



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE  
VERIFICACIÓN DEL MÉTODO DE QUÍMICA SECA  
PARA EL ANÁLISIS DE ÁCIDO ÚRICO, UREA Y  
CREATININA EN SUERO SANGUÍNEO”**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA

**MARIA JANIN RODRÍGUEZ REYES**

DIRIGIDA POR

**M. en I.M. DAVID GUSTAVO GARCÍA GUTIÉRREZ**  
SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2016.



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE VERIFICACIÓN DEL MÉTODO DE QUÍMICA SECA PARA EL ANÁLISIS DE ÁCIDO ÚRICO, UREA Y CREATININA EN SUERO SANGUÍNEO”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**MARIA JANIN RODRÍGUEZ REYES**

**DIRIGIDA POR**

**M. en I.M. DAVID GUSTAVO GARCÍA GUTIÉRREZ**

SINODALES

M. en I.M. DAVID GUSTAVO GARCÍA GUTIÉRREZ

DIRECTOR

M. en C. GUSTAVO PEDRAZA ABOYTES

SINODAL

M.S.P. SERGIO PACHECO HERNÁNDEZ

SINODAL

Q.F.B SABINA SÁNCHEZ VELEZ

SINODAL

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	v
RESUMEN	
1. ANTECEDENTES	
1.1 Historia de la calidad implementada en los laboratorios clínicos	1
1.2 Normas mexicanas para el funcionamiento del laboratorio clínico	3
1.3 Entidad Mexicana de Acreditación	5
1.4 Importancia de la Organización Internacional para la Estandarización (ISO) en el laboratorio clínico	6
1.5 Validación y Verificación en un laboratorio clínico	9
1.6 Evaluación para el procedimiento de verificación en un laboratorio clínico	11
1.7 Tecnología de la química seca	24
1.8 Tipos de slides o laminas reactivas	25
1.9 Espectrofotometría de reflectancia	27
1.10 Analitos para el análisis de funcionamiento renal	29
1.10.1 Ácido úrico	29
1.10.2 Nitrógeno Ureico en Sangre (BUN)	31
1.10.3 Creatinina	32
2. OBJETIVOS	34
2.1 General	34
2.2 Específicos	34
3. METODOLOGÍA	35
3.1 Materiales	35
3.2 Reactivos	35
3.3 Métodos	36
3.3.1 Procedimiento para la evaluación del parámetro de	37

linealidad	
3.3.2 Procedimiento para la evaluación del parámetro de precisión	38
3.3.3 Procedimiento para la evaluación del parámetro de veracidad	39
3.3.4 Procedimiento para la evaluación del parámetro de incertidumbre	40
3.4 Diseño experimental	41
4. RESULTADOS	43
5. DISCUSIÓN	62
6. CONCLUSIONES	67
7. REFERENCIAS	68

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Valores biológicos de referencia de Ácido Úrico	29
2	Valores biológicos de referencia de BUN	31
3	Valores biológicos de referencia de Creatinina	32
4	Valores establecidos por CLIA para el rendimiento analítico aceptable	38
5	Disoluciones para la determinación de la linealidad de ácido, úrico, urea y creatinina.	41
6	Resultados de la concentración de las disoluciones respectivas de cada analito	41
7	Cuantificación de errores en el intervalo reportable	42
8	Resultados de las concentraciones de las diluciones de ácido úrico	43
9	Cuantificación de errores en el intervalo reportable de ácido úrico	44
10	Resultados de las concentraciones de las diluciones de BUN	45
11	Cuantificación de errores en el intervalo reportable de BUN	46
12	Resultados de las concentraciones de las diluciones de creatinina	47
13	Cuantificación de errores en el intervalo reportable de creatinina	47
14	Valores obtenidos de las repeticiones para el análisis de precisión del ácido úrico	48
15	Valores obtenidos de las repeticiones para el análisis de precisión de BUN.	50
16	Valores obtenidos de las repeticiones para el análisis de precisión de creatinina.	51
17	Valores obtenidos de las repeticiones para el análisis de veracidad de ácido úrico.	54
18	Valores obtenidos de las repeticiones para el análisis de veracidad de BUN.	56

19	Valores obtenidos de las repeticiones para el análisis de veracidad de creatinina.	57
----	--	----

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Estructura de las laminillas reactivas, colorimétricos, inmunométricos y potenciométricos.	26
2	Principio del funcionamiento del método de química seca: espectrofotometría de reflectancia	27
3	Esquema de la reacción de la ácido úrico por el método de química seca	30
4	Esquema de la reacción de la urea por el método de química seca	32
5	Esquema de la reacción de la creatinina por el método de química seca	44
6	Gráfica de los valores obtenidos de cada dilución (mg/dL) en función de los valores teóricos del ácido úrico.	44
7	Gráfica de los valores obtenidos de cada dilución (mg/dL) en función a los valores teóricos de BUN	46
8	Gráfica de los valores obtenidos de cada dilución (mg/dL) y el valor teórico de creatinina.	48

## RESUMEN

El Centro Nacional de Metrología (CENAM) en conjunto con la Entidad Mexicana de Acreditación, A.C. (EMA) elaboran la Norma Mexicana Voluntaria NMX-EC-15189-IMNC-2015/ISO 15189:2015 “Requisitos particulares relativos a la calidad y la competencia”, para la acreditación de laboratorios clínicos, con el objetivo de coordinar los procedimientos de gestión de calidad y las regulaciones de los laboratorios clínicos, así como especificar los requisitos generales para su competencia técnica. Para llevar a cabo la acreditación, es indispensable evaluar la validación y verificación. En el presente estudio, se utilizó la “Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico” emitida por la EMA, para la evaluación de los parámetros de verificación del método de química seca para el análisis de ácido úrico, urea y creatinina en suero sanguíneo, mediante los parámetros de: precisión, linealidad, veracidad e incertidumbre. Precisión: los analitos fueron aceptados bajo el criterio de la legislación de las Enmiendas de Mejoramiento de Laboratorio Clínico (CLIA), sin embargo, bajo el criterio del fabricante no cumplió con los estándares; veracidad, los tres analitos no cumplieron con el criterio de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular; linealidad, fueron aceptados los analitos teniendo valores cercanos a una pendiente de uno y ordenada al origen de cero y finalmente la incertidumbre, expresando valores menores de  $\pm 10\%$ . Con este trabajo se propone implementar un equipo para regular la temperatura y por consiguiente la humedad reduciendo considerablemente las alteraciones en las reacciones del análisis, establecer un control de calidad interno más estricto un control externo de manera continua para detectar errores y corregirlos y así emitir valores más fiables teniendo una mejora en la calidad.



## 1. ANTECEDENTES

### 1.1 Historia de la calidad implementada en los laboratorios clínicos

Los laboratorios clínicos surgen hace más de 200 años en Inglaterra, Francia y países de lengua alemana con la creación de laboratorios en los hospitales, cuya función principal era la ayuda al diagnóstico de los enfermos. En 1791, el médico y químico francés, Antoine Francois Fourcroy (1755-1809) sugirió que en los hospitales se debían instalar pequeños laboratorios, donde el boticario analizara las excreciones, la orina y las “descargas” de los enfermos, con objeto de investigar la naturaleza de las enfermedades. Surgiendo así en la Schola Clínica de Halle un “departamento de investigación químico-clínica” (Rodenas, 2002). A partir de ese momento, los análisis clínicos fueron extendiéndose basadas en las enfermedades que presentaba la población de aquellas épocas.

Los análisis clínicos son de suma importancia, ya que tienen como objetivo orientar el cuidado de los pacientes, detección de enfermedades, control de la evolución del paciente, control del tratamiento, prevención de enfermedades y finalmente confirmación del diagnóstico. Los requerimientos para el cumplimiento de este objetivo son basados en la aplicación de los procedimientos con habilidad y destreza por parte del analista así como tener calidad analítica, siendo este último inexistente en sus inicios (Barnett, 1968).

El desarrollo de los laboratorios clínicos promovió la competitividad causando un descenso de la calidad, siendo probablemente causas como apatía, descuido, y mala coordinación entre las distintas áreas. Así surge la necesidad de coordinar los objetivos y mejorar los resultados en consecuencia, de controlar la calidad (Calderón, 1999).

El criterio de calidad ha evolucionado. En un inicio, en un laboratorio clínico, se entendía como calidad como el “control de la calidad”, basándose en el proceso mediante el cual las muestras conocidas son procesadas de manera rutinaria y

sistemática con el fin de determinar y corregir los errores de medida de los procedimientos (Canalias, 2006).

En 1931 Shewhart publicó el primer libro para laboratorios farmacéuticos en el que se plantean los principios básicos del control de la calidad, basándose en los métodos estadísticos, centrándose en el uso de cuadros de control (Maldonado, 2015).

En 1945, los estadounidenses Belk y Sunderman fueron los primeros en realizar el control de calidad externo, revelando una dispersión alarmante en los resultados analíticos entre los diferentes laboratorios participantes, decidiendo fundar el Colegio de Biopatólogos de Estados Unidos que organizó desde entonces, el primer servicio de Evaluación Externa de Calidad (Guaraché, 2003). Esta valoración desencadenó un enorme interés por los métodos para la producción de buenos resultados analíticos, garantizando el funcionamiento óptimo de los laboratorios clínicos (Kirk, 1997). Determinaron que los datos obtenidos deben reflejar el verdadero estado del paciente y los resultados de determinaciones repetidas deben ser similares cuando el individuo no ha sufrido cambios en su estado de salud. Sin embargo, estos procedimientos analíticos están sujetos a variabilidad y desviaciones sistemáticas, por lo que los análisis químicos pueden estar alterados debido a errores, los cuales afectan la confiabilidad de los resultados del análisis (Loria, 1994).

En 1950, Levey y Jennings aplicaron por primera vez en los procedimientos analíticos de los laboratorios clínicos, las gráficas de control que Shewhart había utilizado; posteriormente se realizaba una práctica estándar en la mayor parte de laboratorios en los años sesenta (Westgard, 2003). Son las gráficas de control de calidad que hoy día siguen vigentes y permiten conocer si los resultados obtenidos presentan el nivel de fiabilidad previamente establecido.

En 1963 Tonks publica las primeras recomendaciones para establecer las normas de calidad de las pruebas de laboratorio. En 1968 Barnett evalúa el cambio médicamente importante de un resultado de laboratorio utilizando para ello la distribución de los resultados de mediciones en individuos sanos, es decir, un rango de “valores normales”, este término a evolucionado, siendo nombrado hoy en día “valores de referencia”(Ambust y col., 1990).

Las primeras publicaciones de programas de control de calidad reportan mejoras con respecto a periodos previos. En ellas se difunde el criterio de aceptar resultados control si están dentro de los límites dados por media  $\pm$  dos veces la DE (desviación estándar) comenzando a usar programas de cómputo para analizar resultados control (Ley, 1974).

En 1987 con la publicación de la familia de las normas de la Organización Internacional de Normalización (ISO por sus siglas en inglés International Organization for Standardization), ISO 9000, el concepto de calidad se amplió al de “aseguramiento de la calidad”, el cual incluye, planificación, verificación, mejora y prevención, todas ellas a dan confianza en el cumplimiento de requisitos específicos. En los años noventa se empezó a introducir la idea de “gestión de calidad” definiéndose como, todas las actividades que se requieren para dirigir y controlar la calidad de una organización, incluyendo el establecimiento de la política, objetivos, planificación y control de la de la calidad. Evolucionando en estos últimos años, la calidad a cada uno de los procesos de una organización (Canalias, 2006).

### 1.2 Normas Mexicanas para el funcionamiento del laboratorio clínico

En la actualidad, para la apertura de un laboratorio se requiere un aviso de funcionamiento dentro de los diez días posteriores al inicio de las operaciones, un aviso de Responsable Sanitario, presentados ante la autoridad sanitaria correspondiente y cumplir obligatoriamente con la Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA3-2011, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 27 de febrero de

2012, entrando en vigor a partir de Abril del mismo año, dejando obsoleta a la Norma Oficial Mexicana NOM-166-SSA1-1997 (para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos); la Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA3-2011 contiene los lineamientos mínimos que deben de cumplir, tanto documentales (Manual de la Organización, Manual de Bioseguridad, Manuales de Procedimientos, Manual de Toma de Muestra, Técnicas de diagnóstico, etc.), como de infraestructura, materiales, recursos humanos y tecnológicos (mecanismos de actualización de su personal, instalaciones físicas para la toma y análisis de muestras, equipo de laboratorio, entre otros lineamientos). Esta norma indica que los laboratorios deben aplicar un programa de control de calidad interno el cual se define como un conjunto de procedimientos realizados por el personal para verificar los resultados producidos en cada día de trabajo, con el objeto de decidir si son suficientemente fiables para proceder a su entrega al médico y/o al paciente, teniendo siempre en cuenta las fases analíticas, así como el control de calidad externo que se utiliza para establecer la exactitud de las mediciones con base en la comparación de los datos de un laboratorio con los de otros que miden el mismo material de control; acreditar la evaluación de la pruebas incluidas en los programas externos para que finalmente desarrollen una investigación dirigida para solucionar la problemática de aquellos análisis en los que la calidad no sea satisfactoria (Terrés, 2006).

La representante nacional de la Federación Internacional de Química Clínica y Laboratorio de Medicina (IFCC, por sus siglas en inglés, International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) Rosa Sierra Amor, indica que, no existen datos fidedignos acerca de que la Norma Oficial Mexicana NOM-166-SSA1-1997 , ahora NOM-007-SSA3-2011 se cumpla en todos los laboratorios clínicos, debido a que algunos no cuentan con los registros correspondientes que son requeridos desde su apertura, la vigilancia de la aplicación de esta norma, corresponde a la Secretaría de Salud y a los gobiernos de las entidades federativas, normalmente debería de realizarse a través de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), pero dicha dependencia

carece del personal suficiente para realizar las visitas de verificación; por esta razón desde hace tiempo algunos laboratorios clínicos, buscando el reconocimiento y diferenciación de otros laboratorios, por lo que han decidido buscar la Certificación y/o Acreditación bajo otro tipo de normas.

El modelo ISO define certificación como el procedimiento mediante el cual un organismo (tercero autorizado) da una garantía de que un producto, proceso o servicio es conforme con ciertos requisitos especificados, sin embargo no implica que el laboratorio sea competente para producir datos y resultados válidos. Existen en nuestro país alrededor de 24 organismos de certificación para la evaluación de Sistemas de Gestión de la calidad tanto públicos como privados como SGS (Société Générale de Surveillance), CALMECAC (Organismo Nacional de Certificación y Verificación), ANCE (Asociación de Normalización y Certificación), NYCE (Normalización y Certificación Electrónica) y ONNCCE (Organismo Nacional de Normalización y Certificación de la Construcción y Edificación) cumpliendo con la acreditación de la Entidad Mexicana de Acreditación (Canalias, 2006).

Así mismo, ISO define Acreditación como el procedimiento por el cual un organismo autorizado reconoce formalmente que un organismo, laboratorio, equipo o determinación analítica es competente para efectuar tareas específicas (SINCAL, 2015). En México el organismo de acreditación autorizado es la Entidad Mexicana de Acreditación (EMA), siendo la primera entidad de gestión privada.

### 1.3 Entidad Mexicana de Acreditación (EMA)

La EMA fue creada para proporcionar a la industria y comercio herramientas para competir equitativamente, y así introducirse en el comercio internacional, cumpliendo con la norma vigente para organismos de acreditación en el ámbito mundial NMX-EC-17011- IMNC-2005 “Evaluación de la Conformidad – Requisitos Generales para los Organismos que realizan la acreditación de Organismos de Evaluación de la Conformidad”. Cumpliendo con los reconocimientos nacionales e

internacionales por el Foro Internacional de Acreditación (IAF) y la Cooperación Internacional de Acreditación de Laboratorios (ILAC) (EMA, 2008).

