



REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS CLÍNICO
ASIGNATURA TRABAJO DE GRADO II



**DESEMPEÑO ANALÍTICO EN LA DETERMINACIÓN DE HEMOGLOBINA
GLICOSILADA EN LABORATORIOS CLÍNICOS PARTICIPANTES DEL
PROGRAMA DE EVALUACIÓN EXTERNA DE LA CALIDAD DE LA
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES**

bdigital.ula.ve

**Trabajo de Grado presentado como registro parcial para optar al título
de Licenciada en Bioanálisis**

Autor: Guillén Corona Yohana A.

Tutora: Prof. Karla B. Molina Pérez.

Mérida, Noviembre 2014

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico principalmente a Dios quien supo guiarme por el buen camino, darme la fuerza para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se me presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad y finalmente por permitirme haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mis padres, quienes a lo largo de mi vida han velado por mi bienestar y educación siendo mi apoyo, en especial tu mamita linda por todo el esfuerzo y sacrificio para brindarme todo el amor, la comprensión, el apoyo incondicional y la confianza en cada momento de mi vida.

A Anthony Jesús Castellanos por ser uno de los pilares para la culminación de mi carrera, que con su apoyo constante y amor incondicional ha sido amigo y compañero, fuente de sabiduría calma y consejo en todo momento.

A mis maestros que en este andar por la vida, influyeron con sus lecciones y experiencias en formarme como una persona de bien y preparada para los retos que me pone la vida.

A mi familia y a todas las personas de mi entorno que con una palabra, un pensamiento o una oración me desearon éxitos y prosperidad.

Yohana A Guillen C.

AGRADECIMIENTO

A Dios Todopoderoso por darme la oportunidad de vivir, brindándome la dicha de la salud, bienestar físico y espiritual, por iluminar mi mente, ser mi amparo, darme la fé y la fortaleza para seguir adelante y hacer palpable su amor a través de cada una de las personas importantes de mi vida.

A la Universidad de Los Andes por haberme aceptado ser parte de ella y abierto las puertas de su seno científico, así como también a los diferentes docentes que brindaron sus conocimientos y apoyo para seguir adelante día a día.

A mi tutora Lcda. Karla Molina por el tiempo dedicado, por su asesoría y dirección en el trabajo de investigación, gracias por compartir sus conocimientos y ser parte de mi crecimiento profesional.

A los jurados quienes estudiaron mi tesis y la aprobaron.

Yohana A Guillen C.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág
Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento.....	iii
Índice de Gráficos.....	v
Índice de Tablas.....	vi
Resumen.....	vii
Introducción.....	1
Hipótesis.....	15
Objetivos.....	15
Objetivo General.....	15
Objetivos Específicos.....	16
Materiales y Métodos.....	17
Población y Muestra.....	17
Variables.....	18
Variable Independiente.....	18
Variable Dependiente.....	18
Metodología.....	19
Resultados.....	30
Discusiones.....	42
Aportes de la investigación.....	48
Conclusiones.....	49
Recomendaciones.....	50
Referencias bibliohemerográficas.....	51
Anexos.....	57

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág
Gráfico 1. Estabilidad del material de control lote N° 9 en el tiempo.....	31
Gráfico 2. Comparación de la preparación del material de control lote 10 con tetracloruro de carbono y cloroformo.....	32
Gráfico 3. Determinación de Hemoglobina Glicosilada a una muestra sin diluir y diluida de un paciente sano.....	35
Gráfico 4. Aceptación de laboratorios invitados.....	37

bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág
Tabla I. Diagnóstico de Diabetes con hemoglobina glicosilada.....	2
Tabla II. Operacionalización de las Variables.....	18
Tabla III. Clasificación de los laboratorios según su desempeño analítico.....	29
Tabla IV. Estabilidad del material de control lote N° 9 en el tiempo.....	30
Tabla V. Comparación de la preparación del material de control lote 10 con tetracloruro de carbono y cloroformo.....	32
Tabla VI. Determinación de Hemoglobina Glicosilada al material de control 11 por dos métodos.....	33
Tabla VII. Determinación de Hemoglobina Glicosilada al material de control 11 por dos métodos, luego de disminuir su concentración.....	34
Tabla VIII. Determinación de Hemoglobina Glicosilada a una muestra sin diluir y diluida de un paciente sano.....	35
Tabla IX. Determinación de Hemoglobina Glicosilada utilizando dos equipos automatizados.....	36
Tabla X. Aceptación de laboratorios invitados.....	37
Tabla XI. Desempeño Analítico de la primera encuesta.....	38
Tabla XII. Desempeño Analítico de la segunda encuesta.....	39
Tabla XIII. Porcentaje de laboratorios con desempeño satisfactorio, cuestionable e insatisfactorio en la primera encuesta.....	40
Tabla XIV. Porcentaje de laboratorios con desempeño satisfactorio, cuestionable e insatisfactorio en la segunda encuesta.....	41

REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS CLÍNICO
ASIGNATURA TRABAJO DE GRADO II

DESEMPEÑO ANALÍTICO EN LA DETERMINACIÓN DE HEMOGLOBINA GLICOSILADA EN LABORATORIOS CLÍNICOS PARTICIPANTES DEL PROGRAMA DE EVALUACIÓN EXTERNA DE LA CALIDAD DE LA UNIVERSIDAD DE LOS ANDES

Autor: Yohana Guillén
Tutor: Karla Molina
Fecha: Noviembre, 2014

RESUMEN

Entre las pruebas de diagnóstico y seguimiento del paciente diabético, la más utilizada es hemoglobina glicosilada quien representa una herramienta importante y un buen marcador de complicaciones diabéticas; por lo que, el laboratorio clínico debe asegurar la confiabilidad de sus resultados. Con el objetivo de evaluar el desempeño analítico en la determinación de hemoglobina glicosilada en laboratorios clínicos participantes del PEEC-ULA, se realizó una investigación con enfoque cuantitativo y diseño experimental, en la cual, se preparó un material de control de matriz bovina. En la primera encuesta se invitaron 138 laboratorios clínicos, de ellos, sólo 7 aceptaron participar; en la segunda encuesta se invitaron 51 laboratorios, de los cuales, 18 respondieron. Una vez obtenidos los resultados de cada laboratorio se les calculó el desvío relativo porcentual y el Z score; además se calculó el coeficiente de variación interlaboratorio. Se logró preparar un control con estabilidad de un año. En la primera encuesta se observó un 42,8% de laboratorios con desempeño satisfactorio, y un 28,6% tanto para laboratorios con desempeño cuestionable como para desempeño insatisfactorio. Para la segunda encuesta se obtuvo un 27,8% de laboratorios con desempeño satisfactorio, un 5,6% con desempeño cuestionable y un 66,6% de laboratorios con desempeño insatisfactorio. Se obtuvo un bajo porcentaje de participación considerándose viable la transferibilidad de los resultados en algunos laboratorios. Concluyéndose que la mayoría de estos laboratorios deben mejorar su desempeño analítico en la determinación de hemoglobina glicosilada por lo que es fundamental continuar con Programas de Evaluación Externa de la Calidad.

Palabras claves: Desempeño analítico, Hemoglobina Glicosilada, Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Universidad de los Andes.

INTRODUCCIÓN

En el mundo hay más de 347 millones de personas con Diabetes; según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Diabetes se está convirtiendo en una epidemia, calculándose que las muertes aumentarán más de un 50% en los próximos 10 años. Así mismo, el Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS) de la República Bolivariana de Venezuela registró, según el anuario de mortalidad 2011; elaborado por la dirección de información y estadísticas de salud, adscrita a la dirección general de epidemiología, que la Diabetes es la cuarta causa de muerte. En el estado Mérida esta enfermedad según dicho anuario, ocupa el sexto lugar como causa de mortalidad (MPPS, 2011; OMS, 2012).

Con respecto a la Diabetes Mellitus (DM) es una enfermedad causada por un déficit absoluto o funcional de la insulina, que conduce al aumento de los niveles de glucosa en sangre. Es una condición clínica común que afecta aproximadamente al 7,6% de todos los adultos entre 30 y 69 años y el 0,3% de las mujeres embarazadas. Muchos esfuerzos se han dedicado a la aplicación de métodos de vigilancia y el desarrollo de terapias efectivas para su diagnóstico y control (Fabro & Kunde, 2006; Sikaris, 2009).

Es así que entre las pruebas de diagnóstico y seguimiento del paciente diabético, la más utilizada es la hemoglobina glicosilada, la cual es una herramienta importante para el control glucémico a mediano y largo plazo para personas con dicha patología (Glesby *et al.*, 2010; Weykamp *et al.*, 2009).

La hemoglobina glicada o glucada, también denominada Hemoglobina Glicosilada, hemoglobina glucosilada, glicohemoglobina, HbA_{1c} y más

recientemente conocida como hemoglobina A1C, es un compuesto menor de la hemoglobina normal del adulto y está compuesta por subgrupos. El subgrupo más importante es hemoglobina A1C, el cual sitúa glucosa fijada en forma irreversible a las cadenas β de la hemoglobina, se produce durante la vida del eritrocito y su síntesis depende del tiempo promedio de concentración de glucosa en sangre. Si las células jóvenes son expuestas a concentraciones extremadamente elevadas de glucosa (por ejemplo 400 mg/dL) durante varias horas, la concentración de hemoglobina glicosilada aumenta tanto en concentración como en tiempo de exposición. Por esta razón, los eritrocitos más maduros contienen mayor cantidad de hemoglobina glicosilada que los eritrocitos más jóvenes (Mckenzie, 2000; Rojano y col., 2007).

Por lo tanto, la hemoglobina glicosilada es una prueba considerada como la representante de la media global ponderada, que mide la cantidad de hemoglobina que se glucosila en la sangre (incluyendo ayunas y postprandial), y brinda un buen estimado del control glucémico durante los últimos dos a tres meses (Pimazoni *et al.*, 2009). Los valores de hemoglobina glicosilada para el diagnóstico de Diabetes se presentaran en la siguiente tabla.

Tabla 1. Diagnóstico de Diabetes con hemoglobina glicosilada

Prueba diagnóstica	Riesgo bajo de diabetes tipo 2	Riesgo aumentado de diabetes tipo 2	Diabetes mellitus tipo 2
Hemoglobina A1c	< 5.7 %	5.7 a 6.4 %	≥ 6.5 %

Fuente: Zamudio (2010).

La hemoglobina glicosilada fue descrita por primera vez en 1958 por

Huisman y Meyering, usando un método cromatográfico, en 1968 Bookchin y Gallop la caracterizaron como una glicoproteína. Se acredita en 1969 a Samuel Rahbar y otros el reconocimiento de la hemoglobina glicosilada como anormal en Diabetes, ha sido aceptada como un índice de control de la glucemia desde mediados de la década de 1970 y es el mejor marcador de complicaciones diabéticas microvasculares (Álvarez y col., 2009; Pimazoni *et al.*, 2009; Saudek & Brick, 2009).

En ese sentido, en 1975, Bunn y otros describieron las reacciones bioquímicas que llevan a cabo su formación, de hecho el vínculo entre la hemoglobina A y la glucosa es un tipo de glicosilación no enzimática, continúa, lenta e irreversible. Sin embargo, la primera fase de la reacción entre la glucosa y hemoglobina es reversible y se produce un compuesto intermedio llamado lábil HbA_{1c} ó pre-A1C. Los resultados de la segunda fase es un compuesto estable de tipo ketoamines, ya no es separable y es ahora conocida como hemoglobina glicosilada (Álvarez y col., 2009; Pimazoni *et al.*, 2009).

Por su parte, en 1976 Anthony Cerami, Ronald Koenig y otros propusieron el uso de la hemoglobina glicosilada para el monitoreo del control del metabolismo de la glucosa, en pacientes diabéticos. Los estudios de Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) y United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) mostraron la importancia de su uso en el seguimiento y control de la DM 1 y 2 (Álvarez y col., 2009). Siendo esta una de las pruebas utilizadas para el seguimiento y control del paciente con diabetes, el laboratorio clínico debe asegurar la confiabilidad de los resultados de dicha determinación.

Cabe destacar que los análisis que se efectúan en los laboratorios son cada vez más importantes para el diagnóstico clínico de individuos e

investigación epidemiológica de las poblaciones. En la actualidad el laboratorio clínico se ha convertido en un elemento imprescindible en la práctica de la medicina, de forma que no solo deben cumplir criterios de calidad analítica sino también tener relevancia clínica, aunque no están exentos de error en las diferentes etapas del procedimiento analítico (Méndez y col., 2007; Ramírez y col., 2006; Vives y Aguilar, 2006).

Dentro de los tipos de errores que se presentan en la etapa analítica se tienen: los errores aleatorios que generan imprecisión y los errores sistemáticos que producen inexactitud, los cuales afectan la confiabilidad de los resultados (Castaño y col., 2008; López, 2007). Es por eso que debe existir el aseguramiento de la calidad en un laboratorio clínico, puesto que involucra tanto el Control de Calidad Interno (CCI) o intralaboratorio, el cual permite monitorear la precisión interensayo y la presencia de errores sistemáticos, como la Evaluación Externa de la Calidad (EEC) la cual va dirigida a evaluar la exactitud y autenticidad de los mismos para permitir una comparación retrospectiva y objetiva de los resultados de los diferentes laboratorios en una o más muestras suministradas por un evaluador externo al laboratorio (López y col., 2009; Méndez y col., 2007). La exactitud es la concordancia entre el valor obtenido y el valor real, mientras que la precisión es la reproducibilidad de los valores (López, 2007).

