiquiatría*, 50(3), 158-165
- León-García, G., Santana, A., Villegas-Sepúlveda, N. et al. (2012). La mutación T1048I en el gen ATP7A causa una presentación inusual de la enfermedad de Menkes. *BMC Pediatr.* 12, 150
- Levey S, Jennings ER. (1950). El uso de gráficos de control en el laboratorio clínico. *Am J Clin Pathol.* 20, 1059-66.
- Lin H, Li M, Mihailovič D. Simultaneous (2015) Determinación de iones de cobre, plomo y cadmio en un electrodo de carbono vítreo modificado con nanocables Mo6S9-xlx utilizando voltamperometría de extracción anódica de pulso diferencial. *Electrochim Acta.* 154. 184-189
- Llorente Ballesteros MT, et al. (2017) Medición del contenido del cobre en especímenes biológicos. *Rev. Lab Clin.*10(4), 198-207

- Lönnerdal B. (1998). Nutrición de cobre durante la infancia y la niñez. *The American journal of clinical nutrition*, 67(5 Suppl), 1046S–1053S.
- Mauricio & Troncoso, Rodrigo & Uauy, Ricardo. (2019). Aspectos biológicos del cobre. *Clinical and Translational Perspectives on wilson disease*. capítulo 4. 25-31
- Mejía, -Omar Ramón; Ruiz, Miguel; Clavijo Grimaldi, Dianney; García, Grégory Alfonso; Ruiz, Astrid Lorena; García Cardona, Ananías; Casadiego, Ciro Alfonso (2006). Bases biológicas y patológicas humanas del metabolismo del cobre *Universitas Médica*, 47 (1). 55-72
- Miranda, Marcelo, & Venegas, Pablo. (2002). El anillo de Kayser-Fleischer como signo diagnóstico en la Enfermedad de Wilson. *Revista chilena de neuro-psiquiatría*, 40(2), 47.
- National Research Council. (1989). *Ingesta dietética recomendada*. 10ª ed. Washington DC: Academic Press;
- Ohuot O, Tarallo P. *Le cuivre*. (1991). *Oligoelementos en Medicina y Biología*. Paris: Lavoisier TEC & DOC; 459-88.
- Organización Internacional de Normalización. (2012). *Laboratorios médicos: requisitos de calidad y competencia Norma internacional, ISO 15189, 3.ª (ed.)*.
- Pérez, E. (2013). *Manual de Laboratorio de Técnicas Instrumentales de Análisis*. Tacares de Grecia: Universidad de Costa Rica
- Pierson, H., Yang, H., & Lutsenko, S. (2019). Transporte de cobre y enfermedades: ¿Qué podemos aprender de los organoides?. *Annual review of nutrition*, 39, 75–94.
- Rehnuma B, Ibrahim M, Nasir TA. (2015) Aseguramiento de la calidad y control de calidad en laboratorios clínicos. *Pulse*; 8: 62- 65.
- Rodrigo Agudo, J. L., Valdés Mas, M., Vargas Acosta, A. M., Ortiz Sánchez, M. L., Gil del Castillo, M. L., Carballo Álvarez, L. F., & Pons Miñano, J. A. (2008). Presentación clínica, diagnóstico y evolución a largo plazo en 29 pacientes con enfermedad de Wilson. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 100(8), 456-461.
- Rodríguez Ferrer, M. (2011). *Estudio del metabolismo mineral y enzimas antioxidantes durante la evolución de la anemia ferropénica nutricional (Dr.)*. Universidad de Granada.

- Rodríguez-Benavides, Gerarda, & Blanco-Sáenz, Rigoberto. (2001). Aseguramiento de la calidad analítica y norma ISO 17 025 en laboratorios clínicos y químicos. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*, 22(1-2), 83-97..
- Romero-Bonilla, Hugo Ítalo, Vera-Infante, Thalía Gabriela, Redrovan-Pesantez, Felipe Fernando, Jumbo-Sari, Jennifer del Cisne, & Pesantez, Freddis Franco. (2019). Aplicación de voltamperometría de redisolución anódica para la determinación de antimonio. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 85(3), 293-304.
- Royer A, Sharman T. (2021) Toxicidad del cobre. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL). PMID: 32491388.
- Santos, Silvia, Vinderola, Gabriel, Santos, Luama, & Araujo, Edilene. (2018). Biodisponibilidad de minerales que lados y no que lados: una revisión sistemática. *Revista chilena de nutrición*, 45(4), 381-392.
- Sciacovelli L, Secchiero S, Zardo L, Plebani M. (2010) El papel de la evaluación externa de la calidad. *Biochimica Medica*; 20(2):160-4.
- Solís Muñoz, P., & Solís Herruzo, J. A.. (2008). Enfermedad de Wilson: Una enfermedad rara pero presente. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 100(8), 447-455..
- Soltero, D., Palafox, S., Herrera, R., Dávila, A., Cuéllar, J., y González, M. (2009). Determinación de niveles de Cobre en una población estudiantil de la Facultad de Ciencias Químicas por espectrofotometría de absorción atómica en flama. *Synthesis*. 1-5.
- Taylor A. (1996) Detección y seguimiento de trastornos de oligoelementos esenciales. *Ann Clin Biochem*; 33, 486-510
- The Society for Minerals and Trace Elements. (1996). Diagnóstico de defectos del metabolismo del cobre. *J Trace Elements Med Biol*; 10, 263
- Turnlund JR. (1988) Nutrición del cobre, biodisponibilidad e influencia de factores dietéticos. *Asociación de Dieta J Am.*; 88 :303–8
- Valcárcel M, Ríos A. (2009) *La Calidad en los Laboratorios Analíticos*. 1ª ed. Barcelona
- Westgard JO, Groth T, Aronsson T, Falk H, de Vedler CH. (1977). Características de rendimiento de las normas para el control interno de calidad: probabilidades de falso rechazo y detección de errores. *Clin Chem.*; 23, 1857-1867.