La Entidad Mexicana de Acreditación (EMA) define acreditación como el acto que da la seguridad y avala que los laboratorios (de ensayos, calibración, clínicos, forenses e investigación) unidades de verificación (organismos de inspección) y organismos de certificación ejecuten las regulaciones, normas o estándares correspondientes con precisión para que comprueben, verifiquen o certifiquen los productos y servicios que consume la sociedad. Las entidades de acreditación, como EMA, son los órganos que garantizan que los Organismos de Evaluación de la Conformidad son confiables y técnicamente competentes.

En México, la EMA previamente ha acreditado a los laboratorios clínicos desde 1999 bajo las Normas aplicables a laboratorios de ensayos anteriores como son la NMX-CC-13-1992, NMC-EC-025-IMNC-2000 y NMX-EC-17025-IMNC-2000; y en septiembre del 2005 se realizó la primera evaluación bajo la Norma ISO 15189:2003 (Burnett, 2002).

La acreditación de los laboratorios clínicos utilizando la norma NMX-EC-15189-IMNC-2012/ISO 12189:2007 se está adoptando en la mayoría de los países y se está perfilando como una poderosa herramienta gerencial enfocada a asegurar la calidad de los resultados de los exámenes clínicos en virtud de que los resultados de los exámenes del laboratorio clínico contribuyen directamente al cuidado de la salud del paciente (EMA, 2008).

#### 1.4 Importancia de la Organización Internacional para la Estandarización (ISO) en el laboratorio clínico.

Al hablar de acreditación de un laboratorio clínico, se considera: la acreditación por programas de ámbito nacional desarrollados por organizaciones profesionales como es el caso de los Estados Unidos, Canadá, Australia y algunos países de Europa, y la acreditación por normas internacionales aprobadas por ISO, las cuales

se realiza en base a normas nacionales establecidas por especialistas del sector y en normas de cada comisión.

La Organización Internacional de Normalización llamada ISO por sus siglas en inglés, proviene del griego, isos, que significa "igual", es una organización no gubernamental creada en 1947, compuesta por organizaciones nacionales de normalización de más de 100 países. Está estructurado principalmente por el consejo de la organización cuya función es la aprobación de proyectos y normas, así como los comités técnicos ISO encargados de estudiar los principios científicos de la normalización (Fernández, 2002).

La acreditación de los laboratorios clínicos por normas ISO tuvo sus inicios en los países del norte de Europa y en los últimos años ha ido extendiéndose progresivamente. La norma UNE-EN ISO/EC 17025:2000 "Requisitos generales relativos a la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración" fue una de las primeras normas realizadas para la calidad de los laboratorios, sin embargo, su función difería notablemente del enfoque establecido. Fue en el año 2003 que ISO aprobó una norma específica para la acreditación de los laboratorios clínicos, la "UNE-EN ISO 15189: 2003 Laboratorios clínicos. Requisitos particulares relativos a la calidad y la competencia", con el objetivo de coordinar los procedimientos de gestión de calidad y las regulaciones de los laboratorios clínicos que existen en los distintos países, así como especificar los requisitos generales para su competencia técnica. Fue desarrollada por: el Comité Técnico 212 "Laboratorio clínico y sistemas diagnósticos *in vitro*", el Comité Técnico 178 "Gestión y aseguramiento de la calidad", y el Comité de Aseguramiento de la Conformidad (ISO/CASCO), (AENOR, 2003)

La norma ISO 15189:2008 está organizada por dos partes esenciales; los requisitos de la gestión de calidad, similares a los de la norma ISO 9001:2000, y los requisitos técnicos, adaptados para el laboratorio clínico a partir de los descritos por la norma

ISO 17025:2000; garantizando la fiabilidad de los resultados emitidos en los laboratorios clínicos (Imbernón y col. 2009).

La norma ISO 15189:2008 correspondiente a la parte de gestión alude a las etapas pre analítica, analítica y post analítica descritas como:

Etapa pre-analítica integrada por todos aquellos aspectos del proceso que intervengan con la calidad, en relación al proceso y resultados del análisis. Ejemplos de ellos son la solicitud de la muestra, las instrucciones al paciente, la toma de la muestra, el procedimiento después de la toma de la muestra, el transporte, su registro, los criterios de selección, el volumen de muestra solicitado, el personal capacitado para la toma de la muestra, la documentación pertinente y la supervisión del proceso por parte de la gerencia del laboratorio.

Etapa analítica corresponde a la preparación de la muestra y el análisis de ésta, como: los reactivos, el material y limpieza, la medición de volúmenes, el mezclado, el tiempo y temperatura de reacción, los instrumentos, entre otros.

Etapa post analítica conlleva a la revisión sistemática de los resultados obtenidos, y por consiguiente al reporte final. Este reporte de resultados se debe acompañar de un procedimiento que abarque todos los pasos del proceso en donde aspectos como: transcripción de resultados, calidad de la muestra, resultados reportados, etc., estén bien detallados con el fin de dar una información certera y confiable al paciente (Sierra, 2006). Sin embargo, la Norma ISO 15189-2012 estableció las etapas pre pre-analítica definida como el proceso desde el momento en que el médico solicita las pruebas, y la post post-analítica que es hasta que el facultativo las interpreta; éstas etapas aportan un análisis más sistematizado, haciendo más certeros los resultados del paciente (Plebani, 2007).

En un laboratorio clínico acreditado o en proceso de acreditación, un paso fundamental es demostrar que tiene competencia técnica para realizar las



actividades de validación y verificación de los procedimientos de examen cuantitativo establecidos en su alcance de acreditación. De acuerdo a la NMX-EC-15189 IMNC 2006 (5.5.2), los laboratorios clínicos deben emplear procedimientos de medición validados y verificados para confirmar que son apropiados para el uso deseado (Brambila, 2006).

### 1.5 Validación y Verificación en un laboratorio clínico

En un mundo globalizado, se debe establecer con base en estándares internacionales, resultados de un laboratorio clínico con trazabilidad y, por lo tanto, validez en cualquier país. Una de las herramientas básicas y útiles son el modelo propuesto por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio, CLSI (por sus siglas en inglés Clinical and Laboratory Standards Institute), el cual elabora guías para la validación y verificación de métodos analíticos con exhaustivos protocolos los cuales generalmente son los utilizados por el fabricante del reactivo (Guglielmone, 2011), este es uno de los primeros documentos de referencia que se han publicado en el mundo para promover las buenas prácticas de laboratorio, siendo un protocolo riguroso para asegurar la integridad científica de los resultados emitidos por el laboratorio; otra herramienta es el documento propuesto por la EMA, estableciendo la “Guía de validación y verificación para los procedimientos de exámenes cuantitativos empleados en los laboratorios clínicos”; es un documento sencillo y práctico que toma como base la información publicada en libros emitidos por alguna autoridad en la materia (por ejemplo: ILAC, ISO, IUPAC, NCCLS, IFCC).

Aunque actualmente para fines de acreditación, la EMA acepta los ensayos con cualquiera de las dos aproximaciones, corresponde al profesional del laboratorio tomar en cuenta los costos y la complejidad de las dos propuestas para tomar una decisión correcta en la medición de la imprecisión (Zamora, 2011).

Se conoce como validación a la confirmación mediante el suministro de evidencia objetiva que se ha cumplido los requisitos del método para una utilización o aplicación específica prevista (NMX-CH-152-IMNC-2005, 2005). La validación

examina las características de desempeño de un método para identificar y establecer cualquier limitación que pueda esperarse, cuando se aplique a un tipo específico de muestras (CENAM, 2008). A si mismo comprueba la aptitud de los procedimientos de examen y refleja las condiciones reales de la aplicación de los mismos. Los datos de esta validación los informa el fabricante en los instructivos de uso de los reactivos (OAA, 2003).

La verificación es la confirmación mediante la aportación de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos especificados para un método como resultado de su validación (NMX-CC-9000-IMNC-2008, 2008) .El laboratorio debe verificar que puede aplicar correctamente los métodos ya validados por el fabricante, previo a su uso en los exámenes, bajo sus condiciones propias de operación (equipo, calibradores, analistas, etc.) generando evidencias objetivas, para confirmar su aplicación correcta, contemplando la satisfacción de las necesidades metrológicas requeridas por el médico para un adecuado tratamiento del paciente (OAA, 2003).

Antes de realizar la validación y verificación se debe llevar a cabo la calibración analítica de los equipos, estos dependen de los cambios realizados, por lo que debe repetirse cuando existan cambios mayores. Se consideran cambios mayores, por ejemplo: al cambio de equipo, el cambio de reactivo, mantenimiento mayor de equipo, traslado del equipo, entre otros. Se consideran cambios menores, la modificación del tamaño de muestra, cambio de analista y sustitución de reactivos, entre otros (OGA, 2007).

Para que se lleve a cabo la validación se debe considerar, basado en la EMA, los siguientes parámetros:

-Linealidad (intervalo analítico), precisión, veracidad, incertidumbre, límite de detección, selectividad, sensibilidad analítica, intervalo de trabajo, especificidad analítica e incertidumbre según el parámetro que el laboratorio considere en función al método, siempre y cuando sea justificable. Se debe realizar la validación

completa del método y presentar las evidencias correspondientes, incluyendo el procedimiento que se utilizó para realizarla.

Sin embargo si el laboratorio debe realizar la verificación de los procedimientos de examen seleccionados, antes de ponerlos en uso se tiene que evidenciar si éstos cumplen con las características de desempeño en las condiciones del laboratorio.

1.6 Evaluación para el procedimiento de verificación en un laboratorio clínico  
Para evaluar la verificación de acuerdo a las especificaciones internacionales, CLSI: Instituto de estándares clínicos y de laboratorio (por sus siglas en inglés, Clinical and Laboratory Standards Institute) consideran los protocolos EP6 A “Evaluación de la linealidad de los procedimientos de medición cuantitativos: enfoque estadístico” (por sus nombre en inglés, Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach), EP15-A2 “Usuario; Verificación del rendimiento para la precisión y veracidad” (por sus nombre en inglés, User Verification of Performance for Precision and Trueness), EP17A2 Evaluación de la capacidad de detección para los procedimientos de medición del laboratorio clínico (por sus nombre en inglés, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures) para la evaluación del límite inferior y C28A3 Evaluación de definir, establecer intervalos de verificación de referencia en el laboratorio clínico (por su nombre en inglés, Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory” (Guglielmone,2011).

Se define linealidad como la relación entre el valor obtenido y el valor convencionalmente verdadero. El intervalo de medida queda definido por un límite inferior (el valor crítico) y un límite superior denominado límite de dilución o límite de linealidad.

La falta de linealidad es consecuencia de utilizar una función de calibración inadecuada y ocasiona errores sistemáticos. El laboratorio clínico debe verificar el límite de linealidad solo cuando se han modificado las condiciones de uso o cuando

existe sospecha de alteración de la linealidad, bien sea por resultados anormales obtenidos con muestras de pacientes, por los datos del control de la calidad o por otras verificaciones que se hayan realizado (Serrat, 2011).

Los fabricantes emiten valores para la linealidad (el intervalo reportable), por lo que es necesario confirmar mediante el suministro de evidencia objetiva que los valores reportados por el laboratorio cumplen con tal descripción.

El protocolo EP6 A realiza el ensayo de linealidad con una serie de diluciones a partir de una muestra de suero con concentración cercana a la dada por el fabricante como límite superior del rango reportable. Con una muestra de concentración alta y una muestra de concentración de “cero”, se analizan tres diluciones con valores intermedios equidistantes, haciendo el proceso por triplicado. Se calcula la desviación estándar, la varianza y, con un programa informático se determina el porcentaje de error sistemático, el cual resuelve la aceptación o no de la linealidad (Tholen 2012).

-Precisión. Es el grado de concordancia entre los valores de una serie repetida de ensayos, utilizando una muestra homogénea, bajo condiciones establecidas. Para conocer el valor de una magnitud se emplea un procedimiento de medición, y los resultados que se obtienen son una estimación del valor del mensurando. Tal estimación contiene un error de medida, que es la diferencia entre el valor obtenido y el valor verdadero del mensurando (Zamora, 2011).

La precisión es uno de los parámetros metrológico más importantes para la selección, implantación, validación y verificación de un procedimiento de medida. Puede analizarse en condiciones de repetibilidad, de reproducibilidad o intermedias.

Las condiciones de repetibilidad incluyen un mismo sistema y procedimiento de medida, un usuario del sistema analítico y en un corto intervalo de tiempo, sin calibraciones entre las mediciones ni cambios de lotes de reactivos.

La reproducibilidad corresponde a condiciones de medida diferentes, incluyendo ubicación y usuario del sistema analítico.

Las condiciones intermedias comprenden el mismo procedimiento de medida y mediciones repetidas en una misma muestra durante un período de tiempo prolongado, pero incluyen otras condiciones que pueden variar, como son: las calibraciones, lotes de calibradores, lotes de reactivos y usuarios del sistema analítico (F. Canalias, 20014).

En el procedimiento de medición en el parámetro de precisión puede presentar errores como en todo medurado, específicamente un error aleatorio, definiéndose como el resultado de una medición menos la media que se obtiene de un número de mediciones del mismo, realizadas en las condiciones de repetición, como : fluctuaciones en la energía eléctrica, material mal lavado, agitación incorrecta, falta de calibración cuando existe algún cambio en el sistema, lote de calibrador, de reactivos que sean habituales en el trabajo continuo, etc.

La precisión usualmente se especifica en términos de desviación estándar o desviación estándar relativa (Ventura, 2007).

El CLSI evalúa el parámetro de precisión y veracidad con el protocolo EP15A2, para precisión, se utilizan varios materiales como un pool (consiste en una mezcla de varios sueros o de varios plasmas, realizada en el propio laboratorio clínico) de muestras de pacientes, materiales de control de calidad o estándares comerciales con valores conocidos. Se realiza el análisis con mínimo dos niveles de concentración. Cada nivel se corre por duplicado, con dos corridas por día, durante 20 días. Cada corrida debe realizarse con un tiempo mínimo de dos horas entre

ellas. Debe haber una muestra control en cada corrida y modificarse el orden del análisis del material de prueba y el material de control en cada corrida o por cada día. Para simular la operación real, se debe incluir al menos 10 muestras de pacientes en cada corrida. Si la repetibilidad y la desviación estándar (DE) son menores que las indicadas por el fabricante para el analito en particular, se afirma que el ensayo es aceptado y no se requiere ninguna verificación.

Veracidad. 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 veracidad se relaciona con la presencia de errores de tipo sistemático, también llamado “sesgo” o “desviación”; que puede expresarse como un valor absoluto o relativo al valor verdadero, este se define como la media de los resultados que se obtienen con un número infinito de mediciones del mismo mesurando, realizadas en las condiciones de repetición, menor el valor verdadero del mesurando (Theodorsson, 2012).

El error sistemático no se puede apreciar en una sola repetición de mediciones y, a menos que se conozca el valor verdadero del mensurando, podría existir errores sistemáticos muy grandes, permitiendo que pasen inadvertidos si no se aplican sistemas de control de calidad interno o se participa en programas de ensayos de aptitud (tales como los programas de evaluación externa de la calidad (Ventura, 2007).

La veracidad de un método de medición es de interés cuando es posible disponer del valor verdadero del mensurando sujeto a medición. El valor verdadero no se conoce exactamente en algunos métodos de medición, pero es posible contar con un valor de referencia certificado para el mensurando sujeto a medición (Theodorsson, 2012).

Para la determinación de veracidad el EP15 A2 se pueden emplear el “bias o sesgo” usando muestras de pacientes, o usando materiales de referencia con valores asignados.