El aseguramiento de la calidad tiene como objetivo garantizar la fiabilidad (exactitud y precisión) de las medidas que se realizan en el laboratorio e incide sobre todos y cada uno de los procesos que se desarrollan en el mismo de forma que la relevancia clínica del resultado es decir, su contribución al diagnóstico, tratamiento o prevención de una enfermedad quede siempre garantizada. Para ello se debe disponer de todos los medios adecuados para reconocer posibles errores y aplicar, en su caso, las medidas correctivas necesarias (Vives y Aguilar, 2006).

En todo laboratorio clínico se debe realizar un Control de Calidad Analítico con el objeto de garantizar que las prestaciones analíticas son aptas para los fines de su uso. El mismo consiste en la utilización de materiales de control y tratamiento estadístico de los resultados usados para el seguimiento y evaluación de los procedimientos analíticos realizados en las muestras de los pacientes. Los métodos estadísticos requieren: a) Pruebas regulares de control de resultados realizados al mismo tiempo con las muestras de los pacientes, b) Comparación de los resultados de los controles con los límites estadísticos especificados. Estos resultados pueden ser cuantitativos, semicuantitativos o cualitativos (Mazziotta y Correa citado en Fernández y Mazziotta, 2005).

Por sus características, modo de aplicación y evaluación de resultados, el control de calidad se clasifica en Control de Calidad Interno y Evaluación Externa de Calidad, ambos necesarios para la evaluación de las prestaciones de las pruebas de laboratorio (Mazziotta y Correa citado en Fernández y Mazziotta, 2005).

El Control de calidad interno se fundamenta en la introducción de materiales control de valores conocidos, utilizados al mismo tiempo y en paralelo con las muestras de los pacientes, con el propósito de evaluar la dispersión de los resultados. Siendo recomendable utilizar al menos dos viales control de distintos niveles de concentración para cada uno de los analitos (López, 2007). Por lo tanto el control de calidad interno es la suma de las técnicas y actividades que se utilizan para cumplir los requisitos de calidad del servicio, incluidas las mediciones, en su lugar de producción. Está dirigido a monitorear las mediciones y asegurarse de que sólo se informen resultados de mediciones confiables y que se eliminen causas de desempeño insatisfactorio (Boquet y col., 1995).

Por su parte, la Evaluación Externa de la Calidad es la evaluación de los laboratorios por medio de personal ajeno al propio laboratorio y al organismo del que depende, dicho evaluador puede ser gubernamental, profesional o comercial. Esta evaluación se realiza comparando los resultados de varios laboratorios que analizan los mismos especímenes, utilizan distintos métodos y/o instrumentos o sus estándares de ejecución para verificar si hay homogeneidad entre ellos (Boquet y col., 1995; Castaño y col., 2008; Valcárcel y Ríos, 1992).

Por tanto, la Evaluación Externa de la Calidad constituye un complemento imprescindible del Control de Calidad Interno, la cual se lleva a cabo a partir de un Programa de Evaluación Externa de la Calidad (PEEC) que es organizado por una agencia externa al laboratorio, el cual evalúa el desempeño analítico de los distintos laboratorios y los valores obtenidos por los mismos. Con dicho programa se puede: (a) Establecer el error sistemático característico de un método, (b) Especificar los métodos que existen en función de su nivel de calidad, (c) Escoger o descartar un método entre varios de acuerdo a su nivel de calidad y (d) Averiguar cuáles son los procedimientos más utilizados (Mariani y Sola, 2005; Vives y Aguilar, 2006).

Es importante destacar que uno de los objetivos que persigue el PEEC, es la evaluación continua y a largo plazo de los errores sistemáticos en los procedimientos de medida (Mariani y Sola, 2005). Para ello se envían muestras de control, las cuales deben ser analizadas como si fueran muestras de pacientes y posteriormente enviar los resultados al evaluador, el cual determina la exactitud de ésta y la dispersión entre los laboratorios (López, 2007; López y col., 2009).

En cuanto a los profesionales del laboratorio clínico cabe mencionar que son los responsables de que los estudios correspondan a la mejor

opción tecnológica para el diagnóstico del paciente y que los resultados sean precisos, exactos y oportunos como producto de la capacitación de los profesionales y de los programas de control de calidad interno y externo. Por ello se hace necesario que los laboratorios clínicos sean monitoreados mediante la utilización de materiales control, con el fin de evaluar el desempeño analítico en la determinación de los diferentes analitos.

Los materiales de control son esenciales para el Control de Calidad Interno y la Evaluación Externa de la Calidad. Diariamente, o con cada corrida analítica, deben incluirse una o más muestras control para determinar la calidad del proceso analítico. La principal característica que deben tener es la de parecerse lo más posible a las muestras de los pacientes, ya que los resultados obtenidos sobre los controles, se inferirá la fiabilidad de los resultados obtenidos sobre éstas (Boquet y col., 1995; Castaño y col., 2008; Mazziotta y Correa citado en Fernández y Mazziotta, 2005).

Es preferible adquirir materiales en cantidades suficientes para que duren un año, con lo que se monitorea a largo plazo. También es importante que sean de bajo costo ya que se utilizan en grandes cantidades. Los materiales de control se pueden clasificar de la siguiente manera: a) Material control de valor asignado que permite el control de la veracidad y la precisión y b) Material control sin valor asignado que permite el control de la precisión y de los cambios en veracidad (Boquet y col., 1995).

En principio todos los materiales de control, ya sean preparados por el laboratorio o comerciales, deben manipularse adoptando las medidas de bioseguridad universales en el manejo de material biológico potencialmente infeccioso. Es necesario leer atentamente las instrucciones del fabricante acerca de las condiciones necesarias para la reconstitución y las características de estabilidad (Mazziotta y Correa citado en Fernández y

Mazziotta, 2005).

En esta investigación se utilizó un material de control para hemoglobina glicosilada, el cual representa una herramienta importante como método de detección y seguimiento de la Diabetes Mellitus. Clínicamente, se utiliza hoy en día como una de las pruebas para evaluar el control glucémico en personas con dicha patología. En general, cuanto más alto sea el nivel de hemoglobina glicosilada mayor será el riesgo para el paciente de desarrollar complicaciones oculares, renales, vasculares y de los nervios periféricos.

El seguimiento periódico de los niveles de hemoglobina glicosilada proporciona una forma útil de documentar el grado de control del metabolismo de la glucosa en pacientes diabéticos, por lo que un menor nivel de glucosa en sangre conduce a una disminución de las tasas de morbilidad y mortalidad, por ende el mantenimiento y control de la glicemia es un objetivo para todos los pacientes con dicha enfermedad.

Las ventajas del uso de la hemoglobina glicosilada como prueba diagnóstica de la Diabetes Mellitus en comparación con determinaciones de glicemia son: (a) Posee una mayor repetitividad, (b) La toma de muestra no guarda relación con el ayuno, (c) No sufre grandes fluctuaciones, (d) Ofrece un mejor índice de exposición a altos niveles de glucemia, (e) También un excelente índice del riesgo de padecer complicaciones a largo plazo, (f) Tiene menor variabilidad biológica, así como menor inestabilidad pre-analítica, (g) Sus resultados se afectan discretamente en los procesos agudos que habitualmente alteran las cifras de glucemia, (h) Se utiliza con frecuencia como guía para modificaciones terapéuticas y pudiera ser utilizada para el despistaje de Diabetes Mellitus.

La utilización de muestras control de hemoglobina glicosilada que

puedan emplearse frecuentemente, permite que los resultados de la prueba realizada en los laboratorios clínicos sean confiables, reproducibles y exactos, de manera que sirvan para el diagnóstico y vigilancia clínica de los pacientes y también para la realización de estudios epidemiológicos. Además, si los laboratorios participan en un Programa de Evaluación Externa de la Calidad se puede monitorear la transferibilidad de los resultados.

En vista de que, los materiales de control para hemoglobina glicosilada son escasos y económicamente poco accesibles para su obtención por parte de la mayoría de los laboratorios clínicos de rutina, en esta investigación se planteó la siguiente interrogante:

¿Cuál será el desempeño analítico en la determinación de Hemoglobina Glicosilada en laboratorios clínicos participantes del Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Universidad de Los Andes?

Si bien es cierto, antes de 1950 existían pocos programas de control de calidad en los laboratorios clínicos; los cuales se realizaban para comprobar que los resultados fuesen exactos y precisos. Fue hasta 1947, cuando Belk y Sunderman revelaron una dispersión alarmante en los resultados analíticos de los diferentes laboratorios, lo que desencadenó un enorme interés por los métodos para la obtención de buenos resultados analíticos, desde entonces la calidad de los análisis ha aumentado en forma progresiva (Dharán, 1982).

Para los años 1969 -1973 el programa de valoración del Collage of American Pathologists (CAP), ejecutó un estudio basado en la determinación del coeficiente de variación medio para los análisis de calcio, colesterol, glucosa, potasio, sodio, urea y ácido úrico, donde se observó que los laboratorios que participan alcanzan mejoras definitivas en la precisión. Esto mostró que los laboratorios son conscientes de la calidad y están

esforzándose cada día para mejorarla (Dharán, 1982).

Debe señalarse que en Venezuela, el laboratorio Central del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social (MSAS), actualmente Ministerio del Poder Popular para la Salud, inicia en 1977 una Evaluación Externa de la Calidad en el área de Bioquímica Clínica con glucosa, urea y creatinina, enviando a los laboratorios dependientes del (MSAS) sueros controles ciegos, obteniéndose un bajo porcentaje de respuestas durante los años de su aplicación y revelando la poca utilización de los controles de calidad en los laboratorios (Ramírez y col., 2006). En este mismo año se introduce por primera vez en los laboratorios clínicos la medición del total de hemoglobina glicosilada para el control de la Diabetes (Garry *et al.*, 2007).

Por otro lado, en Argentina, la Fundación Bioquímica Argentina (FBA) desde 1987 ofrece el Programa de Evaluación Externa de la Calidad con el propósito de mejorar la calidad de los laboratorios de Análisis Clínico moderno. Dicho programa se ha transformado en la columna vertebral de todas las actividades dirigidas a aumentar la confiabilidad de la información que los laboratorios producen (Balado y col., 1998).

En Paraguay, para el año 1989 se realizaron los primeros estudios dirigidos a conocer el estado de calidad en Química Clínica, dichos estudios revelaron imprecisión en los resultados emitidos en un grupo de laboratorios de Asunción (Molina y col., 2003).

Adicionalmente, en 1997 el reporte del comité de expertos en Diabetes niega el uso de la hemoglobina glicosilada como diagnóstico de Diabetes Mellitus, en parte por la falta de precisión de la prueba en varios laboratorios y su pobre estandarización (Álvarez y col., 2009; Saudek & Brick, 2009).

Para el año 2003 el reporte del comité de expertos sugiere que, a pesar de que el Programa Nacional de Normalización de Glicohemoglobina (NGSP) tuvo éxito en la estandarización de la gran mayoría de los análisis realizados en Estados Unidos, el uso de la hemoglobina glicosilada todavía presentaba desventajas, y reafirmó la previa recomendación de no utilizarla en el diagnóstico de la Diabetes Mellitus (Álvarez y col., 2009).

En este mismo año, se realizó una Evaluación Externa de la Calidad en laboratorios clínicos de Mérida-Venezuela, en el cual se evidencia que en la determinación de triglicéridos los laboratorios participantes no obtuvieron exactitud ni precisión interlaboratorio, siendo los resultados no transferibles; mientras que para el colesterol total, si se obtuvo confiabilidad en los resultados obtenidos (López, 2007).

Durante el año 2007 Rojano y col realizaron una investigación con el objetivo de evaluar y conocer el desempeño analítico de los laboratorios mexicanos que realizaban determinaciones de hemoglobina glicosilada. Participaron 46 laboratorios nacionales, los cuales fueron clasificados por grupos de acuerdo a la metodología y equipos utilizados. A dichos laboratorios se les enviaron dos pool de sangre fresca, las cuales fueron analizadas por triplicado. Los resultados de hemoglobina glicosilada de cada laboratorio mostraron una alta imprecisión y fueron heterogéneos.

Por consiguiente esta investigación demuestra la necesidad de continuar monitoreando el desempeño de los laboratorios clínicos de México en hemoglobina glicosilada, con el fin de mejorar la calidad en el servicio otorgado a los pacientes.

En este mismo año Méndez y col realizaron la investigación titulada: Comparación de los resultados de pruebas de laboratorio seleccionadas de

un estudio poblacional de adultos mayores de Costa Rica, donde señala las diferencias en la medición entre laboratorios de siete biomarcadores (colesterol total, HDL, LDL, triglicéridos, glucosa, creatinina sérica y hemoglobina glicosilada). Para la valoración de los biomarcadores se seleccionó al azar las muestras de sangre/suero y orina de 20 participantes, y se enviaron a los distintos laboratorios clínicos en diferentes periodos de tiempo. En este estudio se encontró una alta estabilidad para casi todas las pruebas excepto creatinina sérica y hemoglobina glicosilada. Además se observó una mayor variabilidad en creatinina sérica y hemoglobina glicosilada.