- Westgard JO, Quam BS, Barry PL. (1990). Selección de control de calidad para planificar procedimientos de control de calidad. Clin Lab Sci.; 3, 271-278
- Westgard JO. (1992). Gráficos de especificación de procesos operativos ("OPSspecs Charts") para evaluar la precisión, exactitud y control de calidad necesarios para satisfacer los criterios de rendimiento de las pruebas de aptitud. Clin Chem.; 38: 1226-33.
- Westgard JO. (2000). ¿Cómo se definen los requisitos de calidad para una prueba de laboratorio?. Westgard JO. (ed) Basic planning for quality. USA: Westgard QC, Inc. 51-68
- Yu, L., Liou, I. W., Biggins, S. W., Yeh, M., Jalikis, F., Chan, L. N., & Burkhead, J. (2019). Deficiencia de cobre en enfermedades hepáticas: una serie de casos y consideraciones fisiopatológicas. Hepatology communications, 3(8), 1159–1165

13. ANEXOS

13.1 Inserto kit "Determinación colorimétrica directa sin desproteinización de la concentración de cobre (Cu) es suero y plasma" de Sentinel Diagnostics.

17638H - 2.01.05
2015/04/21

ES	REF 17638H	Determinación colorimétrica directa sin desproteinización de la concentración de cobre (Cu) en suero y plasma	IVD
	Copper	REAGENT 1a: 5 x 20 mL REAGENT 1b: 1 x 10 mL (comprimidos) REAGENT 2: 1 x 21 mL STANDARD: 1 x 10 mL	CE
	STANDARD/CALIBRATOR: El término se refiere al estándar/calibrador		
	REAGENT: El término se refiere al único reactivo CONTROL: el término se refiere al control		

RESUMEN

El cobre divalente (Cu^{++}) forma complejos con proteínas. Las principales funciones de las metaloproteínas de cobre implican oxidación-reducción; la mayoría de las enzimas conocidas que contienen cobre se unen y reaccionan directamente con oxígeno molecular. En plasma, aproximadamente el 95% del cobre se une a la α -2-globulina, ceruloplasmina, una oxidasa con actividad ferroxidasa. Hay evidencia de que la deficiencia marginal de cobre se asocia con la cardiopatía, artritis de huesos y articulaciones y osteoporosis. Además la menor protección antioxidante es resultado de una concentración más baja de cobre.

PRINCIPIO

En un sistema tampón pH 4.7, el cobre se libera de su proteína portadora, la ceruloplasmina, y forma con el complejante específico 3,5-DiBr-PAESA [4-(3,5-dibromo-2-piridilazo)-N-etil-N-(3-sulfopropil)anilina] un complejo coloreado estable. La intensidad del color de este complejo es proporcional a la cantidad de cobre en la muestra.

REAGENTS

Los componentes del kit, almacenados a una temperatura de 2 a 8 °C en viales sin abrir, son estables hasta la fecha de caducidad impresa en el envase.

Componentes del kit y concentración de los reactivos:

REAGENT 1a
Tampón acetato $\geq 1 \text{ mol/L}$ pH 4.7

REAGENT 1b (comprimidos)
Agente reductor: ácido ascórbico

Plástico Tweezer

REAGENT 2
Complejante 3,5-DiBr-PAESA 0.1 mmol/L

ESTÁNDAR
Estándar de cobre 100 $\mu\text{g/dL}$ (15.73 $\mu\text{mol/L}$)

PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES DE REACTIVOS

R1 Solution: Coger 2 comprimidos de REAGENT 1b con plástico Tweezer y echarlos en un vial de REAGENT 1a. Mezclar hasta que se disuelven completamente.