Para la verificación de la veracidad con muestras de pacientes. Requiere ensayar 20 muestras con concentraciones del mesurando que cubran el intervalo reportable del método. Ensayar las muestras bajo las condiciones de rutina del laboratorio y medir con los dos sistemas de medición de 5 a 7 muestras por día, en un periodo de 3 a 4 días, de preferencia de manera simultánea (con 4 h de diferencia máximo). Con los resultados obtenidos, se calculan las diferencias entre las muestras del método que va a ser reemplazado y el método a verificar. En el caso de la sospecha de un error sistemático entre los métodos y para determinar si estas diferencias son significativas, frecuentemente se emplea la prueba estadística t de “student” para datos pareados. Finalmente, mediante el cálculo de los intervalos de confianza al 99% se puede determinar si el sesgo entre los métodos presenta o no diferencias significativas.

La verificación de la veracidad empleando muestras de pacientes solo da información de diferencias significativas entre los métodos, sin embargo una desventaja de este protocolo es que no informa cuál de los dos métodos es mejor, por lo que es necesario completar la verificación de la veracidad con otro protocolo, como la veracidad empleando materiales de referencia (CLSI, 2005).

Verificación de la veracidad empleando materiales de referencia. Este protocolo permite completar los estudios de veracidad de un sistema de medición. Como requisito fundamental se requiere de la utilización de materiales de referencia. Con base en la forma en que los valores son asignados al material de referencia, la selección de estos materiales debe ser en primer lugar los materiales de referencia certificados, que están disponibles en el Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST por sus siglas en inglés National Institute of Standards and Technology); seguido de los materiales de referencia con valores asignados por

programas de comparación de pruebas; materiales producidos por los fabricantes de reactivos con valores asignados; materiales de programas de evaluación externa de la calidad; materiales de tercera opinión con valores asignados por análisis en diferentes laboratorios; y, si no se dispone de ninguno de éstos, es posible desarrollar un protocolo de verificación de la veracidad con estándares con concentraciones conocidas preparados por el propio laboratorio. Desde el punto de vista de la trazabilidad, los materiales de elección son los de referencia certificados.

Para su ejecución deben ser seleccionados al menos dos materiales, con concentraciones a niveles alto y bajo en el intervalo reportable del método, los materiales deben ser preparados de acuerdo a las especificaciones del fabricante. Para este protocolo se requiere analizar dos replicados por día, durante tres a cinco días hasta completar diez determinaciones del material de referencia. Al igual que el protocolo de verificación de la veracidad que emplea muestras de pacientes, en este protocolo se calcula el intervalo de confianza, y si el valor asignado al material de referencia cae dentro de este intervalo de confianza podemos llegar a la conclusión de que el método verifica para veracidad (Bramblilla, 2012).

Límite de detección: ISO lo define como la cantidad o concentración neta mínima de una sustancia que puede ser detectable con fiabilidad por un método analítico determinado, y no necesariamente cuantificado (Boqué, 2005).

El CLSI evalúa el límite de detección realizando 10 mediciones de muestras de solución fisiológica, determinada como “concentración cero” y 5 mediciones de una muestra de concentración baja, cercana a lo especificada como límite de detección para el método. Para los cálculos se utiliza un programa llamado EP evaluator v 7. El programa hace una gráfica cuya ordenada al origen es el promedio de la concentración cero y el segundo punto corresponde al valor medio del control diluido intrapolando en el eje “x” el valor correspondiente; el límite de detección se obtiene de interpolar el promedio de la concentración cero  $\pm 2DE$ . El valor obtenido debe de ser igual o inferior al dado por el fabricante (Guglielmo, 2011).



Intervalos de referencia. Es el rango de resultados que define una condición de salud o enfermedad; la utilización de un rango adecuado es de suma importancia para la interpretación de los valores obtenidos de las muestras de los pacientes.

Para la verificación del intervalo de referencia el protocolo C28A3 establece medir 20 muestras como mínimo de sujetos saludables, es un resultado satisfactorio cuando como máximo el 10% de los resultados obtenidos están fuera del intervalo propuesto por el fabricante. Para el análisis de los datos estadísticos se utiliza el programa EP Evaluator- 8, que establece los valores pertinentes (Sebastián, 2014).

El protocolo propuesto por la EMA, “Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico”, es otra herramienta que sirve para verificar un método analítico, está a diferencia del CLSI establece sólo cuatro parámetros para la verificación del método: linealidad, precisión, veracidad e incertidumbre, dando la opción al laboratorio de incluir otro parámetro si considera que es necesario.

Para linealidad lo evalúa involucrando una serie de muestras conocidas. Las mediciones o los valores de las pruebas reportadas son comparados con los valores asignados o los valores de dilución. La linealidad es obtenida al trazar la mejor línea recta que toque la mayor cantidad de puntos. Debe considerarse que dicha verificación debe tocar los puntos de decisión clínica, entendiéndose éstos como las concentraciones o actividades de los analitos donde el médico decide entre administrar o no algún tratamiento terapéutico (NCCLS, 2003).

El procedimiento para el análisis de la linealidad, se realiza evaluando disoluciones patrón en 4 o 5 niveles de concentración. Para preparar las disoluciones debe emplearse material de referencia certificado, pueden utilizarse calibradores con valores asignados, los cuales podrán ser los mismos o diferentes con los que se calibró el equipo analítico, sueros control bajo y alto o muestras de pacientes

analizadas rutinariamente en el laboratorio, siempre y cuando un par de ellas presenten: una baja concentración del analito a ser evaluado en una de ellas y una concentración alta en la otra. Por lo que una vez definidas las muestras a utilizar, la asignación final del valor será obtenido calculando la media aritmética de un triplicado. Estos valores corresponderán a la dilución número. 1, concentración baja y dilución número. 5, concentración alta (Westgard, 2003). Es recomendable hacer cuatro replicas, sin embargo un número de tres es suficiente. Es importante que se prepare un volumen mínimo por dilución que garantice realizar las réplicas programadas y el “volumen muerto”.

La evaluación de la linealidad se procede, obteniendo las medias de la concentración. Se construye una gráfica con la media aritmética de las réplicas sobre el eje Y (ordenadas), en función de la concentración (el valor conocido (calibradores) o asignado) sobre el eje X. Una segunda grafica se realiza con las coordenadas de los puntos: (0%, media de la dilución 1), (25%, media de la dilución 2), (50%, media de la dilución 3), (75%, media de la dilución 4), (100%, media de la dilución 5). Y por último se calcula la ecuación de la recta para los puntos dados, así como el coeficiente de correlación. La gráfica resultante deberá ser lineal, con un coeficiente de correlación de por lo menos del 0,99 (Miller, 2002).

El criterio de aceptabilidad de la linealidad se basa en calcular la pendiente y la ordenada al origen (la pendiente deseable es de 1.00 y la ordenada al origen de 0), finalmente comparar el sesgo (desviación) o el porcentaje de error para cada dilución con el error permitido para la prueba de acuerdo con la información del fabricante o del método donde el sesgo (desviación) y % de error deben ser menores que el error permitido , evaluando si se acepta o rechaza (Westgard, 2003).

Para la determinación de la precisión en los procedimientos analíticos en base a la “Guía de validación y verificación para los procedimientos de exámenes cuantitativos empleados en los laboratorios clínicos”, se deben realizar mediciones

repetidas y aplicar algunos conceptos estadísticos fundamentales como el cálculo de la media ( $\bar{X}$ ), la desviación estándar (DE), la desviación estándar relativa (DER), el coeficiente de variación (%CV) y la varianza ( $s^2$ ). Para evaluar la precisión el laboratorio debe aplicar alguna de las siguientes opciones:

- a) Realizar el examen de un material (muestras de pacientes, muestras control, etc.) de valor conocido o no, analizado por lo menos 20 veces en forma continua, llamado intraserial o intracorrida o 20 veces en el transcurso del día (24 h) llamado intradía.
- b) Utilizar 20 valores obtenidos uno cada día de la misma muestra de un paciente o bien obtenidos de una curva de un programa de control de calidad interno de 20 días diferentes y del mismo lote (interserial o intercorrida). En ambos casos se debe calcular la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación expresado en porcentaje.

Criterios de aceptabilidad de la precisión: La precisión del método obtenida por el laboratorio debe ser menor o igual a la precisión del método que proporciona el fabricante.

Existe otro criterio de aceptación para la verificación de precisión, acorde a criterios de la legislación de CLIA, Enmiendas de Mejoramiento de Laboratorio Clínico (por sus siglas en inglés, Clinical Laboratory Improvement Amendments). Para la desviación intraserial o intradía, la desviación estándar obtenida debe ser igual o menor a  $\frac{1}{4}$  del error total permitido, de manera similar para la precisión interserial, la desviación estándar deber de ser de  $\frac{1}{3}$  o menor del error total. Una mayor desviación estándar implica un mayor coeficiente de variación y por lo tanto una mayor precisión del método analítico (NCCLS, 2003).

Criterios para verificar la veracidad. Para verificar la veracidad de los métodos de examen cuantitativos, se pueden utilizar las siguientes herramientas:

- Valoración de un material de referencia certificado:
  - a) Valoración por el cálculo del error relativo
  - b) Valoración por el cálculo de porcentaje de recuperación
- Estudios de comparación de métodos
- Estudios de comparación interlaboratorios con base en los resultados de programas de ensayos de aptitud (NMX-CH-5725-1-IMNC-2006, 2006).

a) Valoración por el cálculo del error relativo: La veracidad de un método analítico se puede estimar por medio del error relativo, para lo cual se utiliza un material de referencia certificado (MRC), un material de referencia (MR), un calibrador o un suero con un valor conocido del analito, considerado el valor asignado a éste como el valor verdadero. El cálculo del porcentaje de error relativo, se puede estimar mediante el cálculo inicial de la media aritmética, desviación estándar y el coeficiente de variación de una muestra de suero usada. Entre menor sea el porcentaje de error relativo mayor será la veracidad del método. El criterio de aceptabilidad es que el valor del error relativo sea menor o igual al reportado por el fabricante del equipo.

b) Valoración por el cálculo del porcentaje de recuperación. La obtención de los valores esperados de los materiales de referencia ensayados. Se puede utilizar material de referencia certificado, un material de referencia (MR) o un calibrador de valor conocido. El material se somete a examen 10 veces y se estima la concentración media del analito y con el valor obtenido se puede determinar el porcentaje de recuperación.

El porcentaje de recuperación tiene que ser igual o lo más cercano a 100. Valores menores indican menor cantidad recuperada del analito cuantificado y a mayor porcentaje mayor cantidad del analito recuperado. El criterio de aceptación es que

el valor sea menor o igual al reportado por el fabricante del instrumento (Westgard, 2003).

Evaluación de la veracidad utilizando estudios de comparación de métodos. Es utilizado para estimar el error sistemático. El plan del experimento consiste en analizar muestras de pacientes por dos métodos, el de prueba y el de comparación, después de lo cual se estima el error sistemático basado en las diferencias observadas entre los métodos. Dichas diferencias deben ser determinadas en las concentraciones críticas de decisión médica (NMX-CH-152-IMNC-2005,2005).

Evaluación y criterio de aceptabilidad. Calcular la diferencia (o sesgo individual de la muestra) en unidades convencionales de reporte y/o el porcentaje de la diferencia (porcentaje del sesgo individual de la muestra) entre los resultados de cada muestra para los dos métodos. El análisis de datos más elemental consiste en graficar y comparar los datos idealmente, al tiempo que los datos son colectados con el objeto de identificar discrepancias entre el método de prueba y el método de comparación, si hubiera diferencias se debe reanalizar para confirmar que esa diferencia es real y no un error de confusión con las muestras.

Estudios de comparación interlaboratorio: con base en los resultados de los programas de ensayos de aptitud. Los materiales utilizados (suero, plasma, liofilizado, etc.) con un valor asignado por consenso en los programas de ensayos de aptitud pueden ser utilizados para la determinación de la veracidad o de la exactitud de medición. En este caso la demostración de la veracidad o de la exactitud de medición se limita a la confirmación por el método de prueba de que este se desempeña de manera similar al mismo método en otros laboratorios (NCCLS, 2003).

El criterio de aceptabilidad para los procedimientos de examen que los laboratorios clínicos van a acreditar deben demostrar consistencia en al menos los últimos seis meses en la participación y en los resultados de programas de ensayos de aptitud.

Los resultados expresados en índice de desviación no serán en promedio mayores de 1,0 y los resultados expresados en puntuación del índice de varianza no serán en promedio mayores a 100%, considerando en ambos indicadores valores absolutos. Lo anterior deberá ser corroborado por el experto técnico al evaluar el proceso (Pérez y col., 2002).

La Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, establece otro parámetro para determinar si la veracidad estimada es aceptable respecto al error sistemático, este debe ser inferior o igual a una quinta parte del Error Máximo Permitido (EMP) que establece CLIA u otro organismo como la Asociación Médica Alemana (BAK), en caso de ser superior, debe ser corregido (Gella, 2011).

La verificación de un método debe incluirse la estimación de la incertidumbre.

Incertidumbre. Es una expresión numérica del grado de duda del resultado. En el análisis de la incertidumbre se asume que cualquier error sistemático es eliminado, corregido o ignorado, se evalúa los efectos aleatorios sobre el resultado de una medida y se establece un intervalo en el que se encuentra el valor verdadero de la magnitud medida con un determinado nivel de confianza (Gella, 2005).

La política de incertidumbre de la EMA en el punto 5.3.2.2 establece:

Como una consecuencia del uso de la incertidumbre en el área clínica, y donde sea aplicable una declaración de ésta, se deberá estimar de acuerdo a cualquiera de los siguientes casos:

- a) Cuando el método de medición se haya validado dentro del laboratorio.
- b) Cuando existan datos provenientes de mediciones de control de calidad interno.
- c) Pruebas interlaboratorio para determinar los parámetros de desempeño del método de acuerdo a la NMX-5725-3-IMNC.

Para la estimación de la incertidumbre, el laboratorio procederá de la siguiente manera, según sea el caso:

Caso a, se deberán considerar por lo menos la incertidumbre proveniente del material de referencia (calibrador, ajustador, material de referencia certificado) y la incertidumbre de la medición (datos de repetibilidad, datos del control diario, precisión intermedia).

Caso b, si se cuenta con los datos de las mediciones de control de calidad interno se debe proceder como en el caso a y si no se cuenta con información de la concentración y la incertidumbre del material de calibración se debe considerar únicamente la contribución de la incertidumbre de la medición.

Caso c, en los programas formales de comparación interlaboratorio, es común que el organizador, informe un valor de índice de desviación (ID) o una puntuación del índice de varianza (PIV), este dato será empleado para calcular el error cuadrático medio (ECM) que corresponde al valor de la incertidumbre de la medición (Fuentes ,2002).

Las fuentes que contribuyen a la incertidumbre de un resultado puede ser por: obtención de la muestra, preparación de la muestra, calibradores o materiales de referencia, magnitudes de entrada, equipo instrumental empleado, condiciones ambientales, estabilidad de la muestra y cambios de operarios.

La Incertidumbre en la fase analítica corresponden a la indefinición del mensurando, la estabilidad de la muestra en el sistema de medida, la calibración, los volúmenes dispensados, el lote de reactivos, el equipo instrumental, los operarios y las condiciones ambientales (Gella, 2005).

En general, existen diversas formas de verificar los métodos analíticos como el CLSI siendo más reconocido internacionalmente y con mayor aceptación,

introduciendo herramientas como estándares para un software que dan garantías de calidad al evaluar y medir el rendimiento clínico del laboratorio, sin embargo, el propuesto por la EMA, la “Guía para la validación y verificación de los procedimientos cuantitativos empleados por el laboratorio” es fácil su aplicación e interpretación, sin perder su validez metrológica.

La verificación puede aplicarse al análisis del método de química seca.