Las diferencias observadas entre los distintos laboratorios refuerzan el concepto de la variabilidad dependiente tanto del analito como del paciente y del método de análisis. Por lo que, el control de calidad (interno y externo) y los ajustes periódicos son necesarios para verificar la calidad analítica y la relevancia clínica de los resultados. Así mismo los controles que se tienen en los laboratorios deberán garantizar la comparabilidad de los resultados, independientemente del fabricante, método de análisis o equipos utilizados para poder satisfacer las necesidades de evaluación médica.

Por otra parte, la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) y el grupo de trabajo de normalización de la hemoglobina glicosilada, han establecido un sistema internacional de medición de referencia y una exitosa preparación de material puro de calibración, que debería conducir a nuevas mejoras en el método y la variabilidad entre laboratorios. Se ha acordado informarla en unidades mmol/mol (IFCC) y porcentaje (NGSP) (Garry *et al.*, 2007).

Para el año 2008, el actual comité internacional de expertos mediante un examen actualizado de las mediciones de laboratorio de glicemia y

hemoglobina glicosilada, indica que con los avances en la instrumentación, estandarización, y precisión en la medición de la hemoglobina glicosilada concuerdan con la glicemia (Álvarez y col., 2009).

Por su parte Pimazoni *et al* en el año 2009 publicaron la siguiente investigación: Actualización sobre la hemoglobina glucosilada (HbA1c) para la evaluación del control glucémico y el diagnóstico de la Diabetes: clínicos y de laboratorio, la cual hace referencia a los laboratorios clínicos para que mantengan un programa de Control de Calidad Interno de hemoglobina glicosilada y establece como objetivo un coeficiente con desviaciones por debajo del 5%, aunque el porcentaje deseado es menos del 3%, por lo tanto el laboratorio debe utilizar dos niveles de muestras control para medir el rendimiento de la prueba, también recomienda que los laboratorios participen activamente en los programas de competencia, a fin de controlar la exactitud y calcular el error total.

Por otro lado Campuzano y Latorre publicaron en el 2010 una investigación titulada: La HbA1c en el diagnóstico y en el manejo de la Diabetes, la cual señala que la Diabetes se ha convertido en un problema importante para la salud pública. Desde que se descubrió la hemoglobina glicosilada, ésta ha sido el indicador más fiel para monitorear los pacientes diabéticos.

A partir de este mismo año la American Diabetes Association (ADA) la incorporó recientemente como el primer criterio diagnóstico de Diabetes en población sana como prueba de tamizaje y en pacientes con antecedentes familiares o sintomatología compatible con este diagnóstico.

Quizás, lo más importante es que el laboratorio clínico que haga la prueba garantice que lleva estrictos controles de calidad que le permitan

tener resultados con índices de variabilidad intralaboratorio menores de 2% e interlaboratorio menores de 3%. Los laboratorios deben hacer los cambios para alcanzar las metas de desempeño analítico que los mismos han establecido participando activamente en programas de calidad a nivel nacional e internacional.

Para el año 2011 Berg *et al* publicaron la investigación titulada: Hemoglobina A1C estandarizado para uso diagnóstico, en donde hizo referencia a los análisis de hemoglobina glicosilada como la ayuda más importante para evaluar el nivel de control de azúcar en sangre de un paciente con Diabetes a través del tiempo, pero requería de un análisis estandarizado de alta calidad. Para alcanzar los estándares globales y cumplir con una directiva en el diagnóstico in-vitro la IFCC estableció un grupo de trabajo para estandarizar la prueba de hemoglobina glicosilada. Un requisito importante era crear y describir una preparación de referencia y establecer métodos de referencia.

Dentro de este marco de ideas, los PEEC poseen una amplia trayectoria y su establecimiento en cada país de Latinoamérica ha sido considerado como el eje de las actividades desplegadas para la mejoría continua de la calidad en los laboratorios. De hecho en un grupo de países como Bolivia, Chile, Uruguay, República Dominicana, Argentina y Paraguay, se organizó una evaluación externa de la calidad, empleando materiales de control en dos niveles de concentración y calculando el coeficiente de variación interlaboratorial, lo que reveló resultados satisfactorios en cuanto a la precisión para los laboratorios de los países participantes (Ramírez y col., 2006).

Por ende es sumamente necesario que los laboratorios clínicos tomen acciones preventivas y correctivas para mejorar su desempeño analítico, en

la medida de sus posibilidades y a la brevedad posible migrar a metodologías certificadas (Rojano y col., 2007).

Es importante destacar que en el año 2006 se inicia un Programa de Evaluación Externa de la Calidad en la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes para 24 analitos de Bioquímica Clínica, luego para el 2009 se incluye el subprograma de hemoglobina y posteriormente para el año 2011 se adicionó el subprograma de orina. Dicho programa es ejecutado por el grupo de investigación en aseguramiento de la calidad y análisis clínico (Rodríguez, 2008).

Hoy en día, los materiales de control para hemoglobina glicosilada son poco accesibles, por lo que, si se prepara dicho material y se utiliza en un Programa de Evaluación Externa de la Calidad se espera, que los laboratorios clínicos participantes mejoren su desempeño analítico en la determinación de dicho analito.

Hipótesis

Se esperaría encontrar un alto porcentaje (%) de error al evaluar el desempeño analítico en la determinación de hemoglobina glicosilada, en laboratorios clínicos participantes del Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Universidad de Los Andes.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar el desempeño analítico en la determinación de hemoglobina glicosilada en laboratorios clínicos participantes del Programa de Evaluación

Externa de la Calidad de la Universidad de Los Andes.

Objetivos Específicos

- ✓ Preparar un material de control estable para la determinación de hemoglobina glicosilada.
- ✓ Invitar a los laboratorios clínicos a que participen en el Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Universidad de Los Andes.
- ✓ Valorar el desempeño de los laboratorios participantes del Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Universidad de Los Andes.
- ✓ Clasificar los laboratorios participantes según su desempeño analítico.

bdigital.ula.ve

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se desarrolló bajo un enfoque cuantitativo, ya que se realizó la recolección y el análisis de datos que toman valores numéricos; una investigación explicativa, aplicando un diseño experimental.

Por otra parte, cabe resaltar que esta investigación tuvo como alcance evaluar el desempeño analítico en la determinación de hemoglobina glicosilada a los laboratorios clínicos participantes del Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Universidad de Los Andes que emitieron resultados del material de control enviado.

Dentro de las limitaciones que presentó esta investigación fue la suspensión de actividades universitarias que causó la interrupción de la continuidad de los envíos de las encuestas lo que conllevó a la falta de motivación de los laboratorios participantes por un lado y por otro lado los laboratorios clínicos carecían de reactivos para la determinación de hemoglobina glicosilada, además de ser una prueba costosa, todo lo anterior trajo como consecuencia la baja participación por parte de los laboratorios.

Población y Muestra

La primera población estuvo representada por 138 laboratorios clínicos inscritos en el Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Universidad de Los Andes Mérida y la muestra estuvo constituida por 7 laboratorios que aceptaron participar y respondieron la primera encuesta.

La segunda población estuvo representada por 51 laboratorios clínicos inscritos en el programa y la muestra estuvo constituida por 18 laboratorios que aceptaron participar en el Programa de Evaluación Externa de la Calidad

de la Universidad de Los Andes Mérida y respondieron la segunda encuesta.

Variables

Variable Independiente: La participación de los laboratorios clínicos en el Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Universidad de Los Andes en la determinación de hemoglobina glicosilada.

Variable Dependiente: Desempeño analítico de los laboratorios clínicos participantes.

Tabla 2. Operacionalización de las Variables

Objetivos específicos	Variable	Dimensiones	Indicadores
✓ Preparar un material de control estable para la determinación de hemoglobina glicosilada	Estabilidad del control	Uso interno del PEEC	- Test de diferencia de medias intravial en el tiempo. (Test de Student). - Coeficiente de Variación Intravial
✓ Invitar a los laboratorios clínicos a que participen en el Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Universidad de Los Andes.	Participación de los laboratorios clínicos en el PEEC- ULA.	- Local - Regional	- Porcentaje de aceptación en relación al porcentaje de invitados.
✓ Valorar el desempeño de los laboratorios participantes del Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Universidad de Los Andes.	Desempeño de los laboratorios	Laboratorios participantes	- Coeficiente de Variación Interlaboratorio < 8.76 % (transferibilidad) - Desviación Relativa Porcentual en relación al valor

			de consenso. - Z score o índice de desviación estándar
✓ Clasificar los laboratorios participantes según su desempeño analítico.	Desempeño analítico	Laboratorios participantes	- Porcentaje de laboratorios con desempeño satisfactorio $DRP \leq 8,7\%$ y/o $Z \leq 2,0$ cuestionable $DRP \leq 15\%$ y/o $Z > 2,0$ y $< 3,0$ e insatisfactorio $DRP > 15\%$ y/o $Z \geq 3,0$.

Fuente: Datos obtenidos de la presente investigación.

Metodología

Los materiales de control para hemoglobina glicosilada tienen un elevado costo y su accesibilidad por parte de los laboratorios de análisis clínico es muy limitada, por lo tanto se pretende elaborar materiales de control menos costosos que puedan emplearse frecuentemente para incrementar la probabilidad de que cada resultado reportado por el laboratorio sea válido y pueda ser utilizado por el médico para tomar una decisión diagnóstica o terapéutica.

Para llevar a cabo la preparación de un material de control para la determinación de hemoglobina glicosilada, se utilizaron como donantes, bovinos sanos provenientes de la finca "El Joque" de la Universidad de los Andes, todos con serología negativa al antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), virus de la hepatitis C (VHC) y virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Obteniéndose muestras de sangre total, con una aguja para

extracción de 16 g, recolectándolas en bolsas estériles de tipo simple, diseñadas para tal fin, con anticoagulante CPDA-1 (citrato-fosfato-dextrosa-adenina), de material plástico PL-146 y una capacidad de 450 ml cada una.

Con estas muestras el personal que trabaja con el programa, preparó un material de control designado como lote N° 9 que fue utilizado para llevar a cabo la primera encuesta del Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Universidad de Los Andes. Posteriormente se evaluó la estabilidad mediante el envío de muestras del envasado lote N° 9 a tres laboratorios clínicos que ya habían hecho la determinación de hemoglobina glicosilada a este mismo lote.

Una vez obtenidos los resultados se determinó la estabilidad por medio del test de Student para muestras relacionadas, al confrontar las primeras tres determinaciones realizadas al material de control lote N° 9 y las últimas tres determinaciones de los mismos un año después. El cálculo de dicho test se realizó utilizando el paquete estadístico spss versión 19 y el coeficiente de variación intravial (CVi) se calculó aplicando la siguiente formula:

$$CVi = \frac{DE}{\bar{X}} \times 100$$

Posteriormente se preparó otro material de control designado lote N° 10 para la determinación de hemoglobina glicosilada. La preparación de dicho lote se realizó tomando como base la metodología descrita por Fink y col., en el año 1997, realizándose algunas modificaciones en el procedimiento. Los pasos llevados a cabo para su preparación se enumeran a continuación:

- 1.- Se sacaron las bolsas de sangre de la nevera y se colocaron a temperatura ambiente durante varias horas. Pasado el tiempo se procedió a

trasvasar la sangre anticoagulada a tubos de ensayo y posteriormente se centrifugaron a 2500 rpm por 10 minutos, separando asépticamente el plasma de la capa blanca.

2.- Luego se procedió a lavar con solución salina fisiológica (NaCl 9g/l) centrifugando a 2500 rpm por 10 minutos, se repitió este paso dos veces más para un total de tres lavados, con la finalidad de asegurar la completa eliminación del plasma, los leucocitos y las plaquetas, separando la capa superior del paquete de eritrocitos en cada lavado.

3.- Se añadió a los eritrocitos lavados 3 ml de agua destilada (agitándose para favorecer la hemolisis) y 3 ml de tetracloruro de carbono (CCl_4) a un material de control A y 3 ml de cloroformo a un material de control B, se ajustó la tapa de los recipientes y se procedió a agitarlos vigorosamente en un agitador mecánico durante 1 hora. Se dejaron en refrigeración durante la noche para que los desechos de lípidos y células formaran una interfase semisólida entre el CCl_4 , cloroformo y el lisado.

4.- Al siguiente día, se centrifugaron a 2500 rpm durante 20 minutos; separando las capas superiores de lisado en tubos de ensayo y volviendo a centrifugar a 3000 rpm durante 1 hora.

5.- Luego utilizando dos cilindros graduados se procedió a medir el volumen del material de control A preparado con CCl_4 y del material de control B preparado con cloroformo. Se trasvasaron por separado a un Erlenmeyer limpio.

6.- Por cada 70 mL de lisado, se añadieron 30 mL de glicerol. Después se agregaron los antibióticos (25-50 mg de penicilina y 25-50 mg de gentamicina por cada 500 mL de material) para ambos materiales de control.

7.- Agitando continuamente, se distribuyó asépticamente el material de control A en alícuotas de 1000 μ L en los tubos eppendorf estériles, tapándose y sellándose con papel parafilm y el material de control B se guardó en el Erlenmeyer. Ambos materiales se conservaron a 4 °C hasta su utilización. El material de control A lote N° 10 alicuotado se usó para la segunda encuesta del PEEC- ULA.

Por otra parte, con la intención de realizar otro envío, se preparó un material de control N° 11 siguiendo la metodología anteriormente descrita para la preparación del material de control A lote N° 10. Una vez listo se colocó 1000 μ L en un tubo eppendorf estéril y se envió a un laboratorio clínico para que realizara la determinación de hemoglobina glicosilada tanto manual (anexo N° 1) como automatizado empleando el NycoCard, esto con la finalidad de conocer el porcentaje de hemoglobina glicosilada antes de hacer el envío a los laboratorios participantes del PEEC.

