



**FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

COMPARACIÓN ENTRE LOS MÉTODOS DE HPLC E  
INMUNOTURBIDIMETRÍA POR INHIBICIÓN PARA LA MEDICIÓN DE HbA1c,  
2020

**Línea de investigación**

**Salud Pública**

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado Tecnólogo Médico en  
la Especialidad de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

**Autor**

Gil Mori, Heisenberg David

**Asesora**

Astete Medrano, Delia Jessica

Código ORCID 0000-0001-5667-7369

**Jurado**

Palacios Butron, Fernando Sarco

Lazon Mansilla, David Felix

Lezama Cotrina, Irene Doraliza

**Lima - Perú**

**2024**



# "COMPARACIÓN ENTRE LOS MÉTODOS DE HPLC E INMUNOTURBIDIMETRÍA POR INHIBICIÓN PARA LA MEDICIÓN DE HbA1c, 2020"

## INFORME DE ORIGINALIDAD

8%

INDICE DE SIMILITUD

7%

FUENTES DE INTERNET

1%

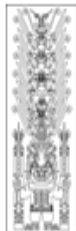
PUBLICACIONES

2%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://cobico.com.ar">cobico.com.ar</a> Fuente de Internet	2%
2	<a href="http://repositorio.unfv.edu.pe">repositorio.unfv.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
3	Submitted to Universidad Nacional Federico Villarreal Trabajo del estudiante	<1%
4	<a href="http://www.corelaboratory.abbott">www.corelaboratory.abbott</a> Fuente de Internet	<1%
5	<a href="http://pdffox.com">pdffox.com</a> Fuente de Internet	<1%
6	<a href="http://repositorio.uwiener.edu.pe">repositorio.uwiener.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1%
7	<a href="http://repositorio.unac.edu.pe">repositorio.unac.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1%
8	<a href="http://pesquisa.bvsalud.org">pesquisa.bvsalud.org</a> Fuente de Internet	<1%



# **FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**COMPARACIÓN ENTRE LOS MÉTODOS DE HPLC E  
INMUNOTURBIDIMETRÍA POR INHIBICIÓN PARA LA MEDICIÓN DE HbA1c, 2020**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: SALUD PÚBLICA**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN  
TECNOLOGÍA MÉDICA EN LA ESPECIALIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO Y  
ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**AUTOR:**

**GIL MORI, HEISENBERG DAVID**

**ASESORA**

**ASTETE MEDRANO, DELIA JESSICA**

**CÓDIGO ORCID: 0000-0001-5667-7369**

**JURADO**

Palacios Butron, Fernando Sarco

Lazon Mansilla, David Felix

Lezama Cotrina, Irene Doraliza

**Lima, Perú**

**2024**

### **DEDICATORIA**

Este trabajo está dedicado a mis padres y a mis hermanos, quienes lograron motivarme todos los días para que siguiera adelante con este trabajo de investigación.

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a mi asesora, la Dra. Delia, por su apoyo, perseverancia y paciencia, por brindarme las herramientas y los conocimientos necesarios para la elaboración de mi tesis.

A la empresa Suiza Lab, en especial a una gran amiga e inspiración. Y, asimismo, a la directora médica, la Dra. Claudia Gianoli Keller, por la confianza y facilidad que me brindó al permitirme planificar el desarrollo y la ejecución de mi tesis.

## ÍNDICE

Resumen .....	6
Abstract .....	7
I. INTRODUCCIÓN.....	8
1.1. Descripción y Formulación del Problema.....	9
1.1.1 <i>Pregunta General</i> .....	12
1.1.2 <i>Preguntas Específicas</i> .....	122
1.2 Antecedentes .....	122
1.3 Objetivos.....	17
1.3.1 Objetivo General.....	17
1.3.2 Objetivos Específicos.....	177
1.4 Justificación .....	17
1.5 Hipótesis .....	19
II. MARCO TEÓRICO.....	20
2.1 Bases Teóricas sobre el Tema de Investigación .....	20
2.1.1 Diabetes.....	20
2.1.2 Metodologías para la Determinación Hemoglobina Glicosilada (HbA1c).....	23
2.1.3 Protocolos para la Comparación de Métodos .....	24
2.1.4 Instrumentos para la Medición de la Hemoglobina Glicosilada (HbA1c).....	25
2.1.5 Términos Básicos de la Guía EP-9A3 .....	27
III. MÉTODO .....	33
3.1 Tipo de Investigación.....	33
3.2 Ámbito Temporal y Espacial .....	33

3.2.1	Ámbito Temporal.....	33
3.2.2	Ámbito Espacial.....	33
3.3	Variables .....	33
3.4	Población y Muestra .....	34
3.5	Instrumentos.....	35
3.6	Procedimientos.....	35
3.7	Análisis de Datos .....	36
3.8	Consideración Éticas.....	36
IV.	RESULTADOS .....	37
V.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	43
VI.	CONCLUSIONES .....	45
VII.	RECOMENDACIONES .....	46
VIII.	REFERENCIAS.....	48
IX.	ANEXOS .....	52

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar la comparación entre el método de cromatografía líquida (HPLC Tosoh G8) e inmuniturbidimetría por inhibición en la medición (TINIA Roche Cobas c502) de hemoglobina glicosilada (HbA1c). **Método:** Se ejecuta un análisis de enfoque cuantitativo, tipo descriptivo, retrospectivo y transversal en el laboratorio Suiza Lab ubicado en la sede del Hospital Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara durante el periodo 2020. **Resultado:** Se efectúa el análisis de 40 muestras de pacientes en total. Todas las muestras son procesadas por ambas metodologías en un lapso de 5 días, 8 muestras por cada día en ambos equipos. Los resultados se obtienen siguiendo las indicaciones brindadas por la EP9A-3 de la CLSI, usando la fórmula de la recta obtenida por el procedimiento de regresión de Passing-Bablok ( $y = 0.9379x + 0.4856$ ), donde en las proximidades de los puntos de corte definidos como referencia (5.9 %), el valor diagnóstico (6.5 %) y el propósito terapéutico (7 %), se establece que el desacuerdo entre las metodologías es 2.02 %, 1.26 % y 0.73 % correspondientemente; es decir, se obtienen valores menores del establecido por el NGSP de sesgo (3 %). En esta comparación se logra un  $R^2$  ( $r = 0.992$ ), un sesgo en la gráfica de diferencias de -0.081 % y un porcentaje de 1.63 % de error sistemático o *bias* para las 40 mediciones. No siendo el error de medida significativo, para la EA se aplica la ecuación  $S_{y/x}$  (0.232132267) obteniendo por fórmula ( $Tecal = bias_{meas} + 3s_{meas}$ ), un  $Tecal < ETa$  (2.326396801 % < 10 %). **Conclusiones:** El analito evaluado demuestra que la comparación entre las dos metodologías es aceptada, por ende, se puede hacer el cambio entre TINIA y HPLC sin afectar la emisión de los resultados.