### 1.7 Tecnología de la química seca

La utilización de sistemas analíticos de química, en fase sólida, en los laboratorios clínicos se remonta a los años 50's. Posteriormente, se introdujo la tecnología de química seca, la cual tiene sus inicios en los años 70's. La tecnología de capa delgada desarrollada fue implementada por Kodak, para el análisis de fluidos biológicos en química clínica. Luego de años de perfeccionar dicha tecnología, en 1976, Kodak revolucionó el mercado de química clínica patentando dicha tecnología como “Tecnología de slide seco”; en esa época, ya se tenían algunos avances, pero fue hasta 1978 cuando se hizo la introducción de esta tecnología.

La química seca trajo consigo diversas ventajas, las cuales son:

- La calibración es estable por seis meses o cada cambio de lote, no hay necesidad de preparar reactivos ni desperdicio de los mismos.
- No hay interferencias en muestras lipémicas, hemolizadas o ictericas, disminuyendo las repeticiones.
- Muestra una excelente precisión y exactitud en los resultados.
- No hay necesidad de preparar reactivos ni desperdicios de los mismos, por consiguiente hay una disminución de la manipulación de muestras y desechos.
- No requiere de grandes cantidades para el análisis, debido a que utiliza 10  $\mu$ L de muestra.
- El control de calidad se corre una vez al día.
- Cada muestra es distribuida con una punta, disminuyendo así el peligro de contaminación.



-No existen bombas, tubos, mangueras, agua desionizada, instalación especial de desagüe, electrodos que necesiten mantenimiento, por lo que el funcionamiento es mejor (Alvarado, 2014).

Siendo estas ventajas una mejor opción a diferencia de métodos más antiguos como la química húmeda. Actualmente la química seca, emplea reactivos en forma de lámina con una película delgada multicapa sobre un soporte poliéster transparente cortado al tamaño de una estampilla. Al poner en contacto plasma, suero, orina o líquido cefalorraquídeo con estas capas de productos químicos secos, se origina una reacción que el sistema analítico se encarga de medir la concentración del analito, por medio de analizadores automáticos (Johnson, 2014).

#### 1.8 Tipos de Slides o láminas reactivas

Existen 3 tipos de Slides:

- Slides Colorimétricos
- Slides Inmunométricos
- Slides Potenciométricos

Slides Colorimétricas. La cual hace una determinación del punto final, ya que hace la medición una vez terminada la reacción. Ejemplo: glucosa, ácido úrico, colesterol.

Slides Inmunométricos. Se llevan a cabo varias lecturas durante el curso de la reacción, ejemplo: lactato deshidrogenasa, amilasa, lipasa. En ambas la concentración del analito se cuantifica a través de una medición espectrofotométrica.

Slides Potenciométricas. Mide el diferencial, el fluido de referencia, por medio de un electrodo de ion selectivo. Permite medir la concentración de electrolitos (De la Luz, 2010).

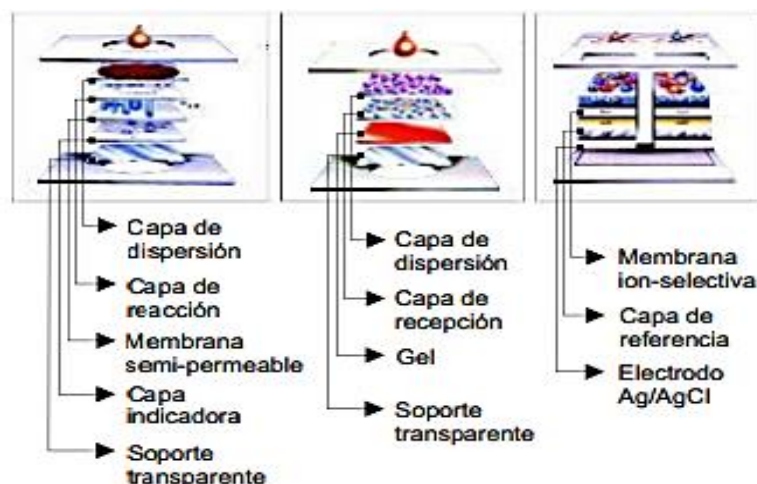


Figura 1. Estructura de las laminillas reactivas: colorimétricas, inmunométricas y potenciométricas (Johnson, 2014).

Para las pruebas químicas clínicas las laminillas reactivas típicas constan de cuatro capas y se clasifican de acuerdo a la función que cumplan.

**Capa dispersión.** Es una capa porosa que permite distribuir uniformemente la muestra además de funcionar como filtro, ya que no deja pasar moléculas como proteínas, lípidos, hemoglobina, o bilirrubina. Sirve también como pantalla para la reflexión de la luz.

**Capa de reacción.** Contiene sustancias que pueden ser enzimas o cualquier sustancia química, que se encuentra en condiciones muy controladas que intervienen en la reacción.

**Capa indicadora.** Contiene el colorante para formar un complejo colorido, que será proporcional a la concentración del analito, la cual se cuantifica por espectrofotometría de reflexión.

**Capa de soporte transparente.** Es la base de la laminilla donde están depositadas las demás capas. Está fabricada con un material de plástico transparente que permite que pase la luz para que la reacción pueda ser medida (Arenas, 2010).

Existe además algunas capas extras para pruebas específicas, como son:

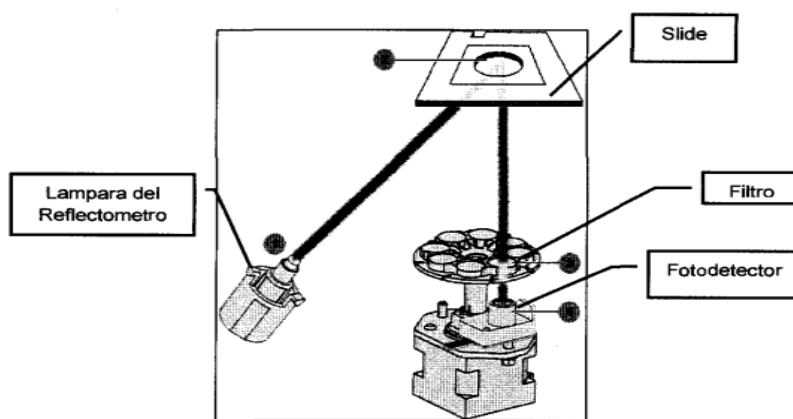
-Membrana semipermeable: Esta elimina interferencias y aumenta la especificidad. Se encuentra en las laminillas de BUN y de amonio.

-Capa depuradora: Esta capa forma compuestos con sustancias que interfieren en la reacción, como en el caso del ácido úrico, donde se utiliza ascorbato oxidasa para eliminar la interferencia del ácido ascórbico (Johnson, 2014).

Sin embargo presenta también ciertas desventajas como es: el costo por prueba más elevado que la química líquida y no es práctico para los laboratorios con gran carga de trabajo, ya que por cada laminilla reactiva se determina un analito (Alvarado, 2014).

El equipo de química seca ocupa para el análisis de las laminillas reactivas el método de espectrofotometría de reflectancia.

### 1.9 Espectrofotometría de reflectancia



Principio de Funcionamiento: Reflectancia

Figura 2. Principio del funcionamiento del método de química seca: espectrofotometría de reflectancia (ANMAT, 2006).

Es una metodología muy similar a la de absorbancia, pero la reacción química y la absorción de la luz se producen sobre una superficie en lugar de utilizar una solución (González, 2010).

Para efectuar el análisis en las laminillas reactivas, se utiliza la espectrofotometría de reflectancia, su proceso consiste en: Un pipeteador primario toma una punta, llevándola hasta la muestra para aspirar el fluido del recipiente, depositándola en la laminilla reactiva, para así comenzar a incubar.

Se efectúa la lectura de la muestra para verificar la integridad de esta. Posteriormente la laminilla se mueve al área donde se encuentra el reflectómetro, en el interior del sistema, un eje de luz proveniente de la lámpara del reflectómetro es dirigido a través de la capa de soporte transparente de la laminilla reactiva. La luz es absorbida parcialmente por el complejo del colorante en la capa de lectura o de difusión y, en seguida, es reflejada.

La cantidad de luz no absorbida por el complejo colorante es reflejada a través de un filtro, con una onda de longitud específico y, en seguida, regresa al fotodetector. La intensidad de la luz es transformada en una lectura de voltaje, la cual es convertida en una concentración de analito (ANMAT, 2006).

La espectrofotometría de reflectancia presenta diversas ventajas sobre las determinaciones habituales en el laboratorio. Físicamente, no es invasiva y además, requiere poca preparación de las muestras, adicionalmente es fácilmente automatizable, siendo más rápida y precisa que el método que utiliza la química húmeda, es altamente versátil ya que puede hacer determinaciones para una gran variedad de analitos y proporcionar una alta sensibilidad. Estas características mencionadas son muy útiles en los procesos de análisis y control de calidad (Botero, 2009).

## 1. 10 Analitos para el análisis de funcionamiento renal

### 1.10.1 Ácido Úrico

El ácido úrico es un compuesto nitrogenado procedente del catabolismo de las purinas, adenina y guanina (un componente básico del ácido ribonucleico [ARN] y ácido desoxirribonucleico [ADN]). Este compuesto se excreta en grandes cantidades por el riñón y en menor grado por el intestino. Cuando los niveles de ácido úrico son altos (hiperuricemia) es posible que el paciente tenga gota. Las causas de la hiperuricemia pueden ser la hiperproducción o la disminución de la excreción de ácido úrico. La hiperproducción de ácido úrico puede aparecer en pacientes con un déficit enzimático catabólico que estimula el metabolismo de la purina o en pacientes con cáncer en los que el metabolismo de la purina o el ADN es abundante (Rosales, 2014).

Cuadro 1. Valores biológicos de referencia de Ácido Úrico

Suero	Unidades convencionales (mg/dL ácido úrico)	Unidades SI ( $\mu\text{mol/L}$ ácido úrico)	Unidades alternativas (mg/dL ácido úrico)
Varones	3.5 - 8.5	208 - 506	35 – 85
Mujeres	2.5 - 6.2	149 - 369	25 – 62

Cuando el ácido úrico presenta niveles altos en la sangre se puede asociar a enfermedades como: gota, aumento de purinas, enziopatía genética congénita del metabolismo de las purinas, cáncer metastásico, mieloma múltiple, leucemia, un efecto de la quimioterapia anticancerosa, hemólisis, acidosis, hipotiroidismo, entre otras. Cuando el ácido úrico presenta niveles bajos en la sangre se puede asociar a enfermedades como: Enfermedad de Wilson, síndrome de Fanconi, intoxicación por plomo y atrofia amarilla del hígado (Deska, 2009).

La reacción en la determinación del ácido úrico, procede con el deslizamiento de la muestra en la capa reactiva, donde es oxidado en presencia de uricasa para formar alantoína y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno oxida un leucoderivado en presencia de peroxidasa para generar un pigmento coloreado, para después medir la densidad de reflexión del colorante por espectrofotometría de reflectancia (Kageyama, 1991).

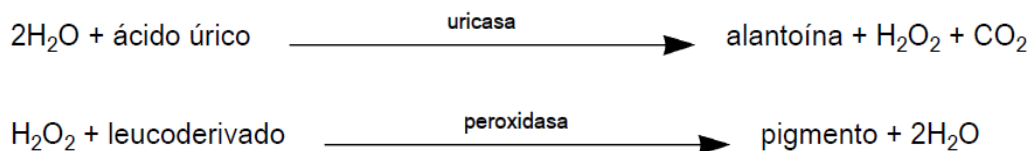


Figura 3. Esquema de la reacción del ácido úrico por el método de química seca (Tietz, 1987).

#### 1.10.2 Nitrógeno Ureico en sangre (BUN).

El nitrógeno ureico en la sangre (BUN) por sus siglas en inglés (Blood Urea Nitrogen) es la cantidad de nitrógeno circulando en forma de urea en el torrente sanguíneo. La urea es el principal producto de desecho de las proteínas, representando la forma mayoritaria de eliminación de nitrógeno. La urea presenta una gran solubilidad en agua; esta gran solubilidad permite que se filtre totalmente a nivel del glomérulo renal y que se difunda homogéneamente por todo el organismo.

La urea se sintetiza mayoritariamente en el tejido hepático, por un mecanismo cíclico llamado ciclo de la urea, donde intervienen los aminoácidos, ornitina y arginina. Esta síntesis tiene lugar a partir del amonio generado en el catabolismo proteico y de la acción de las bacterias intestinales sobre las proteínas de la dieta, al ser retirado de la circulación portal o el hígado. La urea se elimina por el riñón por un mecanismo pasivo de filtración a nivel glomerular. Dada la gran solubilidad de la urea, esta filtración es importante, siendo iguales las concentraciones de urea en el filtrado glomerular y en el plasma. Sin embargo, no toda la urea filtrada a nivel

glomerular es eliminada con la orina, solo un 30 a un 60 por ciento, siendo el resto reabsorbido a nivel tubular (Landry ,2011).

Los niveles plasmáticos de urea dependen principalmente de cuatro factores: la dieta, el metabolismo proteico, la función renal y la función hepática.

Cuadro 2. Valores biológicos de referencia del BUN

Suero	Unidades convencionales (mg/dL) de BUN	Unidades SI (mmol/L) de BUN	Unidades alternativas (mg/dL) de BUN
Varones	9 - 20	3.2 - 7.1	19 - 43
Mujeres	7 - 17	2.5 - 6.1	15 - 36

Los niveles elevados del nitrógeno ureico en sangre se asocian con enfermedades como: glomerulonefritis, shock, obstrucción de las vías urinarias, pielonefritis y otras causas de insuficiencia renal crónica Los niveles bajos de nitrógeno ureico se asocian normalmente con el embarazo, un descenso en la ingestión de proteínas, insuficiencia hepática aguda y con la administración intravenosa de líquidos (NCCLS, 2002).

La reacción en la determinación de BUN, procede con el deslizamiento de la muestra desde la capa difusora a las capas subyacentes. Con el agua y los componentes no proteicos reacciona con la ureasa generando amoníaco. La membrana semipermeable sólo permite el paso del amoníaco a la capa de pigmentación donde reacciona con el indicador para dar lugar a un pigmento, para después medir la densidad de reflexión del colorante por espectrofotometría de reflectancia (Kageyama, 1991).

La reacción que se presenta es:

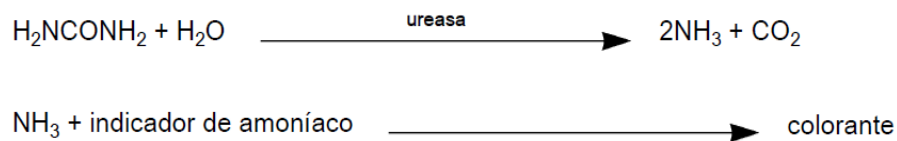


Figura 4. Esquema de la reacción de la urea por el método de química seca (CLSI, 2005).

### 1.10.3 Creatinina

La creatinina es un producto del catabolismo del fosfato de creatina, que se usa en la contracción del musculo esquelético. La producción diaria de creatina y, posteriormente, de creatinina, depende de la masa muscular que varía muy poco. La creatinina, al igual que en el caso del nitrógeno ureico en sangre (BUN), se elimina por completo por los riñones y, por tanto, es directamente proporcional a la función renal excretora. Si la función excretora renal es normal, el nivel sérico de creatinina debe permanecer constante.

Como la creatinina urinaria se excreta principalmente por filtración glomerular, apareciendo sólo pequeñas cantidades debidas a la secreción tubular, la excreción de creatinina sérica y de creatinina en orina de 24 horas puede utilizarse para calcular la tasa de filtración glomerular. La prueba sérica de creatinina se usa para diagnosticar la insuficiencia renal. El nivel sérico de creatinina posee la misma importancia que el nivel de BUN pero tiende a aumentar más tarde, lo que indica cronicidad de la alteración si hay un aumento de este analito (Myers, 2006).