Una vez conocidos los resultados se decidió obtener una concentración menor de este material de control, preparando diluciones cuyos factores de dilución fueron: 1/2 y 1/6 respectivamente. Dichas diluciones se enviaron al laboratorio clínico para que realizara la determinación por NycoCard. Seguidamente se procedió a realizar las determinaciones de hemoglobina glicosilada del material de control sin diluir, 1/2 y 1/6 por el método manual (anexo N° 2), utilizando para la medición el equipo Metrolab 1700 DR aplicando el siguiente protocolo:

Etapas 1: Hemolisis

a.- Se adicionaron 500 μ L de lisante en tubos de ensayo previamente rotulados como patrón y muestra.

b.- Luego se le añadió 100 µL de muestra y 100 µL de patrón, y se procedió a mezclar por 5 minutos a temperatura ambiente.

Etapa 2: Determinación de Hemoglobina Glicosilada (HbA₁)

a.- Seguidamente se añadieron 100 µL del hemolizado de la etapa 1 en el correspondiente tubo con la resina, y se colocó el tubo separador de forma tal que el émbolo de goma quedara a 1 cm por encima del nivel del líquido.

b.- Se mezcló durante 5 minutos y luego se empujó el separador hasta que la resina se comprimió en el fondo del tubo y el líquido sobrenadante quedo dentro del separador.

c.- Se trasvaso el líquido sobrenadante a un tubo de ensayo para su posterior medición.

Etapa 3: Determinación de la hemoglobina total

a.- Consecutivamente se pipeteó 20 µL del hemolizado de la etapa 1 y se añadieron a 5000 µL de agua destilada contenida en tubos de ensayo rotulados como muestra y patrón.

b.- Por último se ajustó el instrumento a cero usando agua desionizada como blanco a una longitud de onda de 415 nm y se procedió a leer las absorbancias para el patrón y las muestras. Para calcular el contenido de Hemoglobina Glicosilada se aplicaron las siguientes fórmulas:

$$F = \frac{A_{\text{Hb total (patrón)}} \times \% \text{ HbA1 (patrón)}}{A_{\text{HbA1 (patrón)}}$$

$$\% \text{ HbA1 (muestra)} = F \times \frac{\text{A HbA1 (muestra)}}{\text{A Hb total (muestra)}}$$

Con la finalidad de conocer el valor de hemoglobina glicosilada se tomó la decisión de enviar una muestra de este material de control preparado a otro laboratorio clínico para que realizara dicha determinación utilizando el equipo DCA 2000 Bayer cuyos límites de detección son más bajos que el NycoCard.

Por otra parte, con el propósito de corroborar que el método manual aparentemente no agarraba dilución y no era una interferencia del material de control preparado se extrajo una muestra de sangre a un paciente sano mediante el siguiente procedimiento:

- 1.- Se preparó todo el material, incluido el tubo tapa lila, algodón, alcohol, jeringa, torniquete y guantes.
- 2.- Antes de realizar la punción se escogió la vena de mayor calibre, para ello se colocó el torniquete 5 cm por arriba del sitio seleccionado, para visualizarla mejor.
- 3.- Una vez escogida la vena a puncionar se procedió a descontaminar el área con alcohol al 70% utilizando algodón con movimientos circulares del interior al exterior.
- 4.- Luego se colocó la punta de la aguja en un ángulo de 15 a 30 grados sobre la superficie de la vena escogida y se atravesó la piel con un movimiento firme y seguro hasta el lumen de la vena.
- 5.- Sosteniendo firmemente la jeringa se jalo el embolo con movimiento

continuo para extraer la sangre hasta el volumen requerido.

6.- Se retiró el torniquete para que la sangre fluyera mejor.

7.- Seguidamente se removió la aguja del brazo con movimiento suave, al terminar de colectar la sangre; sin apretar el área de punción se colocó un algodón sin ejercer presión.

8.- Por último se llenó el tubo tapa lila con un volumen de 4 mL, se mezcló unas 5 veces, se descartó la jeringa y aguja en un contenedor apropiado.

Luego a dicha muestra se le realizó una dilución cuyo factor fue 1/2, consecutivamente se efectuó la medición de hemoglobina glicosilada de la muestra del paciente sin diluir y diluida por método manual utilizando el Metrolab 1700 DR, aplicando el protocolo descrito anteriormente.

A continuación se le agregó a dos tubos eppendorf estériles previamente rotulados, 300 μ L de muestra del paciente, los cuales fueron enviados a dos laboratorios clínicos: uno para que realizara la determinación de hemoglobina glicosilada por NycoCard; y el otro laboratorio utilizara para su determinación el DCA 2000 Bayer con el propósito de asegurarnos del valor de hemoglobina glicosilada del paciente sano utilizando dos equipos automatizados más específicos para hemoglobina glicosilada que el método manual.

Una vez obtenido el material de control lote N° 9 se procedió a invitar 138 laboratorios clínicos a nivel local, regional y nacional para que participaran en el Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Universidad de Los Andes subprograma de hemoglobina glicosilada.

La primera encuesta se realizó mediante el envío de un sobre manila previamente identificado con el código de cada laboratorio, el cual contenía: un tubo eppendorf etiquetado como hemolizado lote N° 9, una planilla de inscripción (anexo N° 3), una planilla de resultados (anexo N° 4), y una tabla de códigos de hemoglobina glicosilada (anexo N° 5). Dicho sobre se entregó personalmente a los laboratorios cercanos y a los que estaban fuera de la región se les envió por MRW.

Sin embargo para no perder tanto material de control se decidió para la segunda encuesta enviar el lote N° 10 a los 51 laboratorios que más responden el PEEC, aplicando el mismo protocolo de la primera encuesta. Es importante destacar que durante la aplicación de esta encuesta se realizó un seguimiento vía telefónica y personalizada a los laboratorios con el propósito de aumentar la participación de los mismos.

Los laboratorios clínicos que aceptaron participar en dichas encuestas se encuentran inscritos en el referido programa, a través de un código de identificación confidencial asignado a cada uno por el Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Universidad de Los Andes.

Una vez obtenidos los resultados de cada laboratorio participante se procedió a realizar el análisis estadístico de los mismos calculándose la media (\bar{X}), la desviación estándar (DE), el coeficiente de variación interlaboratorio (CVi, transferibilidad) que evalúa la dispersión entre los laboratorios participantes, el desvío relativo porcentual (DRP) el cual no es más que la expresión porcentual de la dispersión del resultado del laboratorio con respecto al valor consenso (López, 2007). Y el Z score o puntuación Z que se realiza expresando el desvío del resultado del laboratorio con respecto al valor consenso expresado en número de desviación estándar. Cuando se realiza este sistema de puntuación, es muy importante conocer el

valor de la desviación estándar utilizada en el cálculo, ya que si es muy grande, entonces se admitirán como aceptables desvíos que pueden llegar a ser inaceptables desde el punto de vista analítico (Correa citado en Fernández y Mazziotta, 2005).

Por otro lado, el informativo PEEC 2013 del Instituto de Salud Pública de Chile señala que para evaluar el desempeño se utiliza la escala del Z score o Índice de Desviación Estándar (IDE), como valor absoluto establecida por la norma ISO 17043, la cual es definida como una estimación del desempeño con respecto a los laboratorios participantes.

A través de estos parámetros se valoró el desempeño de los laboratorios participantes del Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Universidad de Los Andes en el subprograma de hemoglobina glicosilada en la primera y segunda encuesta.

Para decir que había la posibilidad de transferibilidad (armonización) de resultados entre los laboratorios participantes el coeficiente de variación interlaboratorio debía ser menor o igual a 8,76 % que es el error total máximo (ETM) calculado según uno de los criterios más conocidos y aceptados como es el descrito por Tonks. Por su parte, refiere Terres (2007) que “la variabilidad analítica debe ser de 25.0% del intervalo de variabilidad biológica, lo que equivale a una desviación estándar biológica” (p.33). Así mismo es necesario resaltar que hubo flexibilidad a la hora de establecer el ETM, aunque este valor se ira ajustando poco a poco a medida que la participación persista en el tiempo. La fórmula de Tonks para calcular el ETM (Terres, 2003) es la siguiente:

$$VB = (\frac{1}{4} \text{ intervalo de referencia} / \text{valor promedio}) \times 100$$

$$\frac{\text{MAX} - \text{MIN} \times 25 \%}{\text{MEDIA}}$$

En vista de que los coeficientes de variación interlaboratorio eran muy elevados se decidió realizar el truncamiento para una desviación estándar hasta lograr que dicho coeficiente fuera menor que el ETM, luego se calculó la media y la desviación estándar, datos con los cuales se estimó el valor de consenso, el cual es un valor considerado como verdadero o exacto y se obtuvo con la media de los resultados de los laboratorios, luego de eliminar los valores aberrantes.

Seguidamente se procedió a calcular el desvío relativo porcentual y el Z score de cada laboratorio utilizando las siguientes formulas:

$$\text{DRP} = \frac{\text{VO} - \text{VC}}{\text{VC}} \times 100$$

Siendo VO, el valor obtenido por cada laboratorio participante y VC, valor de consenso.

$$Z = \frac{X_i - X_r}{S_r}$$

Dónde:

Z = Índice de desviación estándar

X_i = Valor obtenido por cada laboratorio participante.

X_r = Valor de consenso.

S_r = Desviación estándar.

Posteriormente, se clasificaron los laboratorios participantes según su desempeño analítico, es decir si dichos laboratorios poseían un desempeño

satisfactorio, cuestionable o insatisfactorio lográndose esta clasificación de acuerdo al resultado obtenido del DRP y la escala del Z score que es utilizada como criterio de evaluación de desempeño por el Programa de Evaluación Externa de la Calidad del Instituto de Salud Pública de Chile según se muestra en la tabla N° 3. Una vez clasificados los laboratorios se procedió a calcular el porcentaje de laboratorios con desempeño satisfactorio, cuestionable o insatisfactorio.

Tabla 3. Clasificación de los laboratorios según su desempeño analítico

DESEMPEÑO	DRP	Z score
Satisfactorio	$\leq \pm 8,76 \%$	$Z \leq 2,0$
Cuestionable	$\leq 15 \%$	$Z > 2,0 \text{ y } < 3,0$
Insatisfactorio	$> 15 \%$	$Z \geq 3,0$

Fuente: Datos propios de la investigación y del PEEC 2013, Instituto de Salud Pública de Chile.

RESULTADOS

En la tabla N° 4 se pueden observar los resultados del estudio de la estabilidad del material de control lote N° 9 preparado para el control de calidad en hemoglobina glicosilada. La media obtenida en Agosto de 2013 fue de 5,63 con una desviación estándar de 0,37 y un coeficiente de variación de 6,70 %. En el caso de Agosto de 2014 se obtuvo una media de 5,76 con una desviación estándar de 0,50 y un coeficiente de variación de 8,70 %.

Tabla N° 4

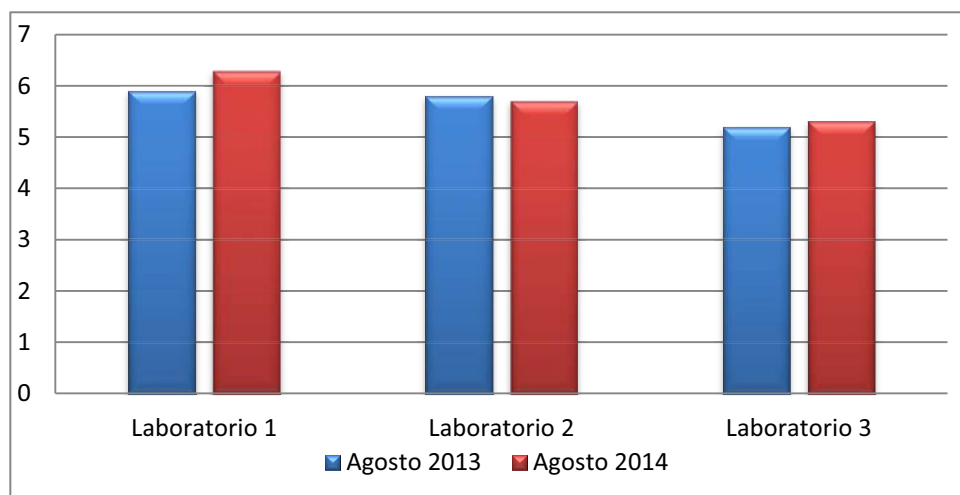
Estabilidad del material de control lote N° 9 en el tiempo

Laboratorios	Agosto de 2013	Agosto de 2014
	Hemoglobina Glicosilada	Hemoglobina Glicosilada
1	5,9 %	6,3 %
2	5,8 %	5,7 %
3	5,2 %	5,3 %
X	5,63	5,76
DE	0,37	0,50
CV	6,70 %	8,70 %
T	-0,91	
Sig	0,45	

Fuente: Datos propios de la investigación.

Gráfico N° 1

Estabilidad del material de control lote N° 9 en el tiempo



Fuente: Datos de la Tabla N° 4.

Se observa en el Gráfico N° 1 que el material de control preparado es estable durante un año, al no presentar diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre la media de los resultados iniciales y la media de los resultados obtenidos luego de un año. Obteniéndose coeficientes de variación intravial menores a 8,76 % que es el error total máximo.