*Palabras clave:* EP9A-3, sesgo, ETa, HbA1c, NGSP, HPLC y TINIA.



## ABSTRACT

**Objective:** To determine the comparison between the methods of liquid chromatography (HPLC Tosoh G8) and immunoturbidity by inhibition in the measurement (TINIA Roche Cobas c502) of hemoglobin glycosylated (HbA1c). **Method:** A descriptive, quantitative, retrospective, and cross-sectional study was carried out in the Suiza Lab laboratory headquarters of the Hospital Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távora during the year 2020. **Result:** it was carried out through the analysis of 40 patient samples, processed by both methodologies in a period of 5 days, 8 samples per day in both teams. The Results were obtained following the indications provided by EP9A-3 of the CLSI, using the equation of the straight line obtained by Passing-Bablok ( $y = 0.9379x + 0.4856$ ), it was established that around the cut-off points established as reference (5.9 %), diagnostic value (6.5 %) and therapeutic objective (7 %), the discrepancy between the methods was 2.02 %, 1.26 % and 0.73 % respectively, a lower value than that established by the NGSP for bias (3 %), a correlation coefficient ( $r = 0.992$ ), a bias in the difference graph (-0.081 %) and 1.63 % systematic error or bias of the 40 measurements, the measurement error being insignificant, for EA we apply the equation  $Sy/x$  (0.232132267) thus obtaining by formula ( $Tecal = bias_{meas} + 3s_{meas}$ ), a  $Tecal < Eta$  (2.326396801 % < 10 %). **Conclusions:** the evaluated analyte shows that the comparison between the two methodologies is accepted, therefore, the change between TINIA and HPLC can be made without affecting the issuance of results.

**Keywords:** EP9A-3, bias, Eta, HbA1c, NGSP, HPLC and TINIA.

## I. INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la Asociación Estadounidense de Diabetes (ADA), el término de diabetes se refiere a un conjunto de condiciones médicas caracterizadas por niveles elevados de glucosa en la sangre, lo que conlleva a dificultades de elaboración o uso de la insulina por parte del organismo.

La prediabetes, por otro lado, toma notoriedad por tener los valores de glucosa en el torrente sanguíneo por encima del rango normal, pero no llegan a alcanzar valores altamente elevados como para que la patología sea valorada como diabetes. Por lo tanto, se considera un trastorno asociado a la progresión en las probabilidades de contraer diabetes tipo 2 (Campuzano, 2011).

Para el año 2012, se registró un total de 61 millones de individuos diagnosticados con diabetes en el continente americano, de los cuales 24 millones residían en América central y del sur, mientras que 37 millones vivían en la región norte de América y el Caribe. Hacia el año 2015, se informó que en Sudamérica y América Central había al menos 29.6 millones de individuos afectados por la diabetes, y aproximadamente el 39 % de ellas no habían sido diagnosticadas. La prevalencia estimada de diabetes varía en diferentes países: en Argentina, Perú y Uruguay es menor al 7 %; en Bolivia; oscila entre el 7 % y el 8 %; en Ecuador, Colombia y Paraguay es del 9 % al 10 %; en Venezuela supera el 12 %; y en Chile y Brasil se sitúa entre el 10 % y el 12 % (Cercado et al., 2017).

El Organización y referente Mundial de la Salud [OMS] (2016) indicó en los perfiles para países con respecto a la diabetes del año 2016 que en territorio peruano el 2 % del total de decesos que se producen en su población se debe a esta enfermedad. En concordancia, el registro de las instalaciones de Informática y Estadística en el país informo que los individuos afectados por la

diabetes superan una cantidad mayor a 2 millones, lo cual representa la decimoquinta causa de mortalidad en el país.

Las pruebas como ingesta oral de glucosa anhidra o más conocida como tolerancia a la glucosa (TOG), glucosa basal y hemoglobina glicosilada (HbA1c) son considerados criterios diagnósticos por la ADA, la cual estableció los valores que se mencionan a continuación como umbrales para cada una de las pruebas. En las pruebas de glucosa basal el resultado normal será inferior a 100 mg/dl, se considera la existencia de prediabetes cuando la glucosa en sangre se encuentra en un rango de 100 mg/dl – 125 mg/dl, y se considera como principio de diabetes al presentar valores de glucosa en el torrente sanguíneo superiores o iguales a 126 mg/dl. En la prueba de TOG los resultados normales son menores a 140 mg/dl, en prediabetes fluctúan en un rango de 140 mg/dl y 199 mg/dl, y en presencia de la diabetes iguala o supera los 200 mg/dl. Pero para el examen de HbA1c el resultado normal es inferior al 5.7 %, cuando hay prediabetes el valor oscila entre el 5.7 % y el 6.4 %, y cuando se desarrolla diabetes el valor es igual o superior al 6.5 %.

Durante el periodo de los años 90, a partir de las investigaciones de ensayo sobre control y complicaciones de la diabetes (*Diabetes Control and Complications Trial-DCCT*) y estudio prospectivo sobre diabetes en el reino unido (*United Kingdom Prospective Diabetes Study - UKPDS*), se identificó como la prueba del control glucémico a la HbA1c. Y desde el año 2010 la ADA añadió esta prueba como un examen útil para el criterio diagnóstico (ADA, 2021a).

## **1.1 Descripción y Formulación del Problema**

El fundamento de la prueba de laboratorio hemoglobina glicosilada (HbA1c) indica que el analito de glucosa se adhiere a la hemoglobina en los hematíes, siendo su concentración proporcionalmente directa a los valores de la glucosa durante un periodo que va desde los 60 días hasta los 120 días que son los equivalentes a la vida en sangre de los hematíes. De esa manera la

prueba brinda un resultado confiable con respecto al control y seguimiento de la glucosa en individuos diabéticos (Yahyaoui, 2008).