La R1 Solution contiene urea como aditivo. En la configuración de orden de la muestra, no introduzca la prueba de la urea inmediatamente después del cobre en los analizadores automáticos de "acceso aleatorio".

REAGENT 2 y STANDARD: listo para usar.

ESTABILIDAD
En el analizador: 45 días si se evita la contaminación.
Calibración: 14 días. Repita la calibración ante cualquier variación en el lote de reactivo.

CONTROL DE CALIDAD
Use los siguientes materiales de control para verificar la precisión del la prueba.

Clin Chem Control 1 REF 16150 6x5 mL
Suero de control liofilizado multiparamétrico. Para el uso, siga las instrucciones contenidas en el kit.

Clin Chem Control 2 REF 16250 6x5 mL
Suero de control liofilizado multiparamétrico. Para el uso, siga las instrucciones contenidas en el kit.

ESTANDARIZACIÓN
NIST (Instituto Nacional de Estándares y Tecnología)

MUESTRA
Suero o plasma (heparina) no hemolizado. Recoger las muestras según el procedimiento NCCLS citado en la bibliografía.

ESTABILIDAD DE LA MUESTRA
14 días a 2-8 °C.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Para uso diagnóstico in vitro.
- No use componentes cuya fecha de caducidad haya sido superada.
- No mezcle los materiales de números de lote de kit diferentes.
- Las Fichas de Datos de Seguridad están disponibles en www.sentinel-diagnostics.com o pidiéndoselo en contacto con su representante local.

⚠ ATENCIÓN: Este producto requiere el uso de muestras humanas. Se recomienda considerar todos los materiales de origen humano potencialmente infecciosos y manipularlos según la norma OSHA sobre agentes patógenos de transmisión sanguínea ². Aplicar el nivel de bioseguridad ² u otras prácticas de bioseguridad adecuadas ⁴ para los materiales que contienen o se sospecha que contienen agentes infecciosos.

REAGENT 1a

⚠ ADVERTENCIA: contiene ÁCIDO ACÉTICO, HIDRÓXIDO SÓDICO

Indicaciones de peligro:

- H314 Causa irritación cutánea.
- H315 Causa irritación ocular importante.

Consejos de prudencia:

- P264 Lavarse concienzudamente tras la manipulación.
- P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
- P302+P352 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.
- P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.
- P332+P313 En caso de irritación cutánea. Consultar a un médico.
- P337+P313 Si persiste la irritación ocular. Consultar a un médico.
- P362 Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

REAGENT 2

⚠ PELIGRO: contiene ÁCIDO ACÉTICO, HIDRÓXIDO SÓDICO

Indicaciones de peligro:

- H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

Consejos de prudencia:

- P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
- P301+P330+P331 EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagarse la boca. NO provocar el vómito.
- P303+P361+P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitar inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua/ducharse.
- P304+P340 EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar.
- P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.
- P310 Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico/...

REF 17638H
Copper
112

REF 17638H

Copper

ES

- P501 Eliminar el contenido/recipiente de conformidad con la normativa aplicable.

INSTRUMENTAL Y MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Equipo general de laboratorio

PROCEDIMIENTO ANALÍTICO

Longitud de onda: 570 nm (principal)
700 nm (referencia)

Paso de luz: 1 cm

Temperatura: 37 °C

Muestra/R1 Solution/REAGENT 2: 1/20/4

Reacción: tiempo fijado (aumentar)

Esperar a que los reactivos se pongan a temperatura de trabajo antes de utilizarlos.

Una variación proporcional de los volúmenes indicados de reacción no cambia los resultados.

EJEMPLO DE PROCEDIMIENTO ANALÍTICO EN INSTRUMENTOS AUTOMATIZADOS

Tiempo 0

Calibrador/Controles/Muestra = 15 µL

R1 Solution = 300 µL

Después de 260 segundos

Lectura 1

Después de 40 segundos

Adición de REAGENT 2 = 60 µL

Después de 300 segundos

Lectura 2

CÁLCULO

1. Trazar una curva de calibración sobre papel milimetrado indicando la absorbancia (eje y) en función de la concentración correspondiente (eje x), en µg/dL, para cada calibrador.

2. Anotar el valor de absorbancia obtenido para Muestras y Controles en la curva de calibración.

3. Extrapolar el valor, en µg/dL, para Muestras y Controles de la curva de calibración.

FACTOR DE CONVERSIÓN

Cu: [µg/dL] x 0.1573 = Cu [µmol/L]

VALORES DE REFERENCIA

Varón: 70 - 140 µg/dL

Mujer: 80 - 155 µg/dL

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio intervalo esperado. Para el uso diagnóstico, los resultados conseguidos deben ser siempre valorados junto a la historia clínica del paciente, a los exámenes y otras pruebas clínicas.