En la tabla N° 5 se muestra los valores obtenidos de la preparación del material de control lote 10 con tetracloruro de carbono y cloroformo. Obteniéndose un volumen de 270 mL de hemolizado al realizar la extracción con tetracloruro de carbono y un volumen de 137 mL del mismo empleando cloroformo.

Tabla N° 5

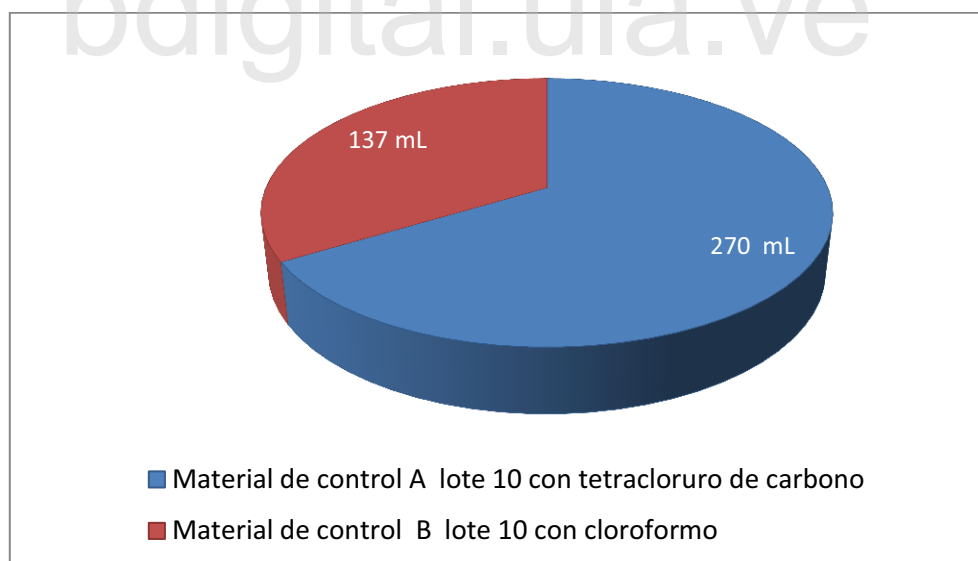
Comparación de la preparación del material de control lote 10 con tetracloruro de carbono y cloroformo

Material de control A lote 10 con tetracloruro de carbono	Material de control B lote 10 con cloroformo
270 mL	137 mL

Fuente: Datos propios de la investigación.

Gráfico N° 2

Comparación de la preparación del material de control lote 10 con tetracloruro de carbono y cloroformo



Fuente: Datos de la Tabla N° 5.

En la tabla N° 6 se reflejan los resultados de hemoglobina glicosilada del material de control 11 empleando el método automatizado y manual. Obteniéndose un valor no detectable por NycoCard y de 33,4 % usando Teco Diagnostics.

Tabla N° 6

Determinación de Hemoglobina Glicosilada al material de control 11 por dos métodos

Material de control 11	NycoCard (Automatizado)	Teco Diagnostics (Manual)
Hemoglobina Glicosilada	No detectable	33,4%

Fuente: Datos propios de la investigación.

En la tabla N° 7 se evidencian los resultados de hemoglobina glicosilada del material de control 11 luego de disminuir su concentración. Observándose que las diluciones 1/2 y 1/6 por el método automatizado mantuvieron el valor inferior al límite de detección de NycoCard. Con el método manual empleando el Metrolab 1700 DR se aprecia que utilizando el blanco diluido se obtuvo en la muestra sin diluir: 33,1 %, en la muestra diluida 1/2 37,0 % y en la muestra diluida 1/6 35,6 % respectivamente. Por otro lado al utilizar el blanco sin diluir se pueden observar los siguientes resultados: en la muestra sin diluir un 33,1 % en la diluida 1/2 un 17,5 % y en la diluida 1/6 un 12,5 %.

Tabla N° 7

Determinación de Hemoglobina Glicosilada al material de control 11 por dos métodos, luego de disminuir su concentración

Muestra	Equipo/ método	Equipo/ método	Equipo/ método
Material de control 11	NycoCard (Automatizado)	Metrolab 1700 DR (Manual) Blanco diluido	Metrolab 1700 DR (Manual) Blanco sin diluir
Sin diluir	NR *	33,1 %	33,1%
Diluido 1/2	< 4 %	37,0 %	17,5 %
Diluido 1/6	< 4 %	35,6 %	12,5 %

NR* = No se realizó.

Fuente: Datos propios de la investigación.

El resultado de hemoglobina glicosilada obtenido por el equipo DCA 2000 Bayer fue de 2,5 %.

En la Tabla N° 8 se observan los resultados de hemoglobina glicosilada de la muestra de un paciente sano sin diluir y diluida 1/2 determinada por método manual obteniéndose un valor de 4,7 % para ambas muestras empleando el blanco diluido y de 4,7 % en la muestra sin diluir y 2,4 % en la muestra diluida 1/2 utilizando el blanco sin diluir.

Tabla N° 8

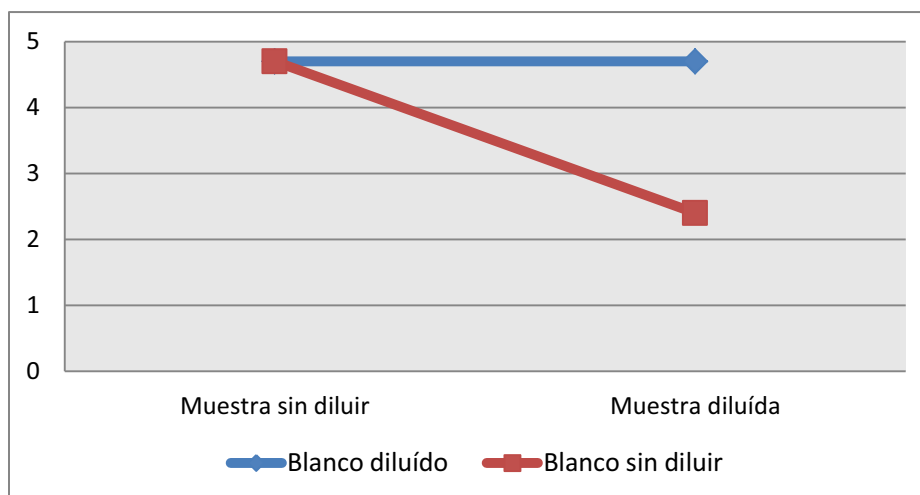
Determinación de Hemoglobina Glicosilada a una muestra sin diluir y diluida de un paciente sano.

Muestra	Método	Método
Paciente Sano	Human (Manual) Blanco diluido	Human (Manual) Blanco sin diluir
Sin diluir	4,7 %	4,7 %
Diluida ½	4,7 %	2,4 %

Fuente: Datos propios de la investigación.

Gráfico N° 3

Determinación de Hemoglobina Glicosilada a una muestra sin diluir y diluida de un paciente sano.



Fuente: Datos de la Tabla N° 8.

En la tabla N° 9 se reflejan los resultados de hemoglobina glicosilada de la muestra del paciente sano empleando dos equipos automatizados obteniéndose por NycoCard un valor de 4,6 % y por el DCA 2000 Bayer un 5,1 %.

Tabla N° 9

Determinación de Hemoglobina Glicosilada utilizando dos equipos automatizados

Muestra	Equipo automatizado	Equipo Automatizado
Paciente sano	NycoCard	DCA 2000 Bayer
Hemoglobina Glicosilada	4,6 %	5,1 %

Fuente: Datos propios de la investigación.

En la tabla N° 10 se observa el porcentaje de participación en relación al porcentaje de laboratorios invitados. Para la primera encuesta de 138 laboratorios invitados solo respondieron 7 que representan un 5 % de participación y en una segunda encuesta se invitaron 51 laboratorios de los cuales respondieron solo 18 que representan un 35,2 % de participación.

Tabla N° 10

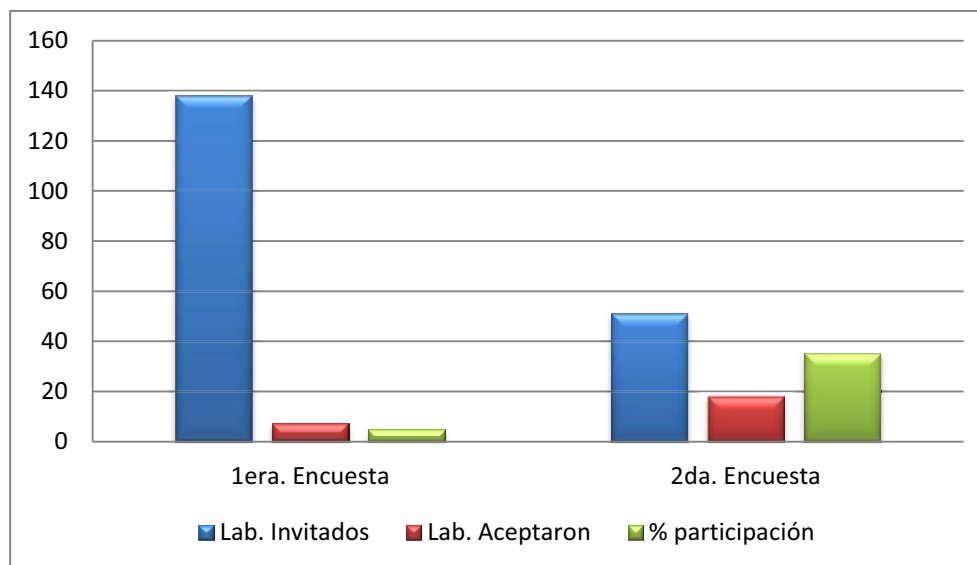
Aceptación de laboratorios invitados

Encuestas	Laboratorios invitados	Laboratorios que aceptaron la invitación	Porcentaje (%) de participación
Primera	138	7	5
Segunda	51	18	35,2

Fuente: Datos propios de la investigación.

Gráfico N° 4

Aceptación de laboratorios invitados



Fuente: Datos de la Tabla N°10.

Las tablas enumeradas 11 y 12 corresponden a los resultados del desempeño analítico de la primera y segunda encuesta de los laboratorios participantes, donde se calculó el coeficiente de variación luego del truncamiento para determinar la transferibilidad de los resultados entre los laboratorios, el DRP y la Z score. En la tabla N° 11 se evidencia para la primera encuesta un coeficiente de variación de 7,00% luego del truncamiento y un DRP de los laboratorios 2,3 y 4 menor a 8,76 % que es el error total máximo. Los laboratorios 1, 2, 3, 4 y 5 obtuvieron una Z score menor a 2. En la tabla N° 12 se observa para la segunda encuesta un coeficiente de variación de 5,83 % luego del truncamiento, un DRP de los laboratorios 3, 4, 5, 6 y 7 menor a 8,76 % y una Z score menor a 2.

Tabla N° 11

Desempeño Analítico de la primera encuesta

Primera encuesta		
Laboratorios participantes	DRP	Z score
1	-9,72 %	-1,38
2	-2,77 %	-0,39
3	0,69 %	0,09
4	2,43 %	0,34
5	9,37 %	1,33
6	71,87 %	10,24
7	281,94 %	40,19
CV sin truncamiento	70,17 %	
CV luego del truncamiento	7,00%	

Fuente: Datos propios de la investigación.

Tabla N° 12

Desempeño Analítico de la segunda encuesta

Segunda encuesta		
Laboratorios participantes	DRP	Z Score
1	-27,13 %	-4,65
2	-22,27 %	-3,82
3	-2,84 %	-0,48
4	-2,84 %	-0,48
5	-2,84 %	-0,48
6	-2,84 %	-0,48
7	-0,41 %	-0,07
8	11,73 %	2,01
9	21,44 %	3,67
10	23,87 %	4,09
11	23,87 %	4,09
12	38,45 %	6,59
13	55,45 %	9,51
14	62,73 %	10,76
15	72,45 %	12,42
16	203,61 %	34,92
17	509,66 %	87,42
18	575,24 %	98,67
CV sin truncamiento	94,10 %	
CV luego del truncamiento	5,83 %	

Fuente: Datos propios de la investigación.

Las tablas enumeradas 13 y 14 muestran la clasificación de los laboratorios clínicos según su desempeño analítico, obteniéndose para la primera encuesta un 42,8 % de laboratorios con desempeño satisfactorio, repitiéndose el mismo porcentaje de 28,6 % tanto para los laboratorios con desempeño cuestionable como los laboratorios con desempeño insatisfactorio. Para la segunda encuesta se observa en la tabla N° 14 que se obtuvo un 27,8 % de laboratorios con desempeño satisfactorio, un 5,6 % con desempeño cuestionable y un 66,6 % de laboratorios con desempeño insatisfactorio.

Tabla N° 13

Porcentaje de laboratorios con desempeño satisfactorio, cuestionable e insatisfactorio en la primera encuesta

Laboratorio N°	Desempeño Satisfactorio	Desempeño Cuestionable	Desempeño Insatisfactorio
1		X	
2	X		
3	X		
4	X		
5		X	
6			X
7			X
TOTAL (%)	42.8%	28.6%	28.6%

Fuente: Datos propios de la investigación.