Cuadro 3. Valores biológicos de referencia de creatinina

Suero	Unidades convencionales (mg/dL) de creatinina	Unidades SI ( $\mu\text{mol/L}$ ) de creatinina	Unidades alternativas (mg/L) de creatinina
Varones	0.66 - 1.25	58 - 110	6.6 -12.5
Mujeres	0.52 - 1.04	46 - 92	5.2 - 10.4



Los niveles elevados de creatinina en sangre se asocian con enfermedades como: glomerulonefritis, pielonefritis, necrosis tubular aguda, obstrucción de las vías urinarias, disminución del flujo renal, nefritis, o ingestas altas de carne, entre otros. Los niveles bajos de creatinina en sangre se asocian con enfermedades como debilitamiento y disminución de la masa muscular (Perazzi, 2011).

La reacción en la determinación de creatinina, procede con el deslizamiento de la muestra en la capa reactiva, donde es hidrolizada a creatina en el paso determinante de la frecuencia. La creatina amidinohidrolasa convierte la creatina en sarcosina y urea. En presencia de sarcosina oxidasa, la sarcosina es oxidada a glicina, formaldehído y peróxido de hidrógeno. La densidad de reflexión del colorante es proporcional a la concentración de urea en la muestra (Kageyama, 1991).

La reacción que presenta es:

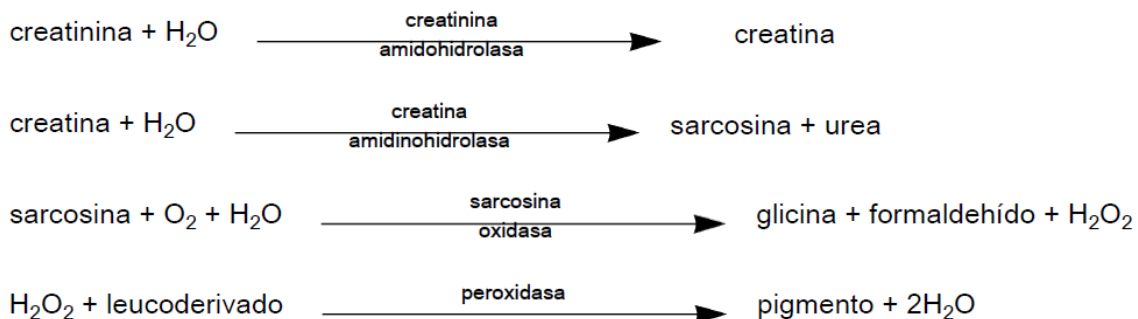


Figura 5. Esquema de la reacción de la creatinina por el método de química seca (Dumas, 1989).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 General

- Evaluar los parámetros de verificación del método de química seca para el análisis cuantitativo de las pruebas de urea, creatinina y ácido úrico en suero sanguíneo en base a las especificaciones indicadas por la EMA y el CENAM.

### 2.2 Específicos

- Evaluar la linealidad en la prueba de ácido úrico, urea y creatina por el método de química seca en suero sanguíneo, para la verificación con base a la EMA Y CENAM.
- Evaluar la precisión en la prueba de ácido úrico, urea y creatinina por el método de química seca en suero sanguíneo, para la verificación con base a la EMA Y CENAM.
- Evaluar la veracidad en la prueba de ácido úrico, urea y creatinina por el método de química seca en suero sanguíneo, para la verificación con base a la EMA Y CENAM.
- Evaluar la incertidumbre en la prueba de ácido úrico, urea y creatinina por el método de química seca en suero sanguíneo, para la verificación con base a la EMA Y CENAM.

### 3. METODOLOGÍA

#### 3.1 Materiales

- Pipeta volumétrica de 3 mL
- 1 Micropipeta
- Vaso de precipitado de 500 mL
- Puntillas
- Perilla automática
- Copillas
- Tubos eppendorf
- Gradilla
- Equipo de química seca VITROS 250

#### 3.2 Reactivos

- Calibradores kit 1 VITROS
- Laminillas reactivas (slides) de ácido úrico VITROS
- Laminillas reactivas (slides) de BUN VITROS
- Laminillas reactivas (slides) de creatinina VITROS
- Material de referencia DRM-263b patrón del Instituto Nacional de Patrones y Tecnología (NIST) SRM 912, 913, 914.
- Agua destilada
- Controles de referencia para ácido úrico, BUN y creatinina.

#### 3.3. Métodos

Para el análisis de linealidad, precisión y veracidad se utilizaron cartuchos de ácido úrico, urea y creatinina: Se retiraron los cartuchos del congelador, y se dejaron aproximadamente 60 minutos a temperatura ambiente, posteriormente se desarrollaron los cartuchos de su empaque y se cargaron en el tambor de

reactivos del equipo de análisis para la determinación de los parámetros antes mencionados.

### 3.3.1 Procedimiento para la evaluación del parámetro de linealidad

Para la evaluación de linealidad se realizó la reconstitución de los calibradores de concentración baja (1) y concentración alta (3) del kit 1. Se retiraron los calibradores del congelador, y se dejaron aproximadamente 60 minutos a temperatura ambiente. Se procedió a abrir el liofilizado y el diluyente. Se dispensó 3 mL con una pipeta volumétrica limpia y seca del diluyente apropiado a cada uno de los calibradores 1 y 3. Se volvió a colocar el tapón a cada uno de los viales dejándose en reposo por 15 minutos, y finalmente se mezclaron los viales reconstituidos hasta que tuvieron una apariencia homogénea.

Se preparó 1 mL de cada una de las 5 diluciones (como se muestra en el cuadro 4), de los calibradores de concentración baja (1) y concentración alta (3) del kit 1 que corresponden a la determinación de los analitos de ácido úrico, BUN y creatinina. Se depositaron 400 $\mu$ L en una copilla de cada una de las cinco diluciones en el rack de muestras del equipo de análisis de química seca, y se programó el equipo para el análisis de las muestras, haciendo cuatro replicas por cada dilución.

Se obtuvieron las medias de las concentraciones de cada disolución, como se indica en el cuadro 5, y se realizaron los cálculos para la cuantificación de errores en el intervalo reportable para cada analito (ácido úrico, BUN y creatinina) que son el sesgo (desviación) y el % de error como lo indica el cuadro 6.

Posteriormente se construyeron dos gráficas para cada analito: la primera con la media aritmética de las réplicas sobre el eje de las Y en función a la concentración del valor conocido de los calibradores sobre el eje X.

Finalmente, se comparó el sesgo (desviación) para cada dilución con el error permitido de cada analito, de acuerdo con la información del fabricante, donde el sesgo (desviación estándar) debe ser menor que al error permitido; a partir de esta comparación se tomó la decisión si es aceptado o rechazado.

### 3.3.2 Procedimiento para la evaluación del parámetro de precisión.

Se realizó la reconstitución del calibrador de concentración normal (2) del kit 1. Se retiró el calibrador del congelador, y se dejó aproximadamente 60 minutos a temperatura ambiente. Se procedió a abrir el liofilizado y el diluyente. Se dispensó 3 mL con una pipeta volumétrica limpia y seca del diluyente al liofilizado. Se volvió a colocar el tapón al vial dejándose en reposo por 15 minutos, finalizando con una mezcla del vial reconstituido hasta que tuvo una apariencia homogénea.

Para la evaluación de precisión, se realizó el examen por el método intradía del calibrador de concentración normal (2) del kit 1 previamente reconstituido, que corresponden al análisis de ácido úrico, BUN y creatinina. Se depositaron 400  $\mu$ L en una copilla y se colocó en el rack de muestra del equipo de análisis, se programó el análisis para cada analito (ácido úrico, BUN y creatinina) 20 veces en el transcurso del día.

Con los datos obtenidos de ácido úrico, BUN, creatinina y se calculó la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación expresado en porcentaje.

Se utilizó el criterio aceptabilidad de Enmiendas de Mejoramiento de Laboratorio Clínico, conocido como CLIA (por sus siglas en inglés, Clinical Laboratory Improvement Amendments) para el análisis intradía, el cual consiste en comparar el coeficiente de variación obtenido con un  $\frac{1}{4}$  del error total permitido de los valores de CLIA para ácido úrico, BUN y creatinina (Cuadro 4. Valores de CLIA).

Cuadro 4. Valores establecidos por CLIA para el rendimiento analítico aceptable

Analito	Rendimiento analítico aceptable	Criterio de aceptabilidad de precisión
Ácido Úrico	Valor objetivo ± 17%	4.25 %
BUN	Valor objetivo ± 9%	2.25 %
Creatinina	Valor objetivo ± 15%	3.75 %

### 3.3.3 Procedimiento para la evaluación del parámetro de veracidad

Se evaluó la veracidad en base a la valoración de un material de referencia certificado. Se reconstituyó, retirándose el vial del congelador, se dejó aproximadamente 30 minutos a temperatura ambiente y se mezcló el vial, hasta que tuvo una apariencia homogénea.

Se evaluó la veracidad por dos criterios:

a) Valoración por el cálculo del error relativo: Se depositó 100 µL del MR en una copilla para el análisis de ácido úrico, BUN y creatinina, la copilla se colocó en el rack y se programó el equipo de análisis para la determinación de cada analito.

El MR expresa su valor en concentración (mg/dL) de urea, por lo que se dividió entre el factor de 2.14 para poder ser expresado en relación al parámetro de BUN.

Se calculó el porcentaje de error relativo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de error relativo} = \left[ \frac{\text{Valor real} - \text{Valor de la medición}}{\text{Valor real}} \right] * 100$$

En base al criterio de aceptabilidad, se evaluaron los resultados obtenidos, es aceptado si, el error relativo es menor o igual al reportado por el fabricante, o en su defecto, el error relativo es inferior o igual a una quinta parte del error máximo

permitido establecido por CLIA. Si alguno de estos parámetros no se cumple, la veracidad es rechazada.

b) Valoración por el cálculo del porcentaje de recuperación: Se depositó 200 µL del MR en una copilla para el análisis de ácido úrico, BUN y creatinina, se programó 10 veces cada uno de los analitos (ácido úrico, BUN y creatinina) en el equipo de análisis. Al obtener el resultado se calculó la media para cada analito y el % de error relativo, con la fórmula:

$$\% \text{ recuperación} = \left[ \frac{\text{Valor obtenido}}{\text{Valor de referencia}} \right] * 100$$

Se evaluaron los resultados de cada analito, en base al criterio de aceptabilidad, el resultado debe presentar un valor menor o igual al reportado por el fabricante del instrumento para determinar que es aceptado o rechazado.

### 3.3.4 Procedimiento para la evaluación del parámetro de incertidumbre

Para la evaluación de incertidumbre, se consideró el caso a) que corresponde a la incertidumbre componente por componente. Se analizó la incertidumbre proveniente del calibrador del kit 1 de cada uno de los analitos (ácido úrico, urea y creatinina), información que fue solicitada al fabricante; con estos datos se calculó la incertidumbre típica, utilizando un valor de cobertura de  $k=2$ , correspondiente al 95% de confianza, con la fórmula:

$$U_c = \frac{U}{k}$$

Siendo;

U= La incertidumbre expandida

$U_c$ = La incertidumbre típica

K= Factor de cobertura

La concentración obtenida, se convirtió en porcentaje, para así, calcular la incertidumbre expandida.

Posteriormente, la incertidumbre de la medición fue calculada por la precisión interdiaria, para este cálculo se obtuvieron los valores de los controles de cada analito (ácido úrico, urea y creatinina) en un rango desde la calibración realizada al equipo de análisis hasta la calibración siguiente, se calculó la media, desviación estándar y el coeficiente de variación que corresponde a la incertidumbre estándar relativa.

Una vez calculadas las incertidumbres estándares de cada uno de los componentes, se calculó la incertidumbre estándar combinada con esta fórmula:

$$u_c = \sqrt{u^2_A(m) + u^2_B(m)}$$

$u^2_A(m)$  = Incertidumbre del calibrador del kit 1

$u^2_B(m)$  = Incertidumbre estándar relativa de la precisión intradía

Finalmente se calculó la incertidumbre expandida con un nivel de confianza del 95%, por lo que se multiplicó la incertidumbre estándar combinada por el factor de cobertura igual a 2, con la siguiente fórmula:

$$U = u_c \times k$$

Siendo el resultado de esta ecuación el resultado definitivo de cada valor de los analitos, después de redondear el valor de la incertidumbre expandida al mismo dígito significativo.

### 3.4 Diseño experimental



Cuadro 5. Disoluciones para la determinación de la linealidad de ácido, úrico, urea y creatinina.

Número de dilución	Proporción en volumen de la muestra 1	Volumen utilizado de la muestra 1	Proporción en volumen de la muestra 2	Volumen utilizado de la muestra 2
1	Usar sin diluir	1000 µL	0	0
2	3	750 µL	1	250 µL
3	2	500 µL	2	500 µL
4	1	250 µL	3	750 µL
5	0	0 µL	Usar sin diluir	1000 µL

Muestra 1 ( $M_1$ )= concentración baja preferentemente cercana a “cero”.

Muestra 2 ( $M_2$ )=concentración alta

Cuadro 6. Resultados de la concentración de las disoluciones respectivas de cada analito.

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

Cuadro 7. Cuantificación de errores en el intervalo reportable.

Número de dilución	Media de los valores de concentración (Y)	Valor teórico (X)	Sesgo (Desviación)	% Error
1	valor medio	$(M_1 \times 1) + (M_2 \times 0)$	$y_1 - x_1$	$[\text{sesgo}_1 / x_1] \times 100$
2	valor medio	$(M_1 \times 0.75) + (M_2 \times 0.25)$	$y_2 - x_2$	$[\text{sesgo}_2 / x_2] \times 100$
3	valor medio	$(M_1 \times 0.5) + (M_2 \times 0.5)$	$y_3 - x_3$	$[\text{sesgo}_3 / x_3] \times 100$
4	valor medio	$(M_1 \times 0.25) + (M_2 \times 0.75)$	$y_4 - x_4$	$[\text{sesgo}_4 / x_4] \times 100$
5	valor medio	$(M_1 \times 0) + (M_2 \times 1)$	$y_5 - x_5$	$[\text{sesgo}_5 / x_5] \times 100$

#### 4. RESULTADOS

##### Resultados de Linealidad

- Linealidad del parámetro de ácido úrico

En el cuadro 8 se presentan los resultados de las cinco diluciones que se realizaron con los calibradores de concentración alta y concentración baja, así como la media de las cuatro réplicas de cada disolución de ácido úrico.

Cuadro 8. Resultados de las concentraciones de las diluciones de Ácido úrico

Número de dilución	Resultados de la concentración				Media
	1	2	3	4	
1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
2	4.3	4.3	4.3	4.2	4.275
3	7.9	7.9	7.8	7.8	7.85
4	11.7	11.7	11.5	11.6	11.625
5	15.1	15.1	14.9	14.9	15

En el cuadro 9 se presenta la media de las concentraciones obtenidas de cada una de las cinco diluciones en comparación con su valor real. Se obtuvo el sesgo, observando que hay disminución conforme el número de dilución, así como el porcentaje de error del ácido úrico.

Cuadro 9. Cuantificación de errores en el intervalo reportable de ácido úrico.

Número de dilución	Media de los valores de concentración (Y)	Valor teórico (X)	Sesgo (Desviación)	% Error
1	0.6	0.7	-0.1	-14.28571429
2	4.275	4.65	-0.375	-8.064516129
3	7.85	8.6	-0.75	-8.720930233
4	11.625	12.55	-0.925	-7.370517928
5	15	16.5	-1.5	-9.090909091

La Figura 5, muestra la evaluación de linealidad del ácido úrico, presenta una gráfica lineal con los valores de las medias obtenidas y su valor teórico, Se presenta la ecuación de la recta determinando su pendiente, ordenada al origen, así como el coeficiente de determinación y el coeficiente de correlación que corrobora que la gráfica es lineal.