Para la cuantificación de la HbA1c se cuenta con diversos métodos analíticos basados en plataformas de trabajo automatizados, entre ellas: métodos enzimáticos, inmunoturbidimétricos y cromatografía líquida de alto rendimiento, mejor conocida como High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Este último es considerado la metodología de referencia por las organizaciones de National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) y la Japan Diabetes Society (JDS) para la medición de HbA1c (Campuzano y Latorre, 2010).

El HPLC tiene como fundamento la separación de los tipos de hemoglobina según la distinción en la carga, la concentración de cada tipo de hemoglobina a eluir es calculada por un espectrofotómetro que calcula la zona bajo cada gráfico de pico y posee programas de tiempo elución corto para la medición de la HbA1c (Yahyaoui ,2008). Este método calcula las concentraciones de HbA1c en prospectiva de la determinación cromatográfica de intercambio catiónico en su etapa inversa, siendo una ventaja trabajar con volúmenes de gran cantidad de muestras, debido a que se obtienen resultados de la primera muestra en 3.5 minutos y los siguientes se obtienen cada 1.6 minutos. De manera adicional el método brinda una gráfica de la cromatografía que permite corroborar el desempeño analítico, encontrando conformidad ya que presenta una precisión y reproducibilidad alta con respecto a los resultados. Una desventaja que presenta el uso de esta metodología es la utilización de instrumentación exclusiva, considerando que en el laboratorio los analizadores realizan múltiples pruebas y diferentes metodologías (Tosoh Bioscience, Inc.©2020).

Asimismo, las técnicas de diagnóstico de laboratorio cuentan con metodologías de inmunoturbidimetría por inhibición (TINIA) donde la muestra de sangre entera es medida de forma

turbidimétrica, siendo menor es la turbidez detectada por el instrumento a mayor concentración de HbA1c. El tiempo de procesamiento, la cantidad de muestras utilizadas para procesar y la rápida liberación del resultado son grandes ventajas que ofrece esta técnica, y a ello se suma el hecho de que admite que los analizadores integren otras metodologías diferentes que permiten realizar otras pruebas. En ocasiones la metodología TINIA arroja una variación en los resultados por ser dependiente del volumen de la muestra del paciente, además, no realiza la perforación de tubo que implica riesgos tanto para el tecnólogo médico como para la muestra, y por la información brindada por NGSP esta metodología sería un equivalente internacional a la metodología de HPLC. Pero teniendo como desventaja el requerimiento de instrumentos de costo elevado e instalaciones acordes a las necesidades de los equipos, lo cual es un impedimento para que pueda estar disponible en los laboratorios (Mores et al., 2016).

En la Argentina los autores Mores et al. (2016) estudiaron los métodos que se utilizan en la determinación de HbA1c, con el objetivo comparar las metodologías de inmunoturbidimetría (IT) con el inmunoensayo (IE) y examinar si los datos obtenidos llegan a ser comparables en lo que refiere a error sistemático permitido. Para ello se usó como referencia la *Guía EP-09A3 Comparación de procedimientos de medición y estimación de sesgos utilizando muestras de pacientes (Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples)* de la Institución de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI), la cual orienta el diseño de experimentos en los cuales se evalúa el sesgo entre dos métodos para el mismo mensurando y permite determinar si ambos métodos proporcionan resultados equivalentes dentro del poder estadístico del experimento.

La razón por la cual se toma este documento es el establecimiento independiente de las características de rendimiento de sesgo, destinado a promover el uso eficaz del análisis estadístico

y la presentación de datos. Por lo descrito y observado, en el marco de este estudio se planteó realizar una comparación de métodos que permita demostrar las variaciones que se presentan al aplicar la HPLC y la TINIA.

### ***1.1.1 Pregunta General***

¿Cuál es la comparación entre la cromatografía líquida y la inmunoturbidimetría por inhibición para la medición de HbA1c?

### ***1.1.2 Preguntas Específicas***

1. ¿Cuál es el desempeño analítico de la cromatografía líquida para la medición de HbA1c?
2. ¿Cuál es el desempeño analítico de la inmunoturbidimetría por inhibición para la medición de HbA1c?
3. ¿Cuál es la diferencia significativa entre las metodologías de cromatografía líquida y la inmunoturbidimetría por inhibición para la medición de HbA1c?
4. ¿Cuál es la correlación entre las metodologías de cromatografía líquida y la inmunoturbidimetría por inhibición?
5. ¿Cuál es el error sistemático o *bias* de cromatografía líquida e inmunoturbidimetría por inhibición?

## **1.2 Antecedentes**

En Argentina Unger et al. (2014) publicaron una investigación titulada *Evaluación del desempeño analítico de tres métodos de cuantificación de hemoglobina A1c* con el objetivo de evaluar el desempeño analítico de tres procedimientos de medición para el análisis de HbA1c: inmunoturbidimétricos, enzimático y HPLC. Por cada procedimiento se analizaron diferentes

materiales de control para HbA1c, con trazabilidad al procedimiento Gold Estándar de IFCC, determinando en los tres análisis la obtención por medio de los resultados de los datos analizados el coeficiente de variación, el *bias*, el error total y el cambio clínico significativo de HbA1c en valor definido como decisivo por NGSP (7.0 %). Para este estudio el único procedimiento que obtuvo un desempeño analítico aprobado mostrando un cambio de NGSP (0.5%) fue el inmunturbidimétrico atribuyendo esto a la variabilidad clínica significativa del individuo. A partir de estos resultados se concluyó que es de suma relevancia el seleccionar un método que cuente con los más básicos requisitos analíticos de calidad para garantizar el uso clínico del resultado de HbA1c.

Desde España los investigadores Godino et al. (2014) publicaron un estudio sobre la *Evaluación multicéntrica de la hemoglobina glicosilada (HbA1c) de Roche Diagnostics en Andalucía*, con el objetivo de evaluar el rendimiento analítico de la prueba TINIA y comparar los resultados de las muestras de sangre utilizando los instrumentos Bio-Rad Variant II y Adams Arkray HA-8160 basados en HPLC. La imprecisión dentro y entre lotes (coeficiente de variación, CV) para los niveles de HbA1c de 5 %, 6 %, 7 % y 8 % fueron 0.77 %, 1.23 %, 1.35 % y 1.26 %; y 2.38 %, 1.51 %, 1.76 % y 2.16 % respectivamente. Para las muestras de control de calidad bajas (5.4 % A1c) y altas (10.1 % A1c) el CV % dentro y entre lotes fue de 1.26 %, 1.43 % y 2 %; y 1.71 % respectivamente.