Tabla N° 14

Porcentaje de laboratorios con desempeño satisfactorio, cuestionable e insatisfactorio en la segunda encuesta

Laboratorio N°	Desempeño Satisfactorio	Desempeño Cuestionable	Desempeño Insatisfactorio
1			X
2			X
3	X		
4	X		
5	X		
6	X		
7	X		
8		X	
9			X
10			X
11			X
12			X
13			X
14			X
15			X
16			X
17			X
18			X
TOTAL (%)	27.8%	5.6%	66.6%

Fuente: Datos propios de la investigación.

DISCUSIONES

El hecho de haber preparado un material de control estable para el control de calidad en hemoglobina glicosilada se correlaciona con un estudio realizado por van Assendelft (1976 citado en Briones y col, 2009) donde hace referencia que una solución concentrada de hemoglobina se mantiene estable por al menos un año. Además Briones y col 2009 refieren que para la elaboración de controles se le agrega glicerol y antibióticos al hemolizado, los cuales fueron materia prima de esta investigación. Al observar que la media de hemoglobina glicosilada se mantuvo reproducible en una segunda medición se puede afirmar que el control preparado se mantiene estable por al menos un año. Información que le servirá al PEEC como uso interno.

Con respecto a la extracción en la preparación del material de control lote N° 10 se observó que al sustituir el tetracloruro de carbono por cloroformo para la extracción, se obtiene poco volumen de material de control por lo cual no se recomienda su uso en este tipo de programa, ya que resultaría muy laborioso tener que preparar más material de control para obtener un volumen considerable que supla las necesidades del programa.

En vista de que por NycoCard no fue detectable, es decir, el valor de hemoglobina glicosilada estaba por debajo del límite de detección, según las especificaciones del manual de este equipo los rangos de detección van de 4 -15 % y por Teco Diagnostics se obtuvo un valor muy alto, se dedujo que este material de control tenía alguna interferencia, debido a que los resultados no se correlacionaban entre un método y otro. Por lo tanto, se decidió realizar diluciones de este material de control N° 11 con la finalidad de disminuir su concentración en el caso que 33,4 % fuera el valor real de hemoglobina glicosilada.

De acuerdo a los resultados obtenidos luego de disminuir la concentración del material de control N° 11 se llegó a la conclusión que en realidad el material de control tenía una concentración de hemoglobina glicosilada menor de 4 % y no era necesario realizar diluciones, por ende NycoCard mantuvo resultados menores al 4% en ambas diluciones. Por otro lado al utilizar el método manual por cromatografía de intercambio iónico se observaron dos resultados uno utilizando el blanco diluido y otro el blanco sin diluir con la finalidad de indicar que aparentemente el método manual no diluye y la única manera de obtener una dilución de la muestra es cuando se hace la corrección utilizando el blanco sin diluir.

Aunque no fue objetivo de esta investigación los resultados demuestran que si se toman los blancos diluidos para realizar los cálculos se mantienen parecidas las relaciones de porcentaje de hemoglobina glicosilada en relación a la hemoglobina total. Por lo tanto se aconseja que si en algún momento se desea diluir la muestra de un paciente utilizando el método manual por cromatografía de intercambio iónico se procese el blanco sin diluir debido a que se está midiendo es un porcentaje de la hemoglobina total que se glica, es decir no es específica para la hemoglobina glicosilada lo que explica la obtención de valores muy altos utilizando este método, lo cual se correlaciona con un estudio realizado por Gatti y Zácara, 2012 donde informa que las técnicas de intercambio iónico arrojan resultados mayores debido a las distintas variables que modifican sus resultados como son: cambios de pH, fuerza iónica, temperatura e inespecificidad analítica debido a que determinan la hemoglobina glicosilada total.

Por otro lado se logró conocer el valor exacto de hemoglobina glicosilada de este material de control N° 11 utilizando el equipo DCA 2000 Bayer; según las especificaciones técnicas del manual los rangos analíticos van de 2,5 –14 % demostrando ser más sensible y específico que NycoCard,

obteniéndose un resultado de 2,5 % lo que permitió concluir que este material de control no podía utilizarse para llevar a cabo la tercera encuesta debido a que la mayoría de los laboratorios participantes utilizaban como equipo de medición el NycoCard y como la concentración de dicho material de control era tan baja no sería posible conocer su valor ya que su límite de detección es más alto que el DCA 2000 Bayer.

Los resultados de la muestra de un paciente sano sin diluir y diluida 1/2 arrojaron resultados de 4,7% de hemoglobina glicosilada para las dos muestras, lo que corrobora que el método manual no agarra dilución y que no es una interferencia propia del material de control preparado porque la muestra del paciente tampoco se diluyó. Por otra parte se demostró con la referida muestra que empleando el blanco sin diluir el resultado disminuye proporcionalmente a la dilución realizada, por ende las literaturas deberían agregar una nota del paso a seguir cuando se quiere diluir la muestra de un paciente.

La determinación de hemoglobina glicosilada de la muestra del paciente sano determinada por dos equipos automatizados como el Nycocard y el DCA 2000 de Bayer permitieron corroborar el valor obtenido por método manual empleando el Metrolab 1700 DR debido a que los resultados de ambos equipos automatizados no se alejan del resultado obtenido manualmente.

Referente a la solicitud enviada a los laboratorios clínicos para su participación en el Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Universidad de Los Andes, se realizaron dos invitaciones. En la primera de ellas el porcentaje de aceptación solo fue de 5 % de un total de 138 laboratorios, es decir, se obtuvo una baja respuesta por parte de los laboratorios clínicos por lo que se incentivó a participar en una segunda

encuesta, aunque se logró elevar el porcentaje de participación a 35.2 % de un total de 51 laboratorios en esta encuesta, todavía los datos obtenidos no son estadísticamente significativos.

Estos resultados se contradicen con el Programa de Evaluación Externa de la Calidad organizado por el Instituto de Salud Pública de Chile en el subprograma de Hemoglobina Glicosilada en el año 2011 quienes publican en su libro anuario el reporte de 243 laboratorios inscritos respondieron 232 laboratorios que representan el 95,4 % de respuestas. Lo anterior quizás se deba a que en Venezuela el PEEC- ULA es relativamente nuevo, en comparación con el Instituto de Salud Pública de Chile (ISP), el cual a través del Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia, lo organiza desde el año 1972, incluyendo las áreas de Bacteriología, Hematología, Inmunohematología, Inmunología, Parasitología, Química Clínica y Virología, también demuestra la motivación por parte de los laboratorios en querer mejorar la calidad de las prestaciones del laboratorio. Además todas las limitaciones que hubo en la presente investigación posiblemente fueron otra de las causas de esta baja participación.

En principio los resultados para ambas encuestas no eran transferibles entre todos los laboratorios porque se obtuvieron coeficientes de variación elevados en los resultados acumulados, es decir mayores al error total máximo, debido al uso de métodos de baja reproducibilidad e imprecisión, sin embargo se observó que los resultados si eran transferibles luego del truncamiento entre tres laboratorios con un coeficiente de variación de 7.00% en el caso de la primera encuesta. También se observó en la segunda encuesta que los resultados si eran transferibles luego del truncamiento entre 5 laboratorios obteniéndose un coeficiente de variación de 5.83 %, es decir, en ambas encuestas dichos coeficientes de variación luego del truncamiento fueron menores al error total máximo establecido según el criterio de Tonks.

De acuerdo con Guba y Lincoln (1981) “se trata de examinar que tanto se ajustan los resultados con otro contexto”. (p. 8). Con relación a lo anterior, la transferibilidad consiste en la posibilidad de transferir los resultados a otros laboratorios o grupos. Así mismo Vives y Aguilar (2006) opinan que “avanzar en el conocimiento de los procedimientos de normalización y el empleo de las mejores metodologías contribuye a una mayor transferibilidad de resultados”. (p.39). Es decir para que exista dicha transferibilidad es de importancia que los laboratorios seleccionen y evalúen la instrumentación y los procedimientos analíticos disponibles para poder obtener medias confiables que aseguren el reporte de resultados clínicamente adecuados así como la transferibilidad de los mismos.

Con respecto a la valoración del desempeño los resultados permitieron establecer que el 42,8% de los laboratorios participantes de la primera encuesta y el 27,8% de los laboratorios participantes de la segunda encuesta obtuvieron un DRP (desempeño aceptable) por debajo del error total máximo. Finalmente los resultados obtenidos fueron mayormente satisfactorios en la primera encuesta e insatisfactorios en la segunda.

Al clasificar los laboratorios según su desempeño analítico se logró observar que los laboratorios que participaron en la primera encuesta obtuvieron según el cálculo del DRP y la Z score un desempeño satisfactorio de 42,8%, un desempeño cuestionable de 28,6% y un desempeño insatisfactorio de 28,6%. Mientras que en la segunda encuesta como se aumentó el nivel de participación se logró observar que el desempeño de estos laboratorios participantes fue insatisfactorio en un 66,6% lo que demuestra un alto porcentaje de error al evaluar dicho desempeño, el 5,6% de laboratorios obtuvieron un desempeño cuestionable y solo el 27,8% un desempeño satisfactorio. Por lo que se requiere de más estudios para confirmar estos desempeños y poder determinar los factores que afectan sus

determinaciones, también es importante que cada laboratorio tomen las acciones preventivas y correctivas para mejorar su desempeño analítico y que participen permanentemente en los programas de Evaluación Externa de la Calidad que ofrece la Universidad de los Andes. Por su parte Rojano y col 2007 opinan que sería útil el establecimiento de un programa permanente de ensayos de hemoglobina glicosilada, en el que participen un mayor número de laboratorios, permitiendo tener una muestra más representativa de cada equipo y método para incrementar la significancia de estadísticas de los resultados y las respectivas evaluaciones.

bdigital.ula.ve

APORTES DE LA INVESTIGACION

Durante la preparación del material de control lote N° 10 se demostró que al realizar la extracción con cloroformo en vez de tetracloruro de carbono se obtiene menos volumen de material de control por lo cual no se recomienda su uso en este tipo de programa.

Además no se puede utilizar muestras frescas de bovinos para preparar material de control, puesto que se obtiene una baja concentración de hemoglobina glicosilada lo que la hace indetectable por NycoCard.

Por otra parte, al realizar la determinación de hemoglobina glicosilada del material de control N° 11 diluido utilizando el método manual por cromatografía de intercambio iónico se demostró que dicho método tampoco diluyo y que no era una interferencia propia del material de control porque los resultados de la muestra del paciente sano diluida determinada manualmente tampoco agarro dilución. Por ende la corrección a la técnica sería especificar que cuando se desea diluir la muestra de un paciente se procese el blanco sin diluir.

En la determinación de la concentración de hemoglobina glicosilada del material N° 11 por dos equipos automatizados se logró corroborar que el equipo DCA 2000 Bayer es más sensible y específico que el NycoCard.

Finalmente se logró dar un diagnóstico del desempeño analítico para hemoglobina glicosilada en el Estado Mérida, además de incorporar este analito en el Programa de Evaluación Externa de Calidad de la Universidad de los Andes.

CONCLUSIONES

Es perfectamente viable utilizar donantes bovinos sanos para preparar un material de control estable para la determinación de hemoglobina glicosilada en el Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Universidad de Los Andes, lo cual quedó demostrado a través del Test de diferencia de medias intravial en el tiempo (Test de Student) y la medición del coeficiente de variación Intravial.

A pesar de los esfuerzos realizados en la preparación y envío de material de control a gran cantidad de laboratorios, se obtuvo un bajo porcentaje de participación por parte de los laboratorios invitados al Programa de Evaluación Externa de la Calidad.

Al valorar el desempeño de los laboratorios participantes del Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Universidad de Los Andes, se obtuvo un Coeficiente de Variación Interlaboratorio aceptable luego del truncamiento, por lo tanto se considera viable la transferibilidad de los resultados en algunos laboratorios.

Una vez finalizada la investigación, fueron clasificados los laboratorios según su desempeño analítico. El resultado obtenido fue mayormente satisfactorio en la primera encuesta, obteniéndose un desempeño de 42.8 % e insatisfactorio en la segunda lográndose solo un desempeño de 27.8 %. Por consiguiente la mayoría de estos laboratorios deben mejorar su desempeño analítico en la determinación de hemoglobina glicosilada.

Es fundamental continuar con Programas de Evaluación Externa de la Calidad para mejorar los resultados obtenidos a fin de cumplir con la mejoría continua de la calidad en los laboratorios clínicos.

RECOMENDACIONES

Dar a conocer los resultados de la investigación para incentivar y promover el uso de donantes bovinos sanos, ya que se demostró que con este tipo de donantes es posible preparar un material de control estable, accesible y de bajo costo, lo cual favorecerá su implementación para la evaluación de hemoglobina glicosilada en el Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Universidad de Los Andes.

Diseñar estrategias para motivar a los laboratorios a participar en el Programa de Evaluación Externa de la Calidad, pues al hacerlo mejoraran su desempeño analítico y por tanto la calidad de su servicio, logrando que sus estudios sean una excelente opción tecnológica para asistir a los médicos en el diagnóstico y seguimiento de sus pacientes y que los resultados sean precisos, exactos y oportunos manteniendo un coeficiente de variación interlaboratorio aceptable, con resultados transferibles. Todo lo anterior en beneficio de las personas que acuden a ellos para realizar sus estudios.

Se debe resaltar la importancia de aumentar la frecuencia de envíos del Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Universidad de los Andes y que exista una mayor constancia en las respuestas por parte de los laboratorios clínicos. Por último hacer un seguimiento de la evolución de los laboratorios con referente a este analito en futuras investigaciones.

REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS

- Álvarez, E., González, T. M., Cabrera, E., Conesa, A. I., Parlá, J. y González, E. A. (2009). Algunos aspectos de actualidad sobre la hemoglobina glucosilada y sus aplicaciones. **Revista Cubana de Endocrinología**, **20**, (3), 141-151.
- Balado, R., Etcheverry, S., Mazziotta, D. y Pollio, L. (1998). Una nueva sección se incorpora a Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. **Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana**, **XXXII**, (2), 313-319.
- Berg, J.P., Hanssen, K.F., Bjerve, K.S., Tor, C., Jorgensen, K.D., Rustad, P. et al. (2011, Marzo 18). Standardisert hemoglobin A1c til diagnostisk bruk. **Tidsskr Nor Lægeforen**, **131**, (6), 565- 566.
- Boquet, E. (1995). **Mejoría continua de la calidad**. México: Editorial Medica panamericana, S.A. Pp. 10, 65.
- Briones, N., Jiménez, T. y Farias, M. (2009). Evaluación de espectrofotómetros para la elaboración de material de referencia empleado en la calibración y el control de la determinación de hemoglobina. **Revista de la Facultad de Medicina**, **32**, 1, 46-53.
- Campuzano, G. y Latorre, G. (2010, Junio 22). La HbA1c en el diagnóstico y en el manejo de la diabetes. **Medicina & Laboratorio**, **16**, (5-6), 211-241.
- Castaño, M. Díaz, J. y Paredes, F. (2008). **Bioquímica Clínica: de la patología al laboratorio**. Madrid: Editorial Ergon. Pp. 41-42,45.

- Dharán, M. (1982). **Control de calidad en los laboratorios clínicos**. España: Editorial Reverté, S.A. Pp. 2-3.
- Fabro, A., & Kunde, J. (2006, Junio 20). A importância da determinação da hemoglobina glicada no monitoramento das complicações crônicas do Diabetes mellitus. **J Bras Patol Med Lab**, **42**, (3), 185 -191.
- Fernández, C. y Mazziota, D. (2005). **Gestión de la calidad en el laboratorio clínico**. Buenos Aires: Editorial Medica panamericana, S.A. Pp. 375-376, 384-386, 388,400.
- Fink, N. E., Fernández, A. y Mazziotta, D. (1997, Septiembre). Evaluación externa de la calidad analítica en hematología: una necesidad en América Latina. **Rev Panam Salud Pública**, **2**, (3), 181- 188.
- Garry, J. W., Mosca, A., Weykamp, C. y Goodall, I. (2007, Noviembre). HbA1C standardisation: History, science and politics. **Clin Biochem Rev**, **28**, 163- 167.
- Gatti, N. y Zaccara, B. (2012, Junio). Disponible en <http://www.fba.org.ar/panel-gestion/PEECNoticias/PN1206.pdf>. [Consulta: 2014, Octubre 10].
- Glesby, M. J., Hoover, D. R., Shi, Q., Danoff, A., Howard, A., Tien, P. et al. (2010). Glycated hemoglobin in diabetic women with and without HIV infection: Data from the women's interagency HIV study. **NIH-PA Author Manuscript**, **15**, (4), 2–12.

- Guba E. y Lincoln, Y. (1981). *Effective evaluation: improving the usefulness of evaluation results through responsive and naturalistic approaches*. San Francisco: Jossey-Bass.
- López, M. (2007). ***Desempeño analítico en la determinación del perfil lipídico en laboratorios clínicos de Mérida***. [Trabajo de grado], Escuela de Bioanálisis, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida.
- López, M., Molina, K. y Rodríguez, N. (2009). Evolución del desempeño analítico en la determinación del perfil lipídico en laboratorios clínicos de Mérida-Venezuela. ***Revista de la Facultad de Farmacia***, 51, (2), 23-29.
- Mariani, V. A. y Sola, M. O. (2005). Programa de evaluación externa de calidad: Diferencias en los inmunoensayos comerciales de antígeno prostático específico. ***Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana***, 39, (2), 243-252.
- Mckenzie, S. B. (2000). ***Hematología clínica***. México: Editorial el Manual Moderno, S.A. Pp. 60.
- Méndez, E., Rosero, L., Fernández, X. y Barrantes, K. (2007, Julio 1). Comparación de los resultados de pruebas de laboratorio seleccionadas de un estudio poblacional de adultos mayores de Costa Rica. ***Población y Salud en Mesoamérica***, 5, (1), 2 -15.

- Ministerio del Poder Popular para la Salud, (2011). Anuario de mortalidad. Disponible:<http://www.mpps.gob.ve/index.php?option=comphocadownload&view=category&id=11:anuarios-de-mortalidad> [Consulta: 2014, Octubre 18].
- Molina, L., Rodríguez, E. y Ramírez, C (2003). **Evaluación Externa de la Calidad en el Área de Bioquímica Clínica en Laboratorios Clínicos de la Ciudad de Mérida.** [Trabajo de grado], Escuela de Bioanálisis, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida.
- Operating Manual DCA 2000 Bayer Analyzer disponible en: http://www.frankshospitalworkshop.com/equipment/documents/automated_analyzer/user_manuals/Bayer%20DCA2000%20-%20User%20manual.pdf. [Consulta: 2014, Octubre 12].
- Organización Mundial de la Salud, (2012). Estadísticas Sanitarias Mundiales. Disponible:<http://www.who.int/features/factfiles/diabetes/facts/ess/index.html> [consulta: 2014, Octubre 18].
- Pimazoni, A., Andriolo, A., Fraigre, F., Tambascia, M., Brito, M., Melo, M. et al. (2009, Febrero 20). Atualização sobre hemoglobina glicada (HbA1C) para avaliação do controle glicêmico e para o diagnóstico do Diabetes: aspectos clínicos e laboratoriais. **J Bras Patol Med Lab**, **45**, (1), 31-48.
- Programa de Evaluación Externa de la Calidad, Instituto de Salud Pública de Chile. Instructivo PEEC para hemoglobina glicosilada, 2013 y Libro anuario 2011. Extraído de la página web <http://www.ispch.cl/programa-de-evaluacion-externa-de-la-calidad-peec>. [Consulta: 2014, Octubre 8].

- Ramírez, C., Molina, L., Rodríguez, E., Buena, L., Lorente, A. y Rodríguez, N. (2006). Evaluación externa de la calidad en la determinación de glucosa y creatinina en laboratorios clínicos de Mérida- Venezuela. **Revista de la Facultad de Farmacia, 48**, (1), 21- 26.
- Rodríguez, N. (2008). Guía del usuario del Programa de Evaluación Externa de la Calidad.
- Rojano, E., Acosta, R., Bocanegra, A. A., Rivera, G. y Sierra, A. (2007). Desempeño de un grupo de laboratorios mexicanos en la determinación de HbA1C. **Bioquímica, 32**, (3), 91- 99.
- Saudek, C. D. & Brick, J. C. (2009, Julio). The clinical use of hemoglobin A1C. **J Diabetes Sci Technol, 3**, (4), 629- 634.
- Sikaris, K. (2009, Mayo). The correlation of hemoglobin A1C to blood glucose. **J Diabetes Sci Technol, 3**, (3), 429- 438.
- Terres, A. (2003, Julio-Septiembre). Importancia de la variabilidad biológica y de la relevancia médica en la Norma ISO-15189. **Rev Mex Patol Clin, 50**, (3), 118-128.
- Terres, A. (2007, Enero- Marzo). SIX SIGMA: determinación de metas analíticas con base en la variabilidad biológica y la evolución tecnológica. **Rev Mex Patol Clin, 54**, 1, 28-39.
- Varcársel, M. y Ríos, A. (1992). **La calidad en los laboratorios clínicos**. España: Editorial reverté, S.A. Pp. 20.

- Vives, J. y Aguilar, J. (2006). **Manual de técnicas de laboratorio en hematología**. España: Editorial ELSEVIER MASSON. Pp. 32-33, 39.
- Weykamp, C., Garry, J. y Mosca, A. (2009, Mayo). A review of the challenge in measuring hemoglobin A1C. **J Diabetes Sci Technol**, **3**, (3), 439- 445.
- Zamudio, J.F. (2010, Marzo). Diagnóstico de Diabetes con Hemoglobina Glicosilada. **Rev Eviden Invest Clin**, **3**, (1), 58-60.

bdigital.ula.ve

ANEXOS

bdigital.ula.ve

ANEXO 1



TECO DIAGNOSTICS
1268 N. Lakeview Ave.
Anaheim, CA 92807
1-800-222-9880

GLYCOHEMOGLOBIN REAGENT SET

INTENDED USE

For the determination of glycohemoglobin in blood.

SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST

Throughout the circulatory life of the red cell, glycohemoglobin is formed continuously by the addition of glucose to the N-terminal of the hemoglobin beta-chain. This process, which is non-enzymatic, reflects the average exposure of hemoglobin to glucose over an extended period. In a classical study, Trivelli et al¹ showed glycohemoglobin in diabetic subjects to be elevated 2-3 fold over the levels found in normal individuals. Several investigators have recommended that glycohemoglobin serve as an indicator of metabolic control for diabetic, since glycohemoglobin levels approach normal values for diabetics in metabolic control.^{2,3,4}

Glycohemoglobin has been defined operationally as the "fast fraction" hemoglobins (HbA_{1a}, A_{1c}), which elute first during column chromatography with cation-exchange resins. The nonglycosylated hemoglobin, which consists of the bulk of the hemoglobin, has been designated HbA₀. The present glycohemoglobin procedure employs a weak binding cation-exchange resin for the rapid separation of glycohemoglobin (fast fraction) from non-glycosylated hemoglobin.

PRINCIPLES

A hemolyzed preparation of the whole blood is mixed continuously for 5 minutes with a weak binding cation-exchange resin. During this time, HbA₀ binds to the resin. After the mixing period, a filter is used to separate the supernatant containing the glycohemoglobin from the resin. The percent glycohemoglobin is determined by measuring the absorbance at 415nm of the glycohemoglobin fraction and the total hemoglobin fraction. The ratio of the two absorbances gives the percent glycohemoglobin.

REAGENTS AND MATERIALS PROVIDED

Test Kit containing:

1. Resin reagent: 8 mg/ml Cation-exchange Resin buffered at pH 6.9.
2. Lysing reagent: 10 mM Potassium Cyanide, surfactant added.
3. Glycohemoglobin Standard: 10% glycohemoglobin
4. Serum separators.

PREPARATIONS OF REAGENTS

1. *Glycohemoglobin Lysing Reagent:* Bring contents to room temperature.
2. *Glycohemoglobin Cation-Exchange Resin:* Bring contents to room temperature. Swirl and gently invert a minimum of 10 times, swirl the bottle after addition to each 5 tubes.

STORAGE AND STABILITY

All reagents are stable to expiration date stated on the labels. Resin and Lysing Reagents may be stored refrigerated (2-8°C).

PHYSICAL OR CHEMICAL INDICATIONS OF INSTABILITY

Alterations in the physical appearance of the reagents or values of control sera outside the manufacturer's acceptable range may be an indication of reagent instability.

INSTRUMENTS

Use a spectrophotometer or colorimeter set at 415 nm.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Special preparation of the patient is unnecessary. Fasting specimens are not required. No special additives or preservatives other than the anticoagulants are required. Collect venous blood with EDTA using aseptic technique. Glycohemoglobin in whole blood collected with EDTA is stable for one week at 2 - 8°C.

INTERFERING SUBSTANCES

Samples that are severely lipemic may cause elevated results. Fetal hemoglobin (HbF) has resin binding characteristics similar to glycohemoglobin value if present. Glycosylated HbS and HbC bind more tightly than HbA₁ and produce lower values. Other hemoglobinopathies (e.g., betathalassemia and hemolytic anemia) also produce lowered results.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. 20 µl and 100 µl micropipettes.
2. 500 µl, 3 ml and 5 ml pipettes or dispensers.
3. 13 x 100 mm glass tubes.
4. Glass or plastic test tubes to hold 0.6 ml and 5 ml.
5. Rocker or rotator.
6. Glycohemoglobin controls: Normal Level & Elevated Level.

PROCEDURAL OUTLINE

A. Hemolysate Preparation:

1. Dispense 500 µl Lysing Reagent into tubes* labeled: Standard, Control, Sample 1, etc.
2. Place 100 µl of the well-mixed blood sample, standard or control into the appropriately labeled tube. Mix well.
3. Allow to stand for 5 minutes.

*Plastic or glass tubes of appropriate size are acceptable.

B. Glycohemoglobin Preparation:

1. Dispense 3.0 ml of Glycohemoglobin Cation-exchange Resin into 13 x 100 mm glass tube* labeled: Standard, Control, Sample 1, etc.

*Do not use plastic tubes.

NOTE: Before use, mix the resin by inverting at least 10 times. Swirl the bottle after addition to each 5 tubes.

2. Add 100 µl of the hemolysate (from Step A3).
3. Position the Filter Separators in the tubes so that the rubber sleeve is approximately 1 cm above the liquid level.
4. Place the tubes on the rocker or rotator and mix continuously for 5 minutes.
5. Remove the tubes from the rocker or rotator.
6. Push the Filter Separator into the tubes until the resin is firmly packed.
7. The supernatant may be poured into another tube or directly into a cuvette for absorbance measurement.
8. Adjust the instrument to zero absorbance at 415 nm with deionized water as the blank. (Wavelength range: 390-420 nm).