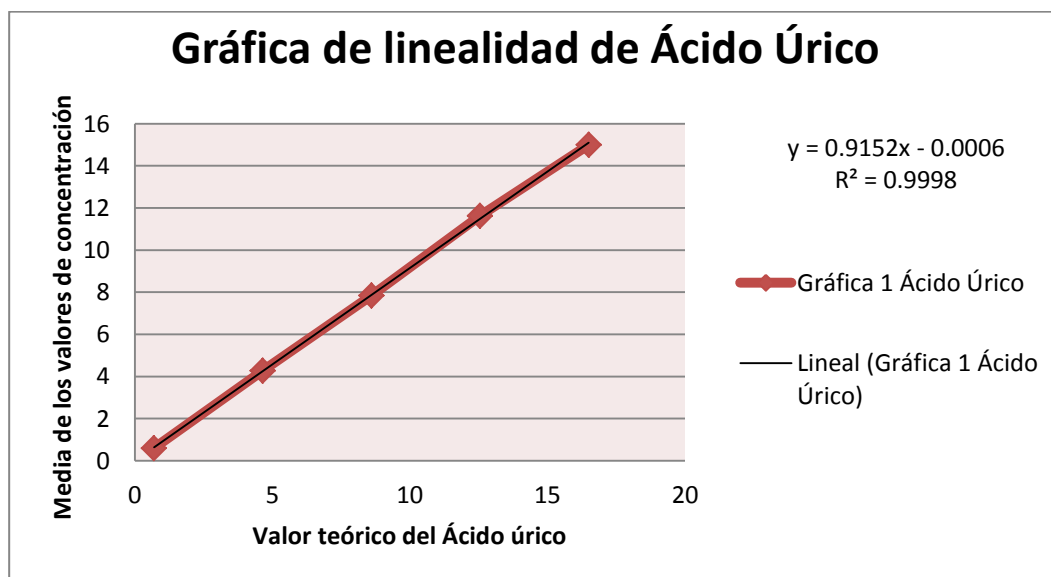


Figura 5. Gráfica de los valores obtenidos de cada dilución (mg/dL) en función de los valores teóricos del ácido úrico.

Ecuación de la recta de la gráfica de ácido úrico:  $y = 0.9152x - 0.0006$

m (pendiente) = 0.9152

b (ordenada al origen) = - 0.0006

Coefficiente de correlación = 0.9998

- Linealidad del parámetro de BUN

En el cuadro 10 se presentan los resultados de las cinco diluciones que se realizaron con los calibradores de concentración alta y concentración baja, obteniendo la media de las cuatro réplicas de cada disolución de BUN.

Cuadro 10. Resultados de las concentraciones de las diluciones de BUN.

Número de dilución	Resultados de la concentración				Media
	1	2	3	4	
1	4	4	4	4	4
2	30	29	29	29	29.25
3	56	56	55	56	55.75
4	83	84	82	83	83
5	112	111	109	109	110.25

En el cuadro 11 se presenta la media de las concentraciones obtenidas de cada una de las cinco diluciones en comparación con su valor real. Se obtuvo el sesgo, observando que disminuye conforme al número de dilución y aumenta porcentaje de error de BUN.

Cuadro 11. Cuantificación de errores en el intervalo reportable de BUN.

Número de dilución	Media de los valores de concentración (Y)	Valor teórico (X)	Sesgo (Desviación)	% Error
1	4	4	0	0
2	29.333333	31.75	-2.5	-7.874015748
3	56	59.5	-3.75	-6.302521008
4	83.333333	87.25	-4.25	-4.871060172
5	110.666667	115	-4.75	-4.130434783

La Figura 7, muestra la evaluación del BUN, presenta una gráfica lineal con los valores de las medias obtenidas y su valor teórico, Se presenta la ecuación de la recta determinando su pendiente y ordenada al origen, así como el coeficiente de determinación y el coeficiente de correlación que corrobora que la gráfica es lineal.

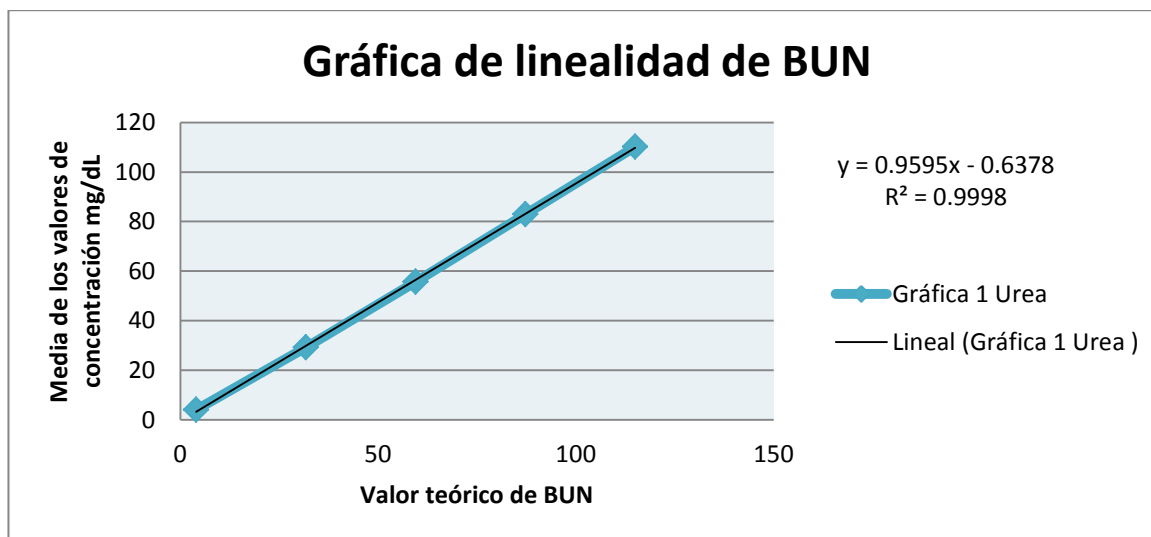


Figura 7. Gráfica de los valores obtenidos de cada dilución (mg/dL) en función a los valores teóricos de BUN.

Ecuación de la recta de la gráfica de BUN:  $y=0.9595x-0.6578$

m (pendiente) = 0.9595

b (ordenada al origen)=- 0.6578

Coefficiente de correlación= 0.999875269

- Linealidad de creatinina

En el cuadro 12 se presentan los resultados de las cinco diluciones que se realizaron con los calibradores de concentración alta y concentración baja, obteniendo la media de las cuatro réplicas de cada disolución de creatinina.

Cuadro 12. Resultados de las concentraciones de las diluciones de creatinina.

Número de dilución	Resultados de la concentración				Media del equipo
	1	2	3	4	
1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
2	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
3	6.9	6.9	6.9	6.8	6.875
4	9.9	9.9	10	10	9.95
5	12.9	13	12.9	12.9	12.925

En el cuadro 13 se presenta la media de las concentraciones obtenidas de cada una de las cinco diluciones en comparación con su valor real. Se obtuvo el sesgo observando una diferencia significativa en la dilución 5 y el porcentaje de error de la dilución 2 de creatinina.

Cuadro 13. Cuantificación de errores en el intervalo reportable de creatinina.

Número de Dilución	Media de los valores de concentración (Y)	Valor teórico (X)	Sesgo (Desviación)	% Error
1	0.5	0.5	0	0
2	3.5	3.675	-0.175	-4.76190476
3	6.86666667	6.85	0.025	0.364963504
4	9.93333333	10.025	-0.075	-0.74812968
5	12.93333333	13.2	-0.275	-2.08333333

La Figura 9, muestra la evaluación de creatinina, presenta una gráfica lineal con los valores de las medias obtenidas y su valor teórico. Se presenta la ecuación de la recta para determinar su pendiente, la cual presentando un valor cercado a la pendiente ideal ( $m=1$ ) y ordenada al origen, también cercana al valor ideal ( $b=0$ ), se calculó el coeficiente de determinación y el coeficiente de correlación que corrobora que la gráfica es lineal.

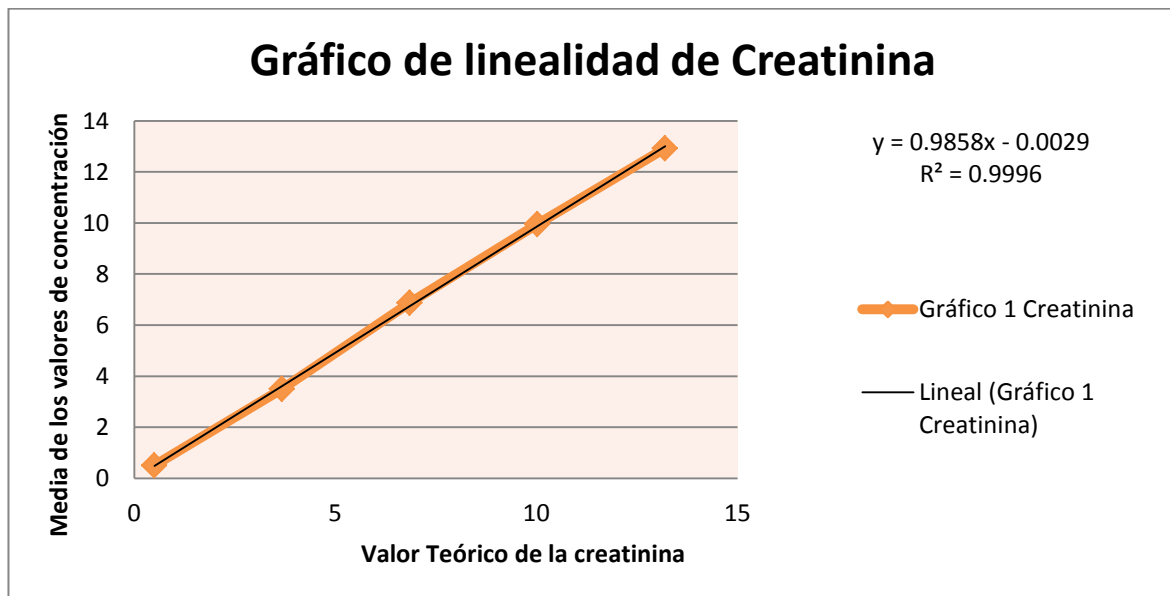


Figura 8. Gráfica de los valores obtenidos de cada dilución (mg/dL) en función a los valores teóricos de creatinina.

Ecuación de la recta de la gráfica 1 de creatinina:  $y=0.9858x-0.0029$

$m$  (pendiente) = 0.9858

$b$  (ordenada al origen)= -0.0029

Coeficiente de correlación= 0.99978444

- Precisión intradía de Ácido Úrico

Kit 1.Calibrador 2 concentración normal

Cuadro 14. Valores obtenidos de las repeticiones para el análisis de precisión del ácido úrico.



Número de Repetición	Valor de la concentración del calibrador 2
1	6.2
2	6.2
3	6.2
4	6.1
5	6.2
6	6.2
7	6.2
8	6.2
9	6.2
10	6.1
11	6.1
12	6.2
13	6.1

14	6.1
15	6.2
16	6.2
17	6.2
18	6.1
19	6.2
20	6.3
Promedio	6.175
Desviación Estándar (DE)	0.05501196
Coefficiente de variación CV (%)	0.00890882

El cuadro 14 presenta los valores de las concentraciones obtenidas de las veinte repeticiones del calibrador 2 de concentración normal, así como el cálculo del promedio, la DE, y el CV del ácido úrico.

Criterio de aceptabilidad acorde al fabricante:

Valor del inserto de ácido úrico = 0.02 mg/dL

La desviación estándar tiene que ser  $\leq$  al del valor del fabricante.

La desviación estándar obtenida de las veinte repeticiones del calibrador 2 es de 0.0550 mg/dL, el cual, no es menor o igual a 0.02 mg/dL, por lo tanto, es rechazada la precisión de ácido úrico por el fabricante:

Criterio de aceptabilidad acorde a CLIA:

Valor de CLIA=  $\pm$  17%

Fórmula de la precisión intraserial:

DE intraserial o DE intradía  $\leq 0.25$  ET (error total permitido)

Coefficiente de variación  $0.0089\% \leq 0.25$  ( $\pm 17\%$ )

Coefficiente de variación  $0.0089\% \leq 4.25\%$

El coeficiente de variación obtenido de las veinte repeticiones del calibrador 2 es de 0.0089% siendo menor a  $\leq 4.25\%$  del valor de CLIA por lo que es aceptada la precisión del ácido úrico.

- Precisión intradía de BUN

Kit 1. Calibrador 2 concentración normal

Cuadro 15. Valores obtenidos de las repeticiones para el análisis de precisión de BUN.

Número de Repetición	Valor de la concentración del calibrador 2
1	49
2	49
3	49
4	50
5	49
6	49
7	50
8	50
9	50
10	49
11	49

12	49
13	48
14	48
15	49
16	48
17	48
18	49
19	48
20	48
Promedio	48.9
Desviación Estándar	0.71818485
Coefficiente de variación	0.01468681

El cuadro 15. Presenta los valores de las concentraciones obtenidas de las veinte repeticiones del calibrador 2 de concentración normal, así como el cálculo del promedio, la DE, y el CV de BUN.

Criterio de aceptabilidad acorde al fabricante:

Valor del inserto de BUN = 0.5 mg/dL

La desviación estándar tiene que ser  $\leq$  al del valor del fabricante.

La desviación estándar obtenida de las veinte repeticiones del calibrador 2 es de 0.7181mg/dL, el cual, no es menor o igual a 0.5 mg/dL, por lo tanto, es rechazada la precisión de BUN por el fabricante.

Criterio de aceptabilidad acorde a CLIA:

Valor de CLIA=  $\pm 9\%$

Fórmula de la precisión intraserial:

DE intraserial o DE intradía  $\leq 0.25$  ET (error total permitido)

Coefficiente de variación  $0.01468\% \leq 0.25$  ( $\pm 9\%$ )

Coefficiente de variación  $0.01468\% \leq 2.25\%$

El coeficiente de variación obtenido de las veinte repeticiones del calibrador 2 es de 0.01468% siendo menor a  $\leq 2.25\%$  del valor de CLIA por lo que es aceptada la precisión de BUN.

- Precisión intradía de Creatinina

Kit 1. Calibrador 2 concentración normal

Cuadro 16. Valores obtenidos de las repeticiones para el análisis de precisión de creatinina.

Número de Repetición	Valor de la concentración del calibrador 2
1	1.5
2	1.5
3	1.5
4	1.5
5	1.5
6	1.5
7	1.5
8	1.5
9	1.5
10	1.5
11	1.5

12	1.5
13	1.5
14	1.5
15	1.5
16	1.5
17	1.5
18	1.5
19	1.5
20	1.5
Promedio	1.5
Desviación Estándar	0
Coficiente de variación	0

El cuadro 16 presenta los valores de las concentraciones obtenidas de las veinte repeticiones del calibrador 2 de concentración normal, así como el cálculo del promedio, la DE, y el CV de creatinina.

Criterio de aceptabilidad acorde al fabricante:

Valor del inserto = 0.009 mg/dL

La desviación estándar tiene que ser  $\leq$  al del valor del fabricante.

La desviación estándar obtenida de las veinte repeticiones del calibrador 2 es de 0.02 mg/dL, el cual, no es menor o igual a 0.009 mg/dL, por lo tanto, es rechazada la precisión de creatinina por el fabricante.

Criterio de aceptabilidad acorde a CLIA:

Valor de CLIA=  $\pm 15\%$

Fórmula de la precisión intraserial:

DE intraserial o DE intradía  $\leq 0.25$  ET (error total permitido)

Coficiente de variación  $0\% \leq 0.25$  ( $\pm 15\%$ )

Coefficiente de variación  $0\% \leq 3.75\%$

El coeficiente de variación obtenido de las veinte repeticiones del calibrador 2 es de 0% siendo menor a  $\leq 4.25\%$  del valor de CLIA por lo que es aceptada la precisión de creatinina.