Este estudio muestra que hubo una buena concordancia entre los resultados de TINIA y Variant-II en todo el rango y con HA-8160 solo hasta niveles del 9 %. Por lo tanto, se terminó que el ensayo cumple con los estándares de calidad necesarios para el uso rutinario, siempre que se mantenga la variabilidad analítica dentro de límites estrechos. Los resultados pueden ser

intercambiables con los sistemas de HPLC probados, pero la interferencia de HbF no se detecta y ocurre en niveles más bajos de lo informado.

En Francia los autores Badiou et al. (2014) publicaron una investigación en la que hicieron una *Comparación de Arkray/ Elitech Adams ha-8180v con Tosoh Bioscience HLC-723 g8 y Bio-Rad Variant II Turbo 2.0 para la determinación de HbA1C*, con el objetivo fue evaluar el rendimiento analítico y la detección de variantes de hemoglobina en el nuevo Arkray / Elitech ADAMS HA-8180V, en paralelo a los instrumentos Tosoh Bioscience HLC-723 G8 y Bio-Rad Variant II Turbo 2.0. Se realizó una comparación y concordancia de métodos para hacer la clasificación de pacientes según las categorías de la ADA mediante la prueba Kappa.

Como resultado del estudio ADAMS HA-8180V demostró una excelente imprecisión intranálisis (0 %), así como una imprecisión entre análisis  $\leq 1.21$  % usando una muestra de sangre y  $\leq 0.94$  % usando controles de calidad. La comparación del método ADAMS HA-8180V con los otros dos sistemas arrojó un coeficiente de correlación muy alto ( $r > 0.995$ ). Se observó una muy buena concordancia (valor kappa  $\geq 0.81$ ) entre los métodos para la clasificación de los pacientes según las categorías de la ADA. Arkray / Elitech ADAMS HA-8180V demostró un alto rendimiento analítico similar a los sistemas anteriores como Biorad (TM) Variant II Turbo 2.0 y Tosoh Bioscience HLC-723 G8. Los tres sistemas permiten una medición de HbA1c de alta calidad y parecen ser intercambiables para el diagnóstico de diabetes o para el seguimiento terapéutico de pacientes sin variantes de hemoglobina.

De igual manera, en Argentina los autores Mores et al. (2016) publicaron hallazgos de una *Comparación de metodologías en la determinación de HbA1c*, específicamente la metodología de inmunoturbidimetría (IT) con la de inmunoensayo (IE) para examinar si los resultados son equiparables en definición de error sistemático permitido. Para ello el estudio uso un total de 66



muestras de individuos, las cuales sirvieron para analizar los valores del analito HbA1c por IT (Cobas C311, Roche) e IE (POC AC1Now®, Bayer). La exploración del gráfico de Bland-Altman calculo un sesgo de 0.3 % para los métodos de IE y el IT, el cual es inferior al valor definido como apto por variabilidad biológica y por IFCC. Por lo tanto, fundamentados en las definiciones de calidad de NGSP y la variabilidad biológica, en este estudio se concluyó que tanto la metodología de POC y IT terminan siendo comparables para medir la concentración de HbA1c.

En Croacia los autores Wu et al. (2016) publicaron una investigación titulada Una evaluación comparativa de las prestaciones analíticas de los analizadores Capillarys 2 Flex Piercing (Sebia, Francia), Tosoh HLC-723 G8 (Japon), Premier Hb9210 (Trinity Biotech, Irlanda) y Roche Cobas 501 Tina-Quant Gen 2 (Roche Diagnostics, Alemania) para la determinación de HbA1c, con el objetivo de hacer una evaluación comparativa de los rendimientos analíticos en las cuatro metodologías antes mencionadas. Como resultado el estudio demostró precisión en ambas categorías de medición como son las bajas y altas de HbA1c en los cuatro analizadores, con cada uno de los CV inferiores al 2 % (unidades IFCC) o del 1.5 % (unidades NGSP). Además, el estudio de linealidad realizado en cada instrumento dio como resultado un  $R^2 > 0.99$  en todo el intervalo. Referente al sesgo de los cuatro analizadores contra los objetivos de la IFCC este resultado ser menor a  $\pm 6$  % (unidades NGSP), señalando una adecuada precisión. De ese modo la confrontación demostró una aceptable correlación y concordancia para cada uno de los analizadores usados en el estudio.

Resalta que en Reino Unido la investigación publicada por Grant et al. (2017) bajo el título *Comparación de un analizador de punto de cuidado para el análisis de HbA1c con el procedimiento de HPLC*, cuyo objetivo fue determinar el desempeño del método. Para ello realizaron una comparación con el método de laboratorio, teniendo así al dispositivo Quo-Test

POCT (EKF diagnostics) que utiliza la tecnología de extinción de la fluorescencia de boronato con un método basado en HPLC para el cálculo de HbA1c, obteniendo muestra de 100 sujetos en tubos de EDTA. En comparación con el D10, Quo-Test mostró un acuerdo del 98 % para evaluación de la intolerancia a la glucosa (IGT y DMT2) y del 100 % para el diagnóstico de DMT2. Se determina que en los resultados conseguidos se contempla una buena concordancia para los métodos D10 y Quo-Test, por lo tanto, se concluyó que el dispositivo POCT proporciona un rendimiento similar a un método de HPLC.

Asimismo, en Croacia los autores Ris et al. (2017) publicaron una investigación titulada *Verificación analítica y evaluación de la calidad del analizador Tosoh HLC-723 GX HbA1c*, con el objetivo de realizar un análisis de verificación y evaluación del Tosoh HCL-723 GX HBA1c, y comparar posteriormente los resultados obtenidos con el inmunoensayo (IA) y la electroforesis capilar (CE). Para verificar la imprecisión total se utilizó el protocolo CLSI EP-15A2 usando materiales de control comercial y muestras combinadas de sangre entera. La métrica sigma se usó en la examinación de los requisitos de calidad, posteriormente los resultados de la HbA1c se compararon con los obtenidos por CE automatizado (MiniCap Flex Piercing, Sebia, Francia) e IA (Tinaquant HBA1c Gen 2, Cobas Integra 400+, Roche Diagnostics, EE. UU.) respectivamente.