RENDIMIENTOS DEL ANALIZADOR AUTOMÁTICO

SENSIBILIDAD:

3.0 µg/dL. La sensibilidad se calculó en 20x2 dup x ciclo de análisis de suero fisiológico normal y se informó como el "valor cero promedio + 3 DE".

PRECISIÓN INTRAENSAYO:

Se determinó a partir de 20 duplicados en 3 controles (N1/N2/N3) y en una muestra de suero humano (N3). Los resultados fueron los siguientes:

µg/dL	N1	N2	N3
media	74.2	105.7	197.7
DE	2.25	0.97	0.59
CV (%)	3.0	0.7	0.3

PRECISIÓN INTERENSAYO:

Determinada en 16x1x3 pruebas (día x ciclo x dupl) en cada control (5 niveles - N1/N2/N3/N4/N5). Los resultados fueron los siguientes:

	media µg/dL	Imprecisión total		Entre Días		Reproducibilidad	
		DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)
N1	67.3	3.06	4.5	2.79	4.2	1.24	1.8
N2	72.8	3.21	4.4	3.11	4.3	0.78	1.1
N3	96.2	3.82	4.0	3.50	3.6	1.52	1.6
N4	100.4	3.70	3.7	3.39	3.4	1.60	1.5
N5	178.2	3.32	1.9	3.21	1.8	0.84	0.5

PRECISIÓN:

Este ensayo (y) se comparó con un método de absorción atómica (x).

Los resultados fueron los siguientes:

N = 55, r = 0.935, y = 1.04x + 8.55

INTERFERENCIAS:

el ensayo no se ve afectado por la presencia de hasta 40 mg/dL de bilirrubina, de hasta 300 mg/dL de hemoglobina y de hasta 1500 mg/dL de lípidos.

RANGO ANALÍTICO:

3.0 - 500 µg/dL.

Las muestras con valores superiores a 500 µg/dL deben diluirse 1:10 con suero fisiológico normal y multiplicar el resultado por 10.

TRATAMIENTO DE LOS DESECHOS

Los reactivos se deben eliminar de acuerdo con la normativa local.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) NCCLS Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard - Fifth Edition (H3-A5). Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2003.
- 2) US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. Bloodborne Pathogens.
- 3) US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office, January 2007.
- 4) World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd ed. Geneva: World Health Organization, 2004.
- 5) Sewell DL, Bove KE, Calihan DR, et al. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Approved Guideline - Third Edition (M29-A3). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
- 6) Pesce, A.J., Kaplan, L.A.: "Methods in Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1987).
- 7) Burtis C.A., Ashwood E.R.: "Tietz Textbook of Clinical Chemistry", W.B. Saunders Company Ed. (3rd edition, 1999).
- 8) Guder W.G.: "The Quality of Diagnostic Sample". Recommendations of the Working Group on Preanalytical Quality of the German Society for Clinical Chemistry and the German Society for Laboratory Medicine. (1st Edition - 2001).
- 9) Jacobs, D.S., Kasten, Jr., B.L., DeMott, W.R., Wolfson, W.L.: "Laboratory Test Handbook", Lexi-Comp and Williams & Wilkins Ed. (2nd Edition - 1990).
- 10) Abe, A., Yamashita, S., Noma, A.: "Sensitive, direct colorimetric assay for copper in serum". Clin Chem., 35/4, 552-554 (1989).

Explicación de símbolos	
IVD	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
REF	Número de catálogo
LOT	Código de lote
Cont.	Contenido del kit
⚠	Precaución, consulte los documentos adjuntos
📖	Consulte las instrucciones de uso
🕒	Usar antes del (último día del mes)
XXX	Contiene suficiente para «>» pruebas
🌡	Límite de temperatura
🏭	Fabricante

Nota: una barra vertical en el margen del texto indica los cambios en comparación con la versión anterior.

SENTINEL
DIAGNOSTICSSENTINEL CH. s.p.a. - Ph. +39 02 3455141
Via Robert Koch, 2 Milano 20152 Italy
www.sentinel-diagnostics.com

2/2

13.2. Folleto de la aplicación del ensayo Copper de Sentinel Diagnostics para el analizador Atellica® CH930

17638H-2.0/05 F57 2020/09/30

REF 17638H C €

Copper

Alliance Application Sheet

Sentinel Diagnostics Folleto de la aplicación del ensayo Copper

Para el Atellica® CH Analyzer

Consulte las instrucciones de uso correspondientes para obtener información sobre estos reactivos. Consulte también la sección Carga de reactivos de ensayo Atellica Alliance Application en el CH Analyzer en la Ayuda en línea de la solución Atellica® para obtener instrucciones adicionales.

Los resultados de la prueba deben evaluarse siempre en combinación con la historia médica del paciente, exámenes clínicos y otros datos.