❖ Veracidad

❖ Veracidad del Ácido úrico

a) Valoración por el cálculo del error relativo

Valor del Material de Referencia del ácido úrico = 5.64 mg/dL

Valor obtenido del Material de Referencia = 5.4 mg/dL

Error Máximo Permitido (EMP) por CLIA =  $\pm 17\%$

Error sistemático aceptable =  $\pm 3.5\%$

$$\% \text{ de error relativo} = \left[ \frac{5.64 - 5.4}{5.64} \right] * 100 = 4.255319 \%$$

El % de error relativo obtenido es de 4.255%, este valor es un valor mayor al permitido, por lo que se considera la veracidad del método es rechazada.

b). Valoración por el cálculo de porcentaje de recuperación.

Valor del Material de Referencia= 5.64 mg/dL

Cuadro 17. Valores obtenidos de las repeticiones para el análisis de veracidad de ácido úrico.

No. de análisis	Concentración
1	5.2
2	5.2
3	5.2
4	5.2
5	5.2

6	5.5
7	5.6
8	5.5
9	5.5
10	5.5
Media	5.36

El cuadro 17 presenta los valores de las concentraciones obtenidas de las diez repeticiones del MR, y la media de estos.

b) Valoración por el cálculo % de recuperación

Valor del Material de Referencia del ácido úrico= 5.64 mg/dL

Valor de la media obtenido del MR = 5.36 mg/dL

$$\% \text{ de recuperación} = \left[ \frac{5.36}{5.64} \right] * 100 = 95.03546\%$$

El % de recuperación es de 95.0354% el cual presenta un valor cercano a 100, lo que significa que tuvo una mayor cantidad de analito recuperado.

❖ Veracidad de BUN

a) Valoración por el cálculo del error relativo

Valor del Material de Referencia de urea= 33.2 mg/dL

Se dividió por el factor 2.14 para tener el valor de BUN

Valor del Material de Referencia de BUN= 15.514019 mg/dL

Valor obtenido del Material de Referencia = 15 mg/dL

Error Máximo Permitido (EMP) por CLIA = ± 9%

Error sistemático aceptable = ± 1.8%

$$\% \text{ de error relativo} = \left[ \frac{15.514019 - 15}{15.514019} \right] * 100 = 3.3132549 \%$$

El % de error relativo obtenido es de 3.313 %, este valor es un valor mayor al permitido, por lo que se considera la veracidad del método es rechazada.

b). Valoración por el cálculo de porcentaje de recuperación

Valor del Material de Referencia de BUN= 15.514019 mg/dL

Cuadro 18. Valores obtenidos de las repeticiones para el análisis de veracidad de BUN.

No. de análisis	Concentración
1	15
2	15
3	15
4	15
5	15

6	15
7	15
8	15
9	15
10	15
Media	15

El cuadro 18. Presenta los valores de las concentraciones obtenidas de las diez repeticiones del MR, y la media de estos.

$$\% \text{ de recuperación} = \left[ \frac{15}{15.514019} \right] * 100 = 96.711799\%$$

El % de recuperación es de 96.7117% el cual presenta un valor cercano a 100, lo que significa que tuvo una mayor cantidad de analito recuperado.

❖ Veracidad de Creatinina

a) Valoración por el cálculo del error relativo

Valor del Material de Referencia= 1.12 mg/dL

Valor obtenido del Material de Referencia = 1 mg/dL

Valor obtenido del Material de Referencia = 15 mg/dL

Error Máximo Permitido (EMP) por CLIA = ± 15%

Error sistemático aceptable = ± 3%

$$\% \text{ de error relativo} = \left[ \frac{1.12 - 1}{1.12} \right] * 100 = 10.714286 \%$$

El % de error relativo obtenido es de 10.714%, este valor es un valor mayor al permitido, por lo que se considera la veracidad del método es rechazada.

b). Valoración por el cálculo de porcentaje de recuperación

Valor del Material de Referencia= 1.12 mg/dL

Cuadro 19. Valores obtenidos de las repeticiones para el análisis de veracidad de creatinina.

No. de análisis	Concentración
1	1
2	1
3	1
4	1
5	1

6	1
7	1
8	1
9	1
10	1
Media	1



El cuadro 19 presenta los valores de las concentraciones obtenidas de las diez repeticiones del MR, y la media de estos

$$\% \text{ de recuperación} = \left[ \frac{1}{1.12} \right] * 100 = 89.2857\%$$

El % de recuperación es de 89.2857% el cual presenta un valor lejano a 100, lo que significa que tuvo una menor cantidad de analito recuperado.

- Incertidumbre

La concentración de ácido úrico, urea y creatinina se mide por el método de química seca por espectrofotometría de reflectancia, con una longitud de onda de 670 nm respectivamente. El ajuste se realizó con un calibrador 2 de concentración normal.

Para la evaluación de incertidumbre se consideró que, la variabilidad premetrológica es insignificante, la falta de conmutabilidad del calibrador, el redondeo de los resultados, el analista, así como las magnitudes de los componentes, no actúa como causa de incertidumbre; los únicos componentes de que fueron analizados para la medición son: La incertidumbre de medición del valor del calibrador y la precisión interdiaria para cada analito.

- Incertidumbre de ácido úrico

- ✓ Incertidumbre de medición del calibrador de ácido úrico:

Valor asignado del calibrador 2 concentración normal: 5.929mg/dL

Valor de incertidumbre expandida proporcionada por el fabricante:  $\pm 0.149$  mg/dL con un intervalo de confianza de 95%, siendo su factor de cobertura (k) =2.

$$U_c = \frac{0.149 \text{ mg/dL}}{2} = 0.0745 \frac{\text{mg}}{\text{dL}}$$

El valor de la incertidumbre típica en porcentaje es de 1.15%.

Precisión interdiaria: Se evaluaron los datos del control 1 en un intervalo de medición de una calibración a otra, se determinó el coeficiente de variación cuyo valor es igual a 5%, que corresponde a la incertidumbre estándar relativa debida a la precisión interdiaria.

A partir de estos datos se calculó la incertidumbre estándar combinada en porcentaje de ácido úrico:

$$u_c = \sqrt{(1.25)^2 + (5)^2} = 5.153\%$$

Posteriormente se calculó la incertidumbre expandida con un nivel de confianza del 95 %, teniendo un factor de cobertura igual a 2, con la siguiente formula:

$$U = u_c \times k = 5.153 \times 2 = 10.306\%$$

La incertidumbre de cada medición realizada de ácido úrico es  $\pm 10\%$ .

- Incertidumbre de BUN
  
- ✓ Incertidumbre de medición del calibrador de BUN:

Valor asignado del calibrador 2 concentración normal: 50.7695 mg/dL

Valor de incertidumbre expandida proporcionada por el fabricante:  $\pm 1.392$  mg/dL con un intervalo de confianza de 95%, siendo su factor de cobertura ( $k$ )=2.

$$U_c = \frac{1.392 \text{ mg/dL}}{2} = 0.696 \frac{\text{mg}}{\text{dL}}$$

El valor de la incertidumbre típica en porcentaje es de 1.370%.

Precisión interdiaria: Se evaluaron los datos del control 2 en un intervalo de medición de una calibración a otra, se determinó el coeficiente de variación cuyo valor es igual a 1.331%, que corresponde a la incertidumbre estándar relativa debida a la precisión interdiaria.

A partir de estos datos se calculó la incertidumbre estándar combinada de BUN:

$$u_c = \sqrt{(1.370)^2 + (1.331)^2} = 1.909\%$$

Posteriormente se calculó la incertidumbre expandida con un nivel de confianza del 95 %, teniendo un factor de cobertura igual a 2, con la siguiente formula:

$$U = u_c \times k = 1.909 \% \times 2 = 3.81\%$$

La incertidumbre de cada medición realizada de BUN es  $\pm 4 \%$ .

- Incertidumbre de creatinina
  
- ✓ Incertidumbre de medición del calibrador de creatinina:

Valor asignado del calibrador 2 concentración normal: 1.5299 mg/dL

Valor de incertidumbre expandida proporcionada por el fabricante:  $\pm 0.0399$  mg/dL con un intervalo de confianza de 95%, siendo su factor de cobertura ( $k$ )=2.

$$U_c = \frac{0.399 \text{ mg/dL}}{2} = 0.020 \frac{\text{mg}}{\text{dL}}$$

El valor de la incertidumbre típica en porcentaje es de 1.308%

Precisión interdiaria: Se evaluaron los datos del control 1 en un intervalo de medición de una calibración a otra, se determinó el coeficiente de variación cuyo valor es igual a 2.4 %, que corresponde a la incertidumbre estándar relativa debida a la precisión interdiaria.

A partir de estos datos se calculó la incertidumbre estándar combinada de creatinina:

$$u_c = \sqrt{(1.308)^2 + (2.4)^2} = 2.73 \%$$

Posteriormente, se calculó la incertidumbre expandida con un nivel de confianza del 95 %, teniendo un factor de cobertura igual a 2, con la siguiente formula:

$$U = u_c \times k = 2.73 \% \times 2 = 5.46\%$$

La incertidumbre de cada medición realizada de creatinina es  $\pm 5\%$ .

## 5. DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluaron los parámetros de verificación del método de química seca para el análisis de ácido úrico, urea y creatinina, empleando como referencia la “Guía de validación y verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico” publicado por la Entidad Mexicana de Acreditación (EMA, 2008); este documento establece los parámetros de precisión, veracidad, linealidad e incertidumbre, siendo fundamental para alcanzar la acreditación de un sistema de calidad bajo la norma ISO 15189.

Para la evaluación de la verificación, se inició con el análisis de precisión de cada analito, es decir, ácido úrico, BUN (urea) y creatinina. El estudio realizado fue en condiciones de repetibilidad, el cual incluye un mismo procedimiento, usuario del sistema analítico, sin calibraciones entre las mediciones, ni cambios de lotes de reactivos. Se efectuaron dos procedimientos: el primero fue basado en el criterio de aceptación del fabricante, analizando el calibrador dos, el cual nos proporciona la ventaja de que la muestra no presenta interferentes (hemólisis, ictericia, lipemia), contando con el volumen necesario para las determinaciones. Los resultados obtenidos no estaban dentro del parámetro que reporta el fabricante, por lo que se atribuye a que, al utilizar un calibrador como muestra puede presentar efecto de matriz, y así presentar una menor sensibilidad analítica de la concentración de los analitos a determinar, otro factor son las condiciones en el que fabricante evalúa los resultados, estos han sido obtenidos bajo circunstancias óptimas que no pueden compararse con la operatividad normal que cabe esperar cuando se analizan muestras de pacientes, representando el estado ideal de la tecnología con la que se ejecutan los estudios (Gella, 2011), éstas diferencias pueden ser la altitud, la temperatura que no es constante ya que el laboratorio no cuenta con un aire acondicionado y por consiguiente hay una mayor humedad, implicando el consumo de desecantes y humificantes de acuerdo al equilibrio que se necesite, lo cual modifica la reacción de los analitos, así como el deterioro del equipo. Otro factor es

que no se toma en cuenta la variabilidad biológica en el criterio del fabricante, haciendo que el rango sea menor, y no aceptables para los resultados emitidos.

El segundo procedimiento está basado en los criterios de ensayo de aptitud de CLIA, emitido por los Estados Unidos de América. Los parámetros están basados en la variabilidad tanto analítica como biológica, teniendo un rango más amplio en sus especificaciones; bajo este parámetro la precisión de ácido úrico, BUN y creatinina son aceptables, lo cual indica que el laboratorio cumple con una de las alternativas a evaluar aprobado por la EMA, teniendo linealidad bajo un criterio internacional.

Los resultados que emite el laboratorio clínico deben ser exactos, es decir, deben ser tanto precisos como veraces. Para la veracidad de este estudio se consideró ser evaluado por el cálculo de error relativo o sistemático y por el cálculo de porcentaje de recuperación, siendo su criterio de aceptabilidad el valor menor o igual al reportado por el fabricante, sin embargo, la comparación de estos valores no fue realizada bajo este concepto, debido a que el fabricante no disponía de esta información y por consiguiente no fue proporcionada. Por ello, se tomó la evaluación de veracidad mediante la utilización de materiales de referencia que emitió en el 2010, F.J. Gella Tomás y sus colaboradores del comité científico de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología molecular, ellos establecen el criterio de aceptabilidad considerando que el error sistemático es inferior o igual a la quinta parte del error máximo permitido, emitido por CLIA o por otra legislación que emita dicha información.

Se utilizó para el análisis de ácido úrico, BUN y creatinina un material de referencia de suero humano, caracterizado y certificado por el CENAM, bajo el criterio descrito, los resultados emitidos por el equipo de química seca no fueron aceptados. Esto se le atribuye a la presencia de conservantes y otros aditivos, así como el procesamiento del material de referencia, pudiendo emitir resultados irregulares. La estabilidad de este pudo ser otro factor, debido a que una vez

descongelados su rango de temperatura oscila entre 20°C- 25°C, y el laboratorio supera el parámetro establecido, siendo en ocasiones superado por los 30 °C, por último, la falta de conmutabilidad puede hacer que se detecte un error sistemático significativo.

En un futuro al evaluar este parámetro, se le recomienda al laboratorio emplear varios materiales de referencia con distintos valores, para poder descartar este factor, y establecer la temperatura entre 15°- 25°C como debe de ser en su infraestructura, para poder tener resultados más certeros.

La linealidad evaluada de ácido úrico, BUN y creatinina, fue analizada en base a la pendiente, siendo su valor ideal de 1, la ordenada al origen con su valor ideal igual a cero, así como el coeficiente de correlación indicando la veracidad de la recta con 0.99. Los valores emitidos en el análisis por el equipo de química seca, fueron muy cercanos a los valores antes mencionados. El ácido úrico presenta un sesgo menor conforme aumenta el número de dilución, teniendo el mismo comportamiento el BUN, y la creatinina presenta una desviación mínima. Estos analitos presentan una linealidad aceptable.

Para que en un futuro se pueda alcanzar una linealidad “ideal” en el laboratorio clínico, se sugiere calibrar cuando el sistema de medición lo necesite, siendo una ventaja de la química seca que la calibración sea cada seis meses, se constató que la calibración debe ser cuando el valor de los controles se salgan de rango o se hayan modificado las condiciones del equipo. Se le sugiere dar mantenimiento en su limpieza al equipo analítico ya que es de suma importancia para que no haya contaminación al momento de análisis y finalmente mantener una temperatura adecuada.

La incertidumbre fue evaluada, haciendo un análisis componente por componente. Los resultados obtenidos de ácido úrico, BUN y creatinina no son mayores a  $\pm 10\%$ , este valor se aplica para cada analito al valor de su concentración, por tanto, todas

las concentraciones de este tipo que se analicen con el método de química seca tendrán la misma incertidumbre, (CITAC, 2012). Los factores que se le pueden atribuir a su porcentaje de error son los cambios en las condiciones ambientales que tiene en el tiempo de realización del análisis, la estabilidad de la muestra y la calibración. No obstante que el parámetro de incertidumbre no tiene un criterio de aceptación o rechazo, al modificar estos factores, disminuiría considerablemente su valor estimado, teniendo un error mínimo, siendo los valores más fiables emitidos en el laboratorio.

Este trabajo es una vertiente para la detección de mejoras en el análisis del área de química sanguínea para el laboratorio en cuestión, su evaluación de los parámetros de verificación en el presente estudio es parte fundamental de la conformidad que considera el sistema de gestión de la calidad y competencia técnica, así como también lo es la validación, la competencia del personal, calibración y mantenimiento del equipo, aseguramiento de la calidad de los resultados, el manejo y el transporte en las etapas del proceso analítico; lo que conlleva a los criterios de evaluación actual de la acreditación de los laboratorios. Para la etapa de acreditación los laboratorios clínicos mexicanos se cuenta con guías gratuitas como es la “Guía para la Validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico”, utilizada en este estudio, permitiendo comprender, implementar y cumplir con los criterios establecidos, siendo más factible este proceso.