En este último estudio el análisis Bland-Altman no reveló ninguna desviación de los resultados entre Tosoh HLC-723GX y CE con una media diferencia 0.0 % (IC del 95 %: - 0.02927 % a 0.02653 %), mientras que la media diferencia de HbA1c contra la IA fue de -0.07 % (IC del 95 %: -0.1039 % a -0.02765 %). Por lo tanto, se concluyó que el rendimiento analítico de la Tosoh HLC-723 GX cumple con los criterios de calidad rigurosos para uso clínico de HbA1c, con base en los resultados comparables con el procedimiento de la CE. Eso implica que la Tosoh HLC-723

GX ofrece una opción de análisis plausible de HbA1c que ofrece una medición fiable en los volúmenes de laboratorios.

### **1.3 Objetivos**

#### ***1.3.1 Objetivo General***

Determinar la comparación entre los métodos de cromatografía líquida y la inmunoturbidimetría por inhibición en la medición de HbA1c.

#### ***1.3.2 Objetivos Específicos***

1. Determinar el desempeño analítico de la cromatografía líquida para la medición de HbA1c.
2. Determinar el desempeño analítico de la inmunoturbidimetría por inhibición para la medición de HbA1c.
3. Determinar la diferencia significativa entre las metodologías de cromatografía líquida y de inmunoturbidimetría por inhibición para la medición de HbA1c.
4. Establecer la correlación entre la metodología de la cromatografía líquida y de la inmunoturbidimetría por inhibición.
5. Calcular el error sistemático o *bias* de la cromatografía líquida y la inmunoturbidimetría por inhibición.

### **1.4 Justificación**

El determinar la cantidad de hemoglobina glicosilada (HbA1c) es una prueba ampliamente utilizada y de las más útiles para los clínicos, dado que provee información de utilidad para evaluar un buen seguimiento y tratamiento de la terapia en los individuos con diabetes. Por ello requerimos

una metodología que permita medir la HbA1c con gran precisión que, además, sea económica, automatizable y fácil de usar, y que nos permita realizar una comparación de los resultados, con los obtenidos en diferentes laboratorios con el uso de otros métodos (Halwachs et al., 1997). Esto en la medida en que, al ser la diabetes una enfermedad que con el tiempo agrava el estado de salud de los pacientes, y afecta cada vez más a un número mayor de peruanos y personas en todo el mundo, es importante implementar métodos estandarizados que estén certificados por el NGSP (2010).

Con la comprensión que se ha generado en los laboratorios clínicos en torno a la cultura del área de calidad, se han incrementado los procedimientos de examinación del desempeño analítico de los procedimientos y sistemas de medición que se emplean en la ejecución de los análisis brindados a sus pacientes. En ese contexto, la ejecución del presente estudio se justifica por la limitada información con data peruana (propia) que se encuentra en el medio y que revela la existencia de variaciones entre las metodologías HPLC y TINIA. Abordar esta vacancia tiene un carácter de urgencia en tanto que se sabe que los cambios en los valores de HbA1c pueden afectar drásticamente la toma de decisiones de los clínicos sobre los pacientes, lo cual lleva consecuentemente a la invalidación de uno de los principales objetivos mundiales de los laboratorios clínicos que es generar y brindar un resultado confiable. Debido a esta preocupación la investigación busca, asimismo, promover la realización de investigaciones a futuro con el fin de que sometan a comparación las metodologías que se emplean para medir la HbA1c, lo cual es de vital importancia en países donde se evidencian brechas en el sector de salud con respecto a la calidad de cada uno de los servicios que lleguen a brindar.

El área de laboratorio clínico de la institución Centro de Apoyo al Diagnóstico Suiza Lab, que se encuentra ubicado dentro del Hospital Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago

Távvara en la Provincia Constitucional del Callao, diariamente se atiende a una gran cantidad de pacientes distribuidos en atención ambulatoria, servicio de emergencia y hospitalización. De estos pacientes a un 5 % se les solicita la prueba de HbA1c. Al contar con las metodologías TINIA y HPLC se hace una comparación entre ambas en este servicio para determinar si existe una variación porcentual respecto al uso de estas metodologías y si esta es significativa, con el fin de indicar la comparabilidad de metodologías y de resultados distintos dirigidos a evaluar lo mismo en una misma prueba. Este hallazgo permite determinar la veracidad de la medición y cuantificar el error sistemático, teniendo así en los resultados logrados asegurada la calidad y contribuyendo con el clínico, con base en esta información, pueda tomar una decisión que garantice la calidad de la atención.

### **1.5 Hipótesis**

Al ser la investigación realizada un estudio de índole descriptivo no se ha requerido la formulación hipótesis.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Bases Teóricas sobre el Tema de Investigación

#### 2.1.1 Diabetes

La Organización Panamericana de la Salud [OPS] (2021) da como definición a la diabetes de ser caracterizada como una enfermedad crónica destacada por el incremento continuo en el torrente sanguíneo de la glucosa (hiperglucemia), debido a que la insulina no es producida en las cantidades suficientes por el páncreas. Aunque esta patología también puede presentarse al no utilizar de manera eficaz la insulina producida en el organismo, realizando así la regulación del nivel de azúcar presente en el torrente sanguíneo. Contando, ahora con diversas formas de diabetes:

- Tipo 1 de diabetes: definida también como dependiente de insulina, tiene la singularidad de realizar una deficiente producción de insulina, lo que genera en el paciente que requiera diariamente una administración de la hormona debido a que en el torrente sanguíneo la glucosa no puede ingresar en las células para convertirse en energía.
- Tipo 2 de diabetes: También llamada no insulino dependiente, es el tipo más frecuente y se da cuando el organismo no produce en cantidades suficientes o no es capaz de emplear la insulina de manera correcta.
- La diabetes gestacional: Se caracteriza porque la glucosa en el torrente sanguíneo de la paciente en periodo gestacional demuestra una elevación de sus valores.