Los parámetros definidos en este folleto de aplicación han sido desarrollados por Siemens Healthcare Diagnostics para optimizar el rendimiento del producto. Cualquier modificación de estos parámetros puede afectar el rendimiento de este y otros ensayos en uso en su sistema y los valores de ensayo resultantes. Es responsabilidad del usuario validar cualquier modificación y su impacto en todos los resultados del ensayo.

Materiales

Estos reactivos son aptos para su uso con el Liquid Standard (calibrador) incluido en el kit. Se pueden utilizar otros materiales con fines de control de calidad.

Estos reactivos son solo para uso con suero/plasma

REF	SMN	PRODUCTO
Sentinel	Siemens	
17638H	11533083	Copper
N/A*	11097534	EMPTY Reagent Pack**
N/A*	11538114	EMPTY1 Reagent Pack**
N/A*	11538115	EMPTY2 Reagent Pack**

*No Aplicable

**Materiales necesarios pero no suministrados.

Estabilidad, almacenamiento y preparación del reactivo

Nota: Para la preparación del reactivo, información de almacenamiento y detalles completos del producto, consulte las Instrucciones de uso.

Preparación y estabilidad del Reagent Pack

Instrucciones de preparación

Transfiera los volúmenes de reactivo adecuados a EMPTY reagent packs (consulte la Tabla 1).

Para obtener información sobre la estabilidad de los instrumentos, consulte la Tabla 2.

Tabla 1 – Información sobre el Reagent Pack

Contenido	Número de pruebas
Pack 1 Well 1 (W1) 20 mL de Cop R1* Well 2 (W2) Vacío	3 x 189
Pack 2 Well 1 (W1) 7 mL de Cop R2* Well 2 (W2) Vacío	

*No ajuste volúmenes de llenado requeridos, de lo contrario puede generarse un error del sistema.

Consulte la ayuda en línea para obtener instrucciones sobre cómo cargar los paquetes de reactivo vacíos llenados por el operador.

Los parámetros del ensayo han sido predeterminados en el software del instrumento. El reagent pack debe cargarse manualmente en el Atellica Analyzer.

Copper**Alliance Application Sheet****Tabla 2 - Calibración y Estabilidad**

Calibración del paquete	Calibración del Lote	Estabilidad a bordo
30 días	41 días	30 días

Información Importante

Para conocer las características de rendimiento, el uso previsto, las limitaciones y una descripción detallada de cómo realizar el método, consulte las instrucciones de uso del ensayo Copper (REF 17638H).

Procedimiento**Calibración**

Prepare una calibración usando el estándar Copper (Calibrador). Vuelva a calibrar según lo indicado por los resultados del control.

Resultados

Los resultados se indican en µg/dL.

Tabla 3 – Información TDEF

Ensayo	Código TDEF	Tiempo hasta el primer resultado
Cop	8011	9,7 minutos

Explicación de símbolos

IVD	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
REF	Número de catálogo
LOT	Código de lote
Cont.	Contenido del kit
 adjuntos	Precaución, consulte los documentos
	Consulte las instrucciones de uso
	Usar antes del (último día del mes)
 XXX	Contiene suficiente para <n> pruebas
	Límite de temperatura
	Fabricante
Made in Italy	Fabricado en Italia
Rx only	Para uso exclusivo de un médico o por orden de un médico (solo aplicable a la clasificación de EE.UU.).

Nota: una barra vertical en el margen del texto indica los cambios en comparación con la versión anterior.

Atellica® es una marca comercial de Siemens Healthcare Diagnostics.
Fabricado por Sentinel y distribuido por Siemens Healthineers.

INFORMACIÓN DE CONTACTO

Para pedidos y asistencia técnica, póngase en contacto con Siemens Healthcare Diagnostics. Por favor, póngase en contacto con su representante local.

Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
511 Benedict Avenue
Tarrytown, NY 10591
Siemens.com/healthineers

Distribuido por: Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
511 Benedict Avenue, Tarrytown, NY 10591
Siemens.com/healthineers

13.3. Inserto control comercial 3ra opinión “InteliQ Assayed Multiquel Control” Lote 45900T para la determinación colorimétrica de cobre en el sistema Siemens Atellica Solutions.



InteliQ Assayed Multiquel Control

Levels 1, 2 and 3

REF

12008256 Level 1 12 x 3 mL

12008257 Level 2 12 x 3 mL

12008258 Level 3 12 x 3 mL

12008259 MiniPak 3 x 3 mL






EXP 2023-11-30

LOT

45900T

Level 1 45901T

Level 2 45902T

Level 3 45903T


<http://www.myeinserts.com/45900T>

USO INTENCIONADO
InteliQ Assayed Multiquel Control tiene un uso intencionado como suero valorado para el control de la calidad con el fin de supervisar la precisión de los procedimientos de análisis del laboratorio para los análisis que se enumeran en este prospecto.