ANEXO 1

9. Read and record the absorbance values for Standard, Control, Sample 1, etc. These readings are for glycohemoglobin.

C. Total Hemoglobin Fraction:

1. Dispense 5.0 ml deionized water into tubes* labeled: Standard, Control, Sample 1, etc.
2. Place 20 µl of the hemolysate (from Step A3) into the appropriately labeled tube. Mix.
3. Adjust the instrument to zero absorbance at 415nm with deionized water as the blank.
4. Read and record the absorbance values for Standard, Control, Sample 1, etc. These readings are for total hemoglobin.

*Plastic or glass tubes of appropriate size are acceptable.

QUALITY CONTROL

The reliability of test results should be monitored routinely using stable quality control materials and analyzed in the same manner employed for the unknowns. We suggest the use of Glycohemoglobin Controls: Normal, Elevated.

CALCULATIONS

Results for the unknowns should be determined in the following manner:

$$\% \text{ Glyco. (unknown)} = \frac{R \text{ (unknown)}}{R \text{ (standard)}} \times \text{Standard conc}$$

where:

$$R \text{ (unknown)} = \text{Ratio (unknown)} = \frac{\text{Abs. of Glyco (unknown)}}{\text{Abs. of Total Hb (unknown)}}$$

$$R \text{ (standard)} = \text{Ratio (standard)} = \frac{\text{Abs. of Glyco (standard)}}{\text{Abs. of Total Hb (standard)}}$$

Example:

A standard containing 8.0% glycohemoglobin had Abs. = 0.480 for the glycohemoglobin and Abs. = 0.575 for the total hemoglobin. An unknown sample had glycohemoglobin Abs. = 0.962 and total hemoglobin Abs. = 0.746. The glycohemoglobin concentration of the unknown is calculated as follows:

$$R \text{ (unknown)} = \frac{0.962}{0.746} = 1.29$$

$$R \text{ (standard)} = \frac{0.480}{0.575} = 0.835$$

$$\% \text{ Glyco. (unknown)} = \frac{1.29}{0.835} \times 8.0 = 12.4\%$$

LIMITATIONS OF PROCEDURE

Sample from patients with hemoglobinopathies or decreased erythrocytes survival times may show incorrect results. See section on "Specimen Collection."

EXPECTED VALUES

6.6 - 8.6%

This range represents the 95% confidence interval for 100 outpatient subjects with normal glucose values and no history of diabetes. A study of 31 diabetic subjects showed glycohemoglobin values from 8.4% to 16.0%. For the diabetic population, a comparison of the fasting plasma glucose with the glycohemoglobin level gave a correlation coefficient equal to 0.84.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Linearity:

The glycohemoglobin assay shows linearity for glycohemoglobin level in the range of 4.0 - 20.0%. Blood samples with total hemoglobin greater than 18 g/dl should be diluted x 2 with deionized water before assay.

Precision:

Within Run: The intra assay precision was established by assaying bloods with normal and elevated glycohemoglobin levels twenty times each

Level	Mean	Std. Dev.	% CV
Normal	7.8	0.21	2.7
Elevated	13.4	0.23	1.7

Run to Run: The inter run precision was established by assaying blood with normal and elevated glycohemoglobin levels for ten runs conducted over a five day period.

Level	Mean	Std. Dev.	% CV
Normal	7.6	0.31	4.1
Elevated	13.0	0.60	4.6

CORRELATION

A comparative study of the Teco glycohemoglobin procedure and another widely used commercial method showed correlation (r) of 0.96.

SENSITIVITY

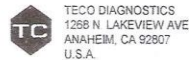
This glycohemoglobin procedure has a sensitivity of 0.02% glycohemoglobin per 0.001 units of absorbance.

REFERENCES

1. Trivelli, L.A., Ranney, P.H., and Lai, H.T., *New Eng. J. Med.* 284, 353 (1971).
2. Gonen, B., and Rubenstein, A.H., *Diabetologia* 15, 1 (1978).
3. Gabbay, K.H. Hasty, K., Breslow, J. L., Ellison, R.C. Bunn, H.F., and Gallop, P.M.J. *Clin. Endocrinol. Metab*, 44, 859 (1977).
4. Bates, H.M., *Lab Manag.*, Vol. 16 (Jan. 1978).

G540: 04/03

Manufactured by:



Authorized Representative:
Emergo Europe
P.O. Box 149
4300 AC Zierikzee
The Netherlands

ANEXO 2

GLYCOHEMOGLOBIN HbA₁-TEST

Método rápido de separación por resina de intercambio iónico

Presentación del estuche

REF	10657	20 Tests	Estuche completo
	10658	100 Tests	Estuche completo
	10259	2 x para 1 ml	Controles normal y anormal

IVD

Método

La formación de glicohemoglobina ocurre irreversible y progresivamente en los eritrocitos a través de los 120 días de vida normal de estas células. Debido a que la concentración de glicohemoglobina en el eritrocito refleja el nivel promedio de glucosa en la sangre de las 4 a 6 semanas anteriores y es estable por la vida de los eritrocitos, la medición de la glicohemoglobina proporciona una prueba de gran valor para evaluar el control a largo plazo de los pacientes diabéticos.

Principio

La sangre total se mezcla con un reactivo hemolisante compuesto por un detergente e iones borato. La eliminación de la base lábil de Schiff se consigue así durante la hemólisis. La preparación hemolizada se mezcla por 5 minutos con una resina de intercambio catiónico de capacidad enlazante débil. Durante este tiempo, la HbA₁ se une a la resina. Empleando un separador de resina especial se extrae la misma del líquido sobrenadante que contiene la HbA₁. El porcentaje de glicohemoglobina sobre la hemoglobina total se determina midiendo la absorbancia de la fracción de glicohemoglobina y la hemo-globina total a 415 nm ó 405 nm Hg, en comparación con el patrón de Glicohemoglobina suministrado desarrollando con él un procedimiento de trabajo similar.

Contenidos, composición de reactivos en la prueba

REF	10657	10658	
LYSE	10 ml	5 x 10 ml	
RGT	20 x 2,5 ml	100 x 2,5 ml	
STD	1 x para 1 ml	1 x para 1 ml	
CUP	20	100	
SEP	20	100	
LYSE	Reactivo lisante (pH 7,0 ± 0,1)		
	Borato		1 mol/l
	Detergente		0,25 %
	Azida de sodio		0,065 %
RGT	Resina de intercambio iónico (pre envasado en tubos de plástico)		
	Buffer imidazol (pH 7,5 ± 0,1)		30 mmol/l
	Borato		150 mmol/l
	Timerosal		0,1 g/l
STD	por 1,0 ml Patrón hemoglobina humana liofilizada humano, ver la concentración en la etiqueta		
CUP	Tubos de plástico para la hemólisis		
SEP	Separadores de resina		
REF	10259		
GCN	por 1,0 ml Control de glicohemoglobina (normal) humana, ver la concentración en la etiqueta		
GCA	por 1,0 ml Control de glicohemoglobina (anormal) humana, ver la concentración en la etiqueta		

Preparación de reactivos y estabilidad

RGT: listo para usar. Almacenar a 2...25°C.

LYSE: listo para usar. Estable por 2 meses después de la primera apertura si se almacena a 2...25°C. Mezclar bien antes de usar. Pipetear 0,5 ml de **LYSE** y agregarlo a los recipientes **CUP** identificados como **STD**, muestras, y controles.

STD, **GCN** y **GCA**: Almacenar a 2...8°C. Reconstituir con 1,0 ml de agua destilada. Dejar reposar por 30 minutos, mezclando ocasionalmente. Usar recién reconstituidos o almacenar congelados en alícuotas. Los reactivos reconstituidos son estables por 30 días almacenados a -20°C o más bajo. Mezclar bien antes de usar. Congelar solamente una vez. Tratar exactamente como las muestras.

Muestras

Usar sangre total con EDTA como anticoagulante. La muestra es estable por una semana, a temperatura de 2...8°C. Mezclar bien antes de usar.

Ensayo

Longitud de onda: 415 nm ó Hg 405 nm

Temperatura: 15...25°C

Medición: Contra blanco de agua

Procedimiento

Etapa 1. Hemólisis

Pipetear en **CUP** pre envasado 100 µl de **STD**, muestra, **GCN** o **GCA**

Mezclar, incubar por 5 min. a 15...25°C (Nota 2)

Etapa 2 Determinación de HbA₁ (Nota 3)

Pipetear 100 µl del hemolisado de la etapa 1 en **RGT** marcado

Colocar **SEP** dentro del **TUBE** de manera que émbolo de goma esté aprox. 1 cm arriba del nivel del líquido. Mezclar en un agitador hematológico por 5 min. Empujar **SEP** hacia el fondo hasta que la resina esté firmemente presionada. Verter el sobrenadante dentro de una cubeta.

Leer la absorbancia A_{HbA₁} (**STD** / muestra / control)

Etapa 3 Determinación de la hemoglobina total

Pipetear 20 µl del hemolisado de la etapa 1 en tubos marcados

Agregar 5 ml de agua destilada

Mezclar cuidadosamente.

Leer la absorbancia A_{Hb total} (**STD** / muestra / control)

Cálculo del contenido de HbA₁

Determinación del factor F por medio del **STD**:

El porcentaje de glicohemoglobina (% HbA₁) se encuentra en la etiqueta bajo %.

$$F = \frac{A_{Hb total} \times \% HbA_1}{A_{HbA_1}}$$

Contenido de glicohemoglobina de la muestra:

$$\% HbA_1 \text{ muestra} = F \times \frac{A_{HbA_1 \text{ muestra}}}{A_{Hb total \text{ muestra}}}$$

Interpretación clínica

Pacientes	% HbA ₁
con metabolismo normal o diabéticos estables	4,5 – 7,0
Diabéticos, mal controlados o con metabolismo desequilibrado	≥ 8,5

Características de la ejecución

Las características de ejecución de la prueba pueden ser encontradas en el informe de verificación, accesible via

www.human.de/data/gb/vr/su-glych.pdf o

www.human-de.com/data/gb/vr/su-glych.pdf

Notas

- Los resultados no son influenciados por las variaciones de temperatura. Controlar **STD** a intervalos convenientes, por lo menos una vez por estuche.
- Los diabéticos descompensados pueden tener niveles extremadamente altos de la forma lábil de aldimina. En este caso la etapa 1 debería aumentarse a 15 minutos para asegurar la eliminación total de esta forma lábil.
- RGT** debe mezclarse muy bien para asegurar una buena reproducibilidad de la prueba.
- Si no hay agitador hematológico disponible, se puede usar un agitador vórtex o agitación manual para agitar **RGT**. Es suficiente agitar **RGT** durante 10-15 segundos varias veces durante la etapa 2.
- Como todos los métodos de diagnóstico, el diagnóstico final no debería basarse en los resultados de una sola prueba, sino que debería fundamentarse en una correlación de resultados con otros hallazgos clínicos.
- STD**, **GCN** y **GCA** fueron probados y se encontraron negativos para HbSAg, HCV y anticuerpos HIV, sin embargo se deben manejar con cuidado como material potencialmente infeccioso.
- RGT** contiene timerosal. No ingerirlo. Evitar el contacto con la piel y membranas mucosas.

Literatura

- Gorka G., Labor-Medizin 1, 30-31 (1985)
- James T.M. et al., Clin. Biochem. 14, 25-27 (1981)
- Nuttall, F.Q., Diabetes Care 21, 1475-1480 (1998)

SU-GLYCH INF 1065701.E 02-2011-17

CE
Human

Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH
Max-Planck-Ring 21 · 65205 Wiesbaden · Germany
Telefon +49 6122-9988-0 · Telefax +49 6122-9988-100 · e-Mail human@human.de



ANEXO 3

Hemoglobina Glicosilada PLANILLA DE INSCRIPCIÓN

Complete la información solicitada en letra de molde en forma legible.

Fecha:

Código de Laboratorio:

NOMBRE DEL LABORATORIO: _____

DIRECCIÓN: _____

ESTADO: _____ CIUDAD: _____

TELÉFONO: _____ FAX: _____ e-mail: _____

PROFESIONAL RESPONSABLE: _____

Recuerde que para formalizar su inscripción debe realizar el pago correspondiente, según la hoja de instrucciones

ANEXO 4

Hemoglobina Glicosilada Planilla de resultados Encuesta N° 1

21 Junio 2013

LOTE: 9

FECHA TOPE DE ENTREGA:

CÓDIGO DE LABORATORIO

--	--	--	--	--

La muestra que usted recibe es un hemolizado de glóbulos rojos. Debe mezclar bien antes de procesar. Se deberá analizar su concentración de hemoglobina glicosilada.

CÓDIGO	MÉTODO	REACTIVO	CALIBRADOR	INSTRUMENTO	RESULTADO	UNIDADES
HbA1C						%

FECHA DE RECEPCIÓN: _____

Observaciones: _____

FIRMA Y SELLO



ANEXO 5

TABLA DE CÓDIGOS DE HEMOGLOBINA GLICOSILADA HbA1C

Método	Código
Cromatografía	101
Inmunoturbidimétrico	102
Inhibición de aglutinación de partículas de látex	103
Captura Iónica IMX	104
Otro *	199

Reactivo	Código
Tina-quant-Roche	201
Bayer	202
Tecodiagnóstico	203
Biosystems	204
Biolinker	205
Human	206
Stanbio	207
Otro *	299

Calibrador	Código
Tina-quant-Roche	301
Bayer	302
Otro *	399