De acuerdo con la ADA la prueba en ayunas de glucosa en plasma (FGP) es un análisis que calcula los valores presentes en el torrente sanguíneo de la glucosa, teniendo al individuo en un estado de ayuno, es decir, cuando no ha ingerido nada de líquidos ni alimento al menos en un

periodo de 8 horas previas a la realización del análisis; requerimiento por el cual este examen generalmente es realizado a primeras horas de la mañana. Para la interpretación de los valores del análisis se manejan lo siguiente: un valor normal debe ser menor a 100 mg/dl, prediabetes si el valor se encuentra dentro del rango que abarca de 100 mg/dl a 125 mg/dl, y diabetes si el valor está entre los 126 mg/dl o es superior. De modo que la diabetes se diagnostica con un resultado de medición en ayunas de la glucosa presente en el torrente sanguíneo sea igual o mayor a 126 mg/dl (ADA, 2021a).

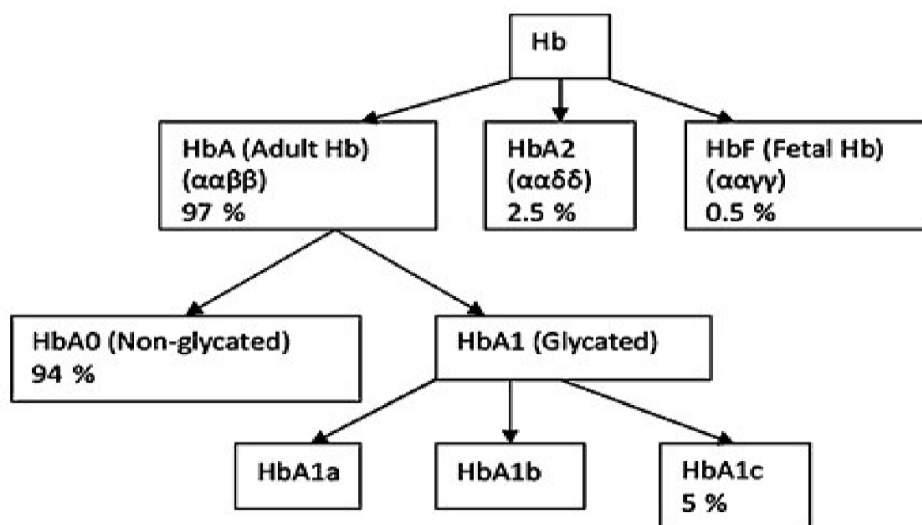
El análisis oral de tolerancia a la glucosa abarca una duración de dos horas en la cual se miden y controlan los valores en el torrente sanguíneo de la glucosa antes y hasta 2 horas transcurrido desde que la persona toma una bebida dulce especial. Tras haber transcurrido las dos horas el paciente debe indicarle al médico cómo su cuerpo procesa la glucosa, quien determinará si procede un diagnóstico de diabetes o no con base en los siguientes valores: los resultados serán normales al presentar un valor menor a 140 mg/dl, se diagnostica prediabetes si el valor va desde los 140 mg/dl hasta los 199 mg/dl, y se advierte la manifestación de diabetes cuando el valor es igual a los 200 mg/dl o superior. De ese modo la diabetes es diagnosticada con un resultado de medición en el torrente sanguíneo de la glucosa transcurrido dos horas y obtenemos un valor igual o superior a 200 mg/dl (ADA, 2021a).

Tiene importancia, ahora bien, hablar de la hemoglobina, la cual está presente en los eritrocitos de la sangre en forma de proteína y se encarga de distribuir el oxígeno para todos los tejidos y células del cuerpo. De las interacciones múltiples que abarca la hemoglobina A (sintetizada en estado normal por un organismo adulto) tiene como la más relevante la que se da en el torrente sanguíneo pues estando en un recurrente contacto con la glucosa que se encuentra ahí, la HbA sufre la modificación en su constitución. Dependiendo del nivel de glucosa con la que

interactúe, es decir, si es mayor o menor la cantidad de glucosa, este contacto genera la obtención en la hemoglobina de un nuevo tipo nombrada como *hemoglobina glicada* o *glicohemoglobina* (HbA1c o A1c). De acuerdo con la definición que proporciona la Federación Internacional de Química Clínica y Medicina de Laboratorio (IFCC) esto es una definición generalizada que se usa para mencionar todas las reacciones bioquímicas que se producen a partir de la interacción entre unos cuantos azúcares y hemoglobina A (HbA) en el torrente sanguíneo (Campuzano, 2011).

### Figura 1

*Tipos de hemoglobina-adultos sanos*



Fuente: Fernández y Cayao (2015, p. 10)

Un organismo sano presenta niveles de hemoglobina normales que se componen de aproximadamente un 97 % de hemoglobina adulta (HbA), de HbA2 en un 2.5 % y hemoglobina fetal (HbF) un 0.5 %. Si la persona presenta un estado de salud óptimo la HbA no glicosilada tiende a acercarse al 94 %, por ende, la glicosilada sería un 6 %. Siendo la HbA1a y HbA1b representantes del 1 % y HbA1c del 5 % (Cercado et al., 2017).

La cuantificación de hemoglobina HbA1c es indicada para poder dar un buen diagnóstico y seguimiento de la diabetes, debido a que este tipo de hemoglobina muestra en un periodo tiempo



definido los valores de glucosa en el torrente sanguíneo. Por ello cuando la HbA1c presenta valores que son bastante elevados este resultado se relacionan con un mayor desarrollo y evolución de la diabetes.

El en torrente sanguíneo la hemoglobina y glucosa se juntan dentro del eritrocito, logrando así permanecer establemente relacionadas durante el periodo de vida del eritrocito. El valor de HbA1c refleja los valores de glucosa de los 120 días anterior al análisis de la muestra sanguínea, sin embargo, la glucosa que más influye en el resultado es la del mes anterior al análisis, logrando así representar un aproximado del 50 % del valor de HbA1c, corresponde al periodo de 31 y 90 días anteriores el 40%, y reflejaría un 10% la exposición de los eritrocitos a la glucosa el periodo de 90 y 120 días antes del análisis (Cercado et al., 2017).

### ***2.1.2 Metodologías para la Determinación Hemoglobina Glicosilada (HbA1c)***

En la siguiente tabla se describen los principios de las metodologías que se utilizan para determinar los valores de hemoglobina glicosilada (HbA1c) en la sangre.