INTRODUCCIÓN Y PRINCIPIO
El uso de materiales para el control de la calidad está indicado para la evaluación objetiva de la precisión de los métodos y las técnicas en uso, y forma parte integral de las buenas prácticas del laboratorio. Existen varios niveles de control para permitir supervisar la fiabilidad del sistema de análisis.
Para los clientes en Alemania: Para evaluar el funcionamiento del laboratorio es necesario material para el control de la calidad, tal como se describe en la "Directriz para el control de la calidad de los exámenes de laboratorios médicos según la Asociación alemana de médicos" (directriz RII-BÄK).

REACTIVOS
Este producto se prepara a partir de suero humano con la adición de productos químicos, drogas, material bioquímico purificado (extractos tisulares de origen humano y animal), estabilizadores y conservantes. Este producto se suministra líquido para mayor comodidad.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

 Este producto permanecerá estable hasta la fecha de caducidad, siempre que esté almacenado sin abrir a una temperatura entre -20 y -70°C. Para obtener los mejores resultados, evítase el almacenamiento de este producto en un congelador con ciclo de congelación/descongelación. Este producto debe almacenarse lejos de la luz.
Descongelado y sin abrir: Una vez descongelado el producto, si se almacena sin abrir a una temperatura entre 2 y 8°C, permanecerá estable como se indica a continuación:
- Todos los análisis: 30 días
Excepto:
- Bilirrubina (directa): 11 días
- Colesterol (HDL), Colesteroles, Fósforo y Triglicéridos: 7 días
Los valores de Bilirrubina total y Bilirrubina directa pueden disminuir. La actividad de la Fosfatasa alcalina puede aumentar. El control debe almacenarse congelado si se utilizan métodos para AST sin piridoxal-5-fosfato.
Almacenamiento en refrigerador (todos los instrumentos, sin instalar, de 2 a 8 °C):
El producto permanecerá estable como se indica a continuación:
- Todos los análisis: 7 días
Excepto:
- Calcio (iónico), Etanol y LAP Arilamidasa: 1 día
- Dióxido de carbono (CO2): 8 horas
Almacenamiento en instrumento (Siemens Atellica, instalado, de 2 a 8 °C):
El producto permanecerá estable como se indica a continuación:
- Todos los análisis: 14 días
Excepto:
- Fosfatasa alcalina, AST/SGOT, Bilirrubina (neonatal) y Bilirrubina (total): 9 días
- Bilirrubina (directa), Colesterol (HDL), Colesteroles, Creatina quinasa (CK), Fósforo y Triglicéridos: 7 días
- Calcio (iónico), Etanol y LAP Arilamidasa: 1 día
- Dióxido de carbono (CO2): 8 horas
No vuelva a congelar este producto una vez abiertos los tubos.
Este producto se transporta congelado.

PROCEDIMIENTO

 Este producto debe tratarse de la misma forma que las muestras de pacientes y debe ser ensayado conforme a las instrucciones incluidas con el instrumento, kit o reactivos utilizados.
Este producto solo puede utilizarse después de un procedimiento de almacenamiento en instrumento o de almacenamiento en refrigerador, pero no de una combinación de ambos.
Para descongelar el producto:
Antes de utilizarlo, deje descongelar el producto a temperatura ambiente (entre 18 y 25°C) durante unos 60 minutos o hasta que se descongela totalmente. Si está haciendo un análisis para detectar oligoelementos metálicos, remueva suavemente con movimientos circulares el contenido del tubo para mezclarlo (no lo invierta para mezclarlo). Una vez descongelado el producto, invierta el tubo varias veces con suavidad para garantizar su homogeneidad.
Almacenamiento en refrigerador (todos los instrumentos, sin instalar, de 2 a 8 °C):
Antes de utilizarlo, gire el tubo en círculos con suavidad para garantizar su homogeneidad.
Quite el tapón y coloque el producto en el instrumento para el análisis. Una vez completado el análisis, vuelva a colocar rápidamente el tapón y devuelva el producto al almacenamiento en el refrigerador. Para una estabilidad óptima del análisis, minimice el tiempo que está instalado en el instrumento y la exposición a temperatura ambiente.
Almacenamiento en instrumento (Siemens Atellica, instalado, de 2 a 8 °C):
Quite el tapón y coloque el producto en el instrumento para el análisis. Guarde el producto abierto durante el plazo indicado de estabilidad instalado.
Precauciones de seguridad
• Se debe tener precaución al manejar este producto para evitar salpicaduras. Para protegerse de ellas, lleve protección facial/ocular adecuada cuando utilice este producto.
• Elimine todo material desechable de acuerdo con las normativas locales vigentes sobre la gestión de residuos. En el caso de que el envoltorio haya sufrido daños, póngase en contacto con la oficina de ventas o con el Servicio técnico local de Bio-Rad.