El interés así como la importancia de la acreditación de los laboratorios clínicos en base a la norma 15189 se está consolidando en México, buscando la sistematización y la confiabilidad de los sistemas de gestión de la calidad de los laboratorios clínicos, con requisitos internacionales de competencia técnica, reconocidos y adecuados para su operación, siendo responsable de esta evaluación la Entidad Mexicana de Acreditación. La acreditación de los laboratorios clínicos es respaldada por todos los reconocimientos regionales e internacionales en materia de acreditación siendo equiparable con las entidades de España



(ENAC), Canadá (SCC), Estados Unidos (ANAB) entre otras. Hasta el 2015, México cuenta con 81 laboratorios clínicos acreditados y en cuya meta se propusieron 135 al término de este, colocándose en segundo lugar en América, de los países que tienen un Acuerdo de Reconocimiento Mutuo con la Cooperación Internacional de Acreditación de Laboratorios (ILAC), siendo Canadá el primero con 184 laboratorios acreditados donde es obligatoria (Quintana S, 2015). A nivel mundial Rumania es el país que tiene el primer lugar de los laboratorios acreditados con 894, seguido de Alemania con 528 y 126 bancos de sangre.

Existe mucho por hacer por parte de los laboratorios en el proceso de acreditación, ya que los factores como la cuestión monetaria, la capacitación del personal, así como el libre albedrío que se le da a la importancia de este proceso, aunado a que en México es voluntario, disminuye trascendencia de este proceso, reflejándose en la calidad en los resultados emitidos a los paciente, sin embargo, empezar con un proceso de evaluación para verificar los analitos es el principio del camino para seguir el curso hasta alcanzar esta meta; para así, los laboratorios implementen una mejora continua, y por consiguiente fomentar una postura en los laboratorios de forma proactiva y no reactiva ante los criterios de aceptación y rechazo de los análisis que realizan.

## **6. CONCLUSIONES**

Se evaluaron los parámetros de verificación del método de química seca con la “Guía de validación y verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico” de los analitos de ácido úrico, BUN y creatinina, obteniendo un 50.03% con respecto al criterio de aceptación, siendo estos los parámetros de precisión en base al método de CLIA y la linealidad.

El estudio realizado logró conocer el grado de error, evaluado en un 49.97% respecto a los parámetros de precisión acorde al fabricante y la veracidad, por consiguiente da pauta a proponer un cambio para una mayor calidad en el análisis a realiza y así demostrar competencia técnica en función del cuidado y bienestar del paciente, se sugiere el monitoreo y control de una temperatura adecuada en el área donde se ejecutan los análisis, y este a su vez regularía la humedad, excluyendo en gran parte las alteraciones en las reacciones que se pudieran generar.

Implementar un control de calidad interno más riguroso para poder detectar los errores que se pudieran presentar, en las etapas (preanalítica, analítica y postanalítica) del laboratorio.

En la medida de lo posible participar en programas de evaluación de calidad externa, para así constatar el desempeño del laboratorio, permitiendo la identificación de desvíos y tendencias que en función del tiempo pudieran generar un rechazo, poniendo de esta forma en evidencia problemas potenciales, vinculados a la presencia de un error aleatorio, error sistemático o el error humano.

## 7. REFERENCIAS

**AENOR.** Asociación Española de Normalización y Certificación. Laboratorios clínicos - Requisitos particulares para la calidad y la competencia. UNE-EN ISO 15189:2003. Madrid: **2003**.

**Alvarado G.** Química seca. Instrumentación clínica. [monografía de internet] México. **2014**. [Consultado el 29 de Septiembre del 2015]. Disponible en: <https://prezi.com/mjiquek13xjls/quimica-seca/>

**Ambust, T., Korogyi, N., De Campos, F., Groom, B., Innanen, V.T.** Evaluation of the Beckman Synchron CX4 clinical chemistry analyser in a hospital laboratory. J. Clinical. Laboratory. **1990**. 4: 120-125.

**ANMAT.** Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Sistemas de Analizadores para Inmunodiagnósticos y accesorios Código de identificación y nombre técnico UMDNS: (ECRI) 15551- Analizadores de Química Clínica. **2006**; 12-13.

**Arenas Sordo M.** Bioacademia [monografía en internet] México. **2010** [Consultado 2014 Junio 28]. Disponible en: <http://www.bioacademia.com.mx/html/somos.html>

**Barnett, RN.** Medical significance of laboratory results. Am J Clin Pathol. **1968**. 50. 671- 676.

**Boqué R.** El límite de detección de un método analítico. Grupo de Quimiometría y Cualimetría. Rev. Universitat Rovira i Virgili, 2005: 4

Botero Herrera Juan Manuel. Determinación del Nivel Foliar de nutrientes mediante espectroscopia de reflectancia. Universidad Nacional de Colombia. 2009; 28-29

**Brambila E.** Trazabilidad de las mediciones analíticas. Validación vs verificación de los métodos analíticos, **2006**; 3-12.

**Bramblila E.** Validación y Verificación de Sistemas de Medición en el Laboratorio Clínico, **2012**; 1:15-19.

**Burnett D.** Una guía práctica para la acreditación del laboratorio clínico. Editado por el Comité de Publicaciones de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. **2002**: 109-114.

**Calderón** López Jorge. Gestión de Calidad en el Laboratorio Clínico. Norma ISO 15189. **1999**.

**Canalias** Reverter Francesca. El laboratorio clínico y los sistemas de gestión de la calidad. Educación continua en el laboratorio clínico. Departamento de Bioquímica Clínica y Biología Molecular. **2006**. 9:28-35.

**CENAM**, Métodos analíticos adecuados a su propósito. Guía de laboratorio para validación de métodos y tópicos relacionados. CNM-MRD-PT-030, **2008**.

**Cercenado** E., Cantón Rafael, Validación y verificación analítica de los métodos microbiológicos. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. **2013**. 48:18

**CITAC**/Guía Eurachem: Calificación de la incertidumbre en la medición analítica. 3ª edición. **2012**.

**CLIA** (Requirements for Analytical Quality). Westgard [monografía internet] Winconsin, USA. **2009** [consultado 2014 Junio 26]. Disponible en: <https://www.westgard.com/clia.htm>.

**CLSI**. Clinical and Laboratory Standards Institute. User verification of performance for precision and trueness; approved guideline. Second edition. CLSI document, EP15-A2. Wayne, PA, USA: CLSI; **2005**.

**CLSI**. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline; **2005**.

**De la Luz** A, Campos G, eds. Asesoría Biomédica/Tecnología. Química seca [monografía en internet]. México, D.F: Bioacademia ,**2010** [consultado 2015 enero 2]. Disponible en: <http://www.bioacademia.com.mx/miembros/tecnologia/0009.html>.

**Deska** PK. Guía de pruebas diagnósticas y de laboratorio. 8a. edición. Barcelona: Mosby, **2009**; vol. 17:11.

**Díaz** J, Fernández M., Paredes S. Aspectos básicos de bioquímica clínica. **1997**; 81-84: 90-91.

**Doumas** B. Differences Between Values for Plasma and Serum in Tests Performed in the Ektachem 700 XR Analyzer, and Evaluation of "Plasma Separator Tubes (PST)." **1989**; 35: 151–153.

**EMA.** Entidad Mexicana de Acreditación. Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico. **2008:** 14-31.

**Fernández A.** Manual y procedimientos de un sistema de calidad ISO 9001- 2000. Asturias: Centro para la calidad en Asturias. Instituto de fomento regional; **2002.**

**Fuentes A.,** Sánchez M., Guía para estimar la incertidumbre de medida en ciencias de laboratorio clínico. Bioquímica. **2002.**

**Gella Tomás.** Recomendaciones para la utilización de calibradores con trazabilidad metrológica en el laboratorio clínico. Química Clínica. **2005;** 24:474-6.

**Gella Tomás.** Especificaciones para la exactitud de los procedimientos de medida en el laboratorio clínico. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. **2011;** 12-14

**González A.** Principios de Bioquímica clínica y patología molecular, **2010;** 48.

**Guaraché, H.,** Rodríguez, N. Evaluación externa de la calidad en bioquímica clínica en laboratorios clínicos de Cumaná. Rev Facultad de Farmacia. **2003.** 45: 30-35.

**Guglielmone, Ricardo,** Elías, Rafael de, Kiener, Oscar, Collino, César, Barzón, Silvia. Verificación de métodos en un laboratorio acreditado y planificación del control de calidad interno. [monografía en internet] :Buenos Aires, Argentina: Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, **2011** [consultado: 2015 octubre 8]. Disponible en:<<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53521168012>> ISSN 0325-2957.

**Guzel O,** Guner E. ISO 15189 Accreditation: Requirements for quality and competence of medical laboratories, experience of a laboratory I. Clin Biochem **2009;** 42: 274–8

**Hernández Gutiérrez** Francisco J. Gestión de la Calidad en las organizaciones. Fundamentos y metodología. Suprema Corte de Justicia de la Nación, **2007;** 4.

**Imbernón JL,** García Alarcón P. El modelo de calidad de la Joint Commission International, Normas ISO. Manual de calidad asistencial. SESCAM- servicio de salud de Castilla la Manche **2009.** 559-581.

**IQC.** International Quality Certifications, Organización. Internacional para la Estandarización. [monografía en internet]. México. **2010.** [consultado 2015 Junio 17

Disponible en :  
[http://www.iqcmx.org/index.php?option=com\\_content&view=article&id=48&Itemid=54](http://www.iqcmx.org/index.php?option=com_content&view=article&id=48&Itemid=54).

**ISO/IEC 17025.** International Standard; General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. ISO/IEC. **2005**.

**Johnson & Johnson Medical S.A.**, ed. Ortho clinical Diagnostics. Tecnología VITROS, 25 años de innovación continua. [monografía internet] Buenos aires, **2014** [consultado 2015 enero 2]. Disponible en:  
[http://revistabioanalisis.com.ar/arxius/notas/nota7\\_22.pdf](http://revistabioanalisis.com.ar/arxius/notas/nota7_22.pdf)

**Kageyama N.** A Direct Colorometric Determination of Uric Acid in Serum and Urine with Uricase-Catalysts System. Clin. Chem, **1991**; 31:421

**Kirk, K., Mittino, M.** Desafíos en el laboratorio clínico. El camino del futuro. Rev Mex Patol Clin. **1997**.44:162-167.

**Landry DW, Basari H.** Approach to the with kidney disease. In: Golman L. Cecil Medicine. **2011**; 16:30

**Ley DC, Ezer S.** The development of an interlaboratory proficiency testing program for the province of Ontario. I. A preliminary survey of clinical chemistry. Clin Biochem. **1974**.7: 223-8.

**Loria, A.** Programa INS de control de calidad. V. Uso de una estrategia de programa externo/ interno. Rev Invest Clin. **1994**. 40: 317-323.

**Maldonado A.** ed. Fundamentos de calidad total [monografía en internet]. México. Academia independiente. **2015** [consultado 2015 Septiembre 12]. Disponible en:  
[https://www.academia.edu/10342102/FUNDAMENTOS\\_DE\\_CALIDAD\\_TOTAL](https://www.academia.edu/10342102/FUNDAMENTOS_DE_CALIDAD_TOTAL).

**Miller N. James, Miller C. Janes,** Estadística y Quimiometría para Química Analítica, **2002**; 104.

**Myers GL, Miller WG, Coresh J, Fleming J, Greenberg. N, Greene Tetal.** Recommendations for improving serum creatinine measurement: A report from the Laboratory Working Group of the National Kidney Disease Education Program. Clin Chem. **2006**; 52: 5-18.

**NCCLS.** Document EP6-A: Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline, **2003**.

**NCCLS.** Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline, **2002**.

**NMX-CC-9000-IMNC-2008.** Sistemas de gestión de la calidad- Fundamentos y vocabulario, **2008**.

**NMX-CH-152-IMNC-2005.** Gestión de la calidad - Satisfacción del cliente - Directrices para el tratamiento de las quejas en las organizaciones. **2005**.

**NMX-CH-5725-1-IMNC-2006.** Exactitud (veracidad y precisión) de resultados y métodos de medición, parte 1: Principios generales y definiciones. **2006**.

**NMX-EC-15189-IMNC-2015 / ISO 15189:2012.** Manual de procedimientos criterios de evaluación, **2015**.

**OAA.** Organismo Argentino de Acreditación. Guía para validación de métodos de ensayo. Septiembre. **2003**.

**OGA.** Oficina Guatemalteca de Acreditación. Política de selección y validación de métodos de ensayo. **2007**; 3-6

**Perazzi,** Beatriz, Angerosa, Margarita. Creatinina en sangre: calidad analítica e influencia en la estimación del Índice de Filtrado Glomerular. [monografía en internet] México. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana **2011**. [Consultado 2015 Octubre 10]. Disponible: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53521168003>.

**Pérez** Castorena Guevara-H, A, Cálculo de la incertidumbre asociada al resultado de la medición de glucosa, Bioquímica. **2002**; 107: 32-40.

**Plebani** M. Errors in laboratory medicine and patient safety: The road ahead. Clin Chem Lab Med. **2007**; 45:700-7.

**Quintana** S. Experiencia en la acreditación de laboratorios clínicos y banco de sangre en México. The Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. JIFC. **2015**; 24: 264-269

**Ródenas** de la R. ed. Gestión de Sistemas de Calidad en el Laboratorio de Análisis Clínicos [monografía en internet]. Madrid. Real Academia Nacional de Farmacia,

**2002** [consultado 2014 Agosto 16]. Disponible en: <http://www.analesranf.com/index.php/discurso/article/view/798/763>.

**Rosales R.** Ácido úrico. Universidad de los Andes. Programa de educación para la salud. **2014**. 1:4

**Sebastián, S.**; Agratti, G.; Ghisolfi, C.; Coniglio, S.; Galli, J.C.; Scilingo V. Verificación del Intervalo de Referencia. Stamboullian Laboratorio. **2014**.10

**Serrat Orús,** Procedimiento recomendado para el estudio de la linealidad de los procedimientos de medida en el laboratorio clínico. Sociedad Española de Bioquímica Clínica patología molecular. **2011**.

**Sierra A.** El laboratorio clínico y el control de calidad Bioquímica, **2006**; 30,40.

**SINCAL** (Servicios y sistemas integrales de capacitación y calidad) de S.A de C.V. Calidad en los laboratorios, **2015**.

**Terrés-Speziale, A.M.** Reingeniería de los programas de calidad para integrar los procesos de control analítico de relevancia médica. Rev. Mex. Patol.Clin. **2006**. 3.: 3-15.

**Theodorsson E.** Validation and verification of measurements methods in clinical chemistry. Bioanalysis. 4:305-320, **2012**.

**Tholen W,** Martin Kroll, J. Rex Astles, Albert L. Thomas M., Jan Krouwer, Fred Lasky. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. [monografía en internet] USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, **2012** [consultado: 2015 Septiembre 30] Disponible en: [http://shop.clsi.org/c.1253739/site/Sample\\_pdf/EP17A2\\_sample.pdf](http://shop.clsi.org/c.1253739/site/Sample_pdf/EP17A2_sample.pdf).

**Tietz N.** Fundamentals of Clinical Chemistry, **1987**; 684–686.

**Ventura Pedret, P.** Chueca Rodríguez. I. Rojo Vizcaíno. J.L. Castaño Vidriales. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Comité Científico. Comisión de Interferencias y Efecto de los Medicamentos **2007**: 26: 23-28

**Westgard O.** Basic Method Validation, **2003**; 29-30, 87-99, 111-122.

**Wetsgard, J. O.** The need for a system of quality standards for modern quality management. Scand J Clin Lab Investigation. **2003**. 59: 483- 486.



**Zamora P.** Verificación de la imprecisión empleando dos protocolos, **2011**; 180-185.