**Tabla 1**

*Metodologías para determinar los valores de HbA1c.*

<b>Metodología</b>	<b>Principio</b>
Electroforesis capilar	Los tipos de Hb son distribuidos en capilares hechos de sílice, de acuerdo con la movilidad electroforética y el flujo electro endosmótico que corresponda a cada tipo, haciendo uso de un alto voltaje en un medio de tampón alcalino. Los tipos de Hb son calculados por medio de absorbancia medida.
Inmunoturbidimetría	La muestra de sangre se hemoliza y la hemoglobina liberada se convierte en un componente que se calcula haciendo uso del fotómetro. La HbA1c presente en la muestra se una con los anti-HbA1c dando como producto un compuesto divisible, mientras que los anti-HbA1c sobrantes entran en contacto con poli haptenos cuya reacción puede calcularse por turbidimetría: a más elevado los valores de HbA1c, inferior es la turbidez detectada.
Cromatografía líquida de alta eficiencia	En la cromatografía el analito recorre una columna por medio de un líquido haciendo uso de una elevada presión. Posteriormente, los compuestos de esta se separan por los intercambios moleculares (absorción, adsorción, etc.) que ocurren en la columna, pues, debido a que estos compuestos se mueven a velocidades diferentes, ello favorece una separación adecuada. Una vez separados el cromatógrafo, por medio de diferentes técnicas,

---

calcula el valor de los analitos formando una gráfica en donde se puede observar la concentración de los componentes analizados.

---

Fuente: elaboración propia, Tosoh Bioscience y Roche.

### ***2.1.3 Protocolos para la Comparación de Métodos***

la Institución de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) es un organismo que junta los diferentes conocimientos y perspectivas de todos los laboratorios a nivel global para el progreso de un objetivo en común: incentivar en el ámbito médico del laboratorio la excelencia por medio de la implementación y elaboración clínica de normas y especificaciones que ayuden a lograr sus responsabilidades de eficacia, eficiencia y aplicabilidad a nivel global en los laboratorios (CLSI EP9A3, 2013). Los documentos elaborados por la CLSI se centran en diferentes especialidades y contienen desde las definiciones más simples que se emplean en el laboratorio hasta los términos que se manejan en el ámbito del área de calidad, verificación, validación y gestión de la información.

La verificación es un método importante en el proceso debido a que evalúa su desempeño y manifiesta que se esté cumpliendo con las condiciones necesarias para su posterior uso, los cuales fueron estipulados como producto de su validación. Este método es de utilidad al momento en que un laboratorio desea implementar un nuevo método analítico, por medio de alcanzar objetivamente la demostración de que se cumple con las condiciones específicas (CLSI EP9A3, 2013).

#### **Tabla 2**

*Guía EP9-A3 para medición del error sistemático y la comparación de métodos*

---

**EP9-A3 para la comparación de procedimientos de medición y estimación de sesgos utilizando muestras de pacientes**

---

---

Propósito	Verificar la veracidad o el error sistemático de un método. Se puede realizar analizando muestras de pacientes por el nuevo método y un método comparativo (referencia), donde se demuestra haciendo uso de las diferencias contempladas entre los métodos el error sistemático.
Muestra	Analizar al menos 40 muestras que cumplan los criterios. Las razones por las cuales se indica obtener una cantidad suficiente de cada muestra es porque los duplicados pueden ser analizados por el método de ensayo y por el método comparativo.
Procesamiento	Las muestras pueden ejecutarse a medida que se recolectan o pueden organizarse en juegos para una posterior prueba diaria de lotes. Dentro de cada conjunto todas las muestras deben ser analizadas en secuencia aleatoria para ambos procedimientos de medición. Para todos los analíticos, el lapso no debe exceder las dos horas para el análisis por cada método. Si el IC para el sesgo predicho engloba el sesgo aceptable definido, entonces los datos nos muestran que el sesgo del método candidato es diferente de la polarización aceptable. Pero si el intervalo de confianza para el sesgo de espera no contiene el sesgo aceptable definido, entonces se puede aplicar el método.
Interpretación	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Si el sesgo aceptable es menor que el límite inferior del IC del sesgo predicho, se puede extraer la siguiente conclusión: Hay un alto nivel de probabilidad (&gt; 97.5 %) de que el sesgo predicho es mayor que el sesgo aceptable y, por lo tanto, el rendimiento del método candidato no es equivalente al método actual y puede no ser aceptable para la aplicación definida.</li> <li>• Si el sesgo aceptable es mayor que el límite superior del IC del sesgo predicho, se puede extraer la siguiente conclusión: Hay una alta probabilidad (&gt; 97.5 %) de que el sesgo predicho es menor que el sesgo aceptable y, por lo tanto, el rendimiento del método candidato es equivalente al método actual y es aceptable para la aplicación definida.</li> </ul>

---

Fuente: CLSI EP9A3, 2013

#### ***2.1.4. Instrumentos para la Medición de la Hemoglobina Glicosilada (HbA1c)***

En el laboratorio se cuenta con instrumentos para hacer la medición de la hemoglobina HbA1c, para lo cual se utilizan principalmente los equipos Tosoh G8 y Cobas c502 Roche.

**2.1.4.1 Tosoh G8.** El analizador Tosoh G8 de HPLC utiliza para la medición de la hemoglobina HbA1c el método de intercambio iónico obteniendo menos de 2 % CV y un tiempo de análisis de solo 1.6 minutos (Tosoh G8, 2020).

- Características
  - Resultados estables de HbA1c en 1.6 minutos con tubo de EDTA
  - Coeficiente de variación (CV) menor de 2 %
  - Mantenimiento diario automatizado

- Cargador disponible para 90 o 290 muestras
- Operación simple de pantalla táctil
- Múltiples tipos de muestras
- Certificación NGSP (Tosoh G8, 2020)
- Calibradores
  - Hemoglobina A1c calibrator set lot No. ZS9001
  - Calibrator (1) y Calibrator (2)
- Controles Propios
  - Level 1 (*white caps*) lot No. 7110
  - Level 2 (*white caps*) lot No. 7110

**2.1.4.2 Cobas c502 Roche.** El Cobas c502 Roche es un equipo modular multicanal fotométrico selectivo para la determinación de inmunoanálisis homogénea y bioquímica (Roche, 2020).