LIMITACIONES

1. Este producto no debe utilizarse después de la fecha de caducidad.
2. Si hubiese indicios de contaminación microbiana o exceso de turbidez en el producto, deseche el vial.
3. Este producto no está previsto para ser utilizado como estándar.
4. Los valores pueden disminuir gradualmente durante la vida de almacenamiento del producto para los siguientes análisis: Fosfatasa alcalina, ALT/SGPT, Bilirrubina (directa), Bilirrubina (neonatal), Bilirrubina (total), Colesterol (HDL), Colesteroles, Creatina quinasa (CK) y Tobramicina.
5. Los métodos sujetos a interferencia del ácido ascórbico pueden mostrar supresión de la recuperación del ácido úrico.

PRECAUCIONES

 **Material de origen biológico. Manipular como potencialmente infeccioso.**
Todos las unidades de donantes humanos utilizadas en la fabricación de este producto se han analizado según métodos aceptados por la FDA (agencia estadounidense para alimentos y fármacos). Los resultados de los análisis no presentaron reacción ni pruebas de infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), el virus de la hepatitis B (VHB) ni el virus de la hepatitis C (VHC). Este producto puede contener asimismo materiales de origen humano para los que no existen análisis homologados. De acuerdo con las buenas prácticas del laboratorio, todo material de origen humano se debe considerar potencialmente infeccioso y manipular con las mismas precauciones que las muestras de pacientes. La ficha de datos de seguridad (SDS) está disponible para los usuarios profesionales en www.bio-rad.com.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE FUNCIONAMIENTO
Este es un producto líquido estabilizado que ha sido fabricado según las más estrictas normas de control de la calidad. Para obtener valores de ensayo coherentes, será necesario almacenar y manipular el control según se indica.

ASIGNACIÓN DE VALORES
Los valores medios y los correspondientes rangos de $\pm 3\sigma$ que figuran en las tablas de datos de asignación de valores (Assignment of Values Data Chart), que se facilitan aparte, se obtuvieron a partir de la repetición de análisis y son específicos de cada lote de producto. Las pruebas fueron realizadas por el fabricante o por laboratorios independientes, que utilizaron reactivos admitidos por el fabricante y una muestra representativa de cada lote de producto. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos aceptables y utilice los que aquí se proporcionan solo como orientación. Los rangos establecidos por el laboratorio pueden variar respecto a los indicados, mientras dure este control. [Los clientes en Alemania deben cumplir los requisitos descritos en la directriz RII-BÄK.] Las variaciones a lo largo del tiempo y entre laboratorios pueden deberse a diferencias en las técnicas del laboratorio, su instrumental, sus reactivos, o a modificaciones introducidas en el método de medida del fabricante.

INSTRUCCIONES PARA OBTENER TABLAS DE DATOS
Las tablas de datos están disponibles a través de Internet en www.myeinserts.com/45900T. Siga las instrucciones del sitio web para recibir por correo electrónico la notificación de las actualizaciones del prospecto. Para recibir las tablas de datos de otra forma, póngase en contacto con la oficina local de Bio-Rad.

ETIQUETAS DE CÓDIGOS DE BARRAS
Para algunos instrumentos, puede haber disponibles etiquetas de códigos de barras complementarias en <https://blg.qnet.com>. Asegúrese de que el tubo del producto esté limpio y seco antes de pegar la etiqueta.

INFORMACIÓN IMPORTANTE SOBRE EL PRODUCTO

 Los cambios significativos están resaltados.



InteliQ Assayed Multiquel Control Levels 1, 2 and 3



12008256 Level 1 12 x 3 mL
12008257 Level 2 12 x 3 mL
12008258 Level 3 12 x 3 mL
12008259 MiniPak 3 x 3 mL



EXP 2023-11-30



45900T

Level 1 45901T
Level 2 45902T
Level 3 45903T



<http://www.myeinserts.com/45900T>

Fecha de revisión 2022-04-03 → Indica información revisada

INSTRUMENTO (1)

		Unidades	Nivel 1 - 45901T		Nivel 2 - 45902T		Nivel 3 - 45903T	
			Media	Rango	Media	Rango	Media	Rango
Siemens Atellica Solution								
Cobre (3)	µg/dL	48.9	39.1 – 58.6	70.4	56.4 – 84.5	92.4	73.9 – 111	

NOTAS AL PIE DE PÁGINA

- (1) Es posible que no todas las notas al pie sean de aplicación para la tabla de datos personalizada que ha seleccionado.
- (2) Los valores se obtuvieron a 37 °C.
- (3) Los valores asignados se determinaron utilizando el protocolo del fabricante del reactivo o instrumento y puede que no representen rangos de $\pm 3s$.
- (4) mg/dl de Urea nitrogenada x 2,14 = mg/dl de Urea. El rango de valor de SI se expresa como Urea.
- (5) Este producto se ha analizado mediante las metodologías enumeradas en el prospecto. El funcionamiento de este producto no se ha evaluado para su uso con métodos de electroforesis capilar.
- (6) Los campos de datos que contienen desigualdades (<, >), N/A, § o ▲ (donde no hay un valor asignado) están representados por un valor de 0,0001 en el instrumento Roche.
- ▲ En este momento no se dispone de datos. Consulte cualquier duda.
- § Debido a la limitada participación, no se obtuvieron los datos necesarios para calcular las medias y los rangos aceptables para este ensayo. Si su centro está interesado en participar en el Programa de Asignación de Valores de este ensayo, pónganse en contacto con su oficina local de Bio-Rad.

13.4. Planilla Excel ® de Siemens Diagnostics utilizada para la verificación del usuario de la presión y estimación del sesgo según las directrices del protocolo CLSI EP15-A3

SIEMENS Healthineers		Estudio de Precisión (Repetibilidad y CV% Inter corrida) y Estimación de Sesgo			
		Laboratorio Clínico Diagnomed - Concepción			
Regresar al Índice					
*Por favor complete los espacios sombreados					
Prueba: desproteinización de la concentración de cobre (Cu) en suero y plasma					
Unidades: µg/dL		Lote de Control			
Lote de Reactivo: 273		45301T		45302T	
		45303T			
Días del estudio	No de Datos	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	
Día 1	1	51,64	71,61	86,87	
	2	49,65	70,29	87,55	
	3	50,4	70,36	87,66	
	4	51,39	69,75	87,12	
	5	49,64	68,32	89,51	
Día 2	6	51,96	70,51	89,46	
	7	52,87	73,1	87,45	
	8	49,22	72,13	87,42	
	9	52,69	70,84	88,11	
	10	52,98	70,61	88,32	
Día 3	11	52,96	70,79	88,49	
	12	52,54	69,52	86,87	
	13	49,3	70,7	86,44	
	14	51,27	69,67	89,31	
	15	52,85	68,9	87,21	
Día 4	16	50,2	71,55	87,12	
	17	52	69,6	86,05	
	18	49,13	69,29	88,06	
	19	51,02	69,51	87,45	
	20	53,05	70,18	87,96	
Día 5	21	51,72	69,97	85,18	
	22	52,75	73,53	87,95	
	23	52,06	71,1	88,41	
	24	50,91	71,38	89,31	
	25	52,93	68,14	86,99	
Cálculos Estadísticos					
Media	51,5	70,5	87,7		
DS	1,35	1,31	1,06		
n	25,0	25,0	25,0		
Resultado más Bajo	37,3	68,14	85,18		
Resultado más alto	53,05	73,53	89,51		
Límite Inferior Grubbs*	47,27	66,33	84,35		
Límite Superior Grubbs*	55,70	74,57	91,03		
Sr	1,32	1,28	1,13		
Swt	1,35	1,32	1,05		
CV Intra Corrida	2,57	1,82	1,28		
CV Inter Corrida	2,62	1,88	1,20		
Imprecisión Intracorrida (Repetibilidad)					
Interpretación	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3		
Media Obtenida	51,5	70,5	87,7		
CV Intracorrida Obtenido	2,57	1,82	1,28		
CV Intracorrida Manufactura	3	3	3		
UVL	3,9	3,9	3,9		
Análisis	Cumple	Cumple	Cumple		
Imprecisión Inter Corrida					
Interpretación	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3		
Media Obtenida	51,5	70,5	87,7		
CV Inter corrida Obtenido	2,62	1,88	1,20		
CV Inter corrida Manufactura	4,5	4,4	4		
UVL	5,85	5,72	5,20		
Análisis	Cumple	Cumple	Cumple		
Estimación de Sesgo (BIAS)					
Interpretación	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3		
Sesgo Máximo Permitido	7,415	7,415	7,415		
Límite Inferior Inserto	39,1	56,4	73,9		
Límite Superior Inserto	58,6	84,5	111		
Media Inserto	48,9	70,4	92,4		
DS Inserto a 3 Ds	3,25	4,68	6,18		
Media Obtenida	51,49	70,45	87,69		
Límite de aceptación Superior	52,53	75,62	99,25		
Límite de aceptación Inferior	45,27	65,18	85,55		
Estimación de Sesgo en %	5,29	0,07	5,10		
Análisis	Cumple	Cumple	Cumple		
Error Total					
Interpretación	Nivel 1 Lote	Nivel 2 Lote	Nivel 3 Lote		
Error Total	9,61	3,17	7,07		
Error Total Permitido	14,83	14,83	14,83		
Fuente	Variabilidad Biológica Mínima				
Análisis	Cumple	Cumple	Cumple		
Analisis Grafico N1					
Analisis Grafico N2					
Analisis Grafico N3					