- Características
  - Muestras de suero, plasma, orina, LCR, sangre en EDTA.
  - Parámetros programados: 117 test de medición fotométrica, 3 electrolitos, 3 índices séricos en el módulo fotométrico, 8 fórmulas.
  - 60 test a la par más 3 electrolitos.
  - Utilidad: 600 test por hora (fotométrico) o 1000 test de electrolitos por hora.
  - Automática carga de reactivos sin detención de la rutina.
  - El ultrasonido es usado para realizar la agitación.
  - Formato de cassette para los reactivos.

- Calibradores
  - 04528417 190 calibrator C.f.a.s HbA1c (3 mL x 2 mL) código 674.
- Controles Propios
  - 05479207 190 PreciControl HbA1c norm (4 mL x 1 mL) código 208.
  - 05912504 190 PreciControl HbA1c path (4 mL x 1 mL) código 209.

### 2.1.5 Términos Básicos de la Guía EP-9A3

#### Análisis de Kolmogórov-Smirnov

Es un estudio de índole no paramétrico que tiene como premisa identificar si la frecuencia de dos grupos de datos diferentes tiene una distribución normal alrededor de su media (Rodó, 2020).

#### Tabla 3

##### Prueba de Kolmogórov-Smirnov

<b>Kolmogórov-Smirnov</b>	Roche Cobas c502 y Tosoh G8
Estadístico de prueba (KS)	0.99997247
Estadístico obtenido de tabla teórico (VC)	0.21503488
Conclusión	KS < VC: Ho se acepta KS > VC: Ho se rechaza Se rechaza la Ho, la distribución es no normal

Fuente: elaboración propia

#### Análisis de Shapiro-Wilk

El estudio de Shapiro-Wilk plantea que el conjunto de datos de muestra provenir de una distribución normal.

#### Tabla 4

##### Análisis de Shapiro-Wilk

<b>Shapiro-Wilk</b>	Roche Cobas c502	Tosoh G8
SW calculado	0.7997619	0.803388613
SW teórico	0.94	0.94
Conclusión	SWc < SWt: Ho se rechaza SWc > SWt: Ho se acepta	

---

Al ser el SWc menor que el SWt se rechaza la Ho, por lo tanto, los datos tienen una distribución no normal.

---

Fuente: elaboración propia.

### Coeficiente de correlación ( $R^2$ )

Este análisis calcula el grado de correlación de dos variables aleatorias con respecto a su relación lineal, debiendo ubicarse en el rango de -1 a +1. Teniendo como interpretación con un resultado mayor a cero una relación positiva y menor a cero una relación negativa (CLSI EP9A3, 2013).

El  $R^2$  se usa en la medición de datos paramétricos:

$$r = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2 \sum (y_i - \bar{y})^2}}$$

Where,

r = Pearson Correlation Coefficient

$x_i$  = x variable samples       $y_i$  = y variable sample

$\bar{x}$  = mean of values in x variable       $\bar{y}$  = mean of values in y variable

El  $R^2$  de Spearman se usa para medir datos no paramétricos

$$\rho = 1 - \frac{6 \sum d_i^2}{n(n^2 - 1)}$$

### Gráfica de dispersión

La gráfica demuestra los resultados de una comparación entre el procedimiento de medición comparativa en la coordenada horizontal X y el procedimiento de medición candidato en la coordenada vertical Y. Si las mediciones producen una línea recta en el gráfico significa que

a ambas variables les corresponde una alta correlación, pero si las mediciones se dispersan de manera no lineal en la gráfica ello significará que les corresponde una baja o nula correlación (CLSI EP9A3, 2013). Un ejemplo de este tipo de gráficas es Passing-Bablok.

### **Gráfica de diferencias**

La gráfica presenta los resultados de una comparación de un procedimiento de medición, con la concentración de mesurando en el eje horizontal y la diferencia entre el candidato y los procedimientos de medición comparativa en el eje vertical (CLSI EP9A3, 2013, p. 6). Un ejemplo de este tipo de gráficas es Bland-Altman.

### **Veracidad**

Es un indicador de calidad en los laboratorios que representa el nivel de cercanía entre el valor promedio logrado de una distribución de datos y un valor conocido del analito. El cálculo de este indicador se manifiesta regularmente como el *bias* o sesgo (CLSI EP9A3, 2013, p.7).

### **Desviación estándar (Ds)**

Es la medición de dispersión más usada que señala qué tan diseminados se encuentran los datos en proporción a la media: al obtener un resultado elevado de Ds, nos indicara que diseminación de los datos es elevada (Instituto Nacional de Calidad [INACAL], 2018).

### **Intervalo de confianza (IC)**

Se expresa como un indicador en el laboratorio por el cual podremos obtener que en un rango dado de IC se halla el verdadero valor de un parámetro con cierto nivel de certeza expresada en porcentaje, representando que exista la probabilidad de que el parámetro se ubique en el rango dado una determinada proporción de veces.

### **Línea de regresión lineal**

Se define como regresión lineal aquella función que es lineal, porque necesita el cálculo de dos indicadores: la pendiente y la ordenada,  $y = ax + b$ .

### **Bias**

Es la denominación que recibe la diferencia entre la expectativa de los resultados de la prueba y un valor verdadero.

### **HbA1c**

Es una definición que hace referencia a un grupo de elementos que se obtiene de la interacción bioquímica entre algunos azúcares presentes en el torrente sanguíneo y la hemoglobina A (HbA).

### **Desempeño analítico**

Consiste en analizar la precisión, la veracidad, el error total y Cv.

### **Significancia**

Para determinar la significancia se usa una gráfica de dispersión-Passing Bablok y una gráfica de diferencias-Bland Altman. La gráfica de diferencias debe contener al 0 para poder indicar que no se presentan diferencias significativas entre las mediciones de ambas metodologías.

### **Correlación de metodologías**

Consiste en analizar el  $R^2$ , ya sea de Pearson o Spearman (R) (CLSI EP9A3, 2013). Aquí la prueba debe arrojar un valor de  $R^2$  mayor que 0.975 para poder definir que existe una buena correlación entre ambas metodologías.

### **Error total**

Es la combinación del error sistemático más el error aleatorio. Las fórmulas que se utilizan para su cálculo son las siguientes:

$$\text{Error total} = \text{error sistemático} + 1.65 \times \text{error aleatorio}$$



$$TE_{\text{cal}} = \text{bias}_{\text{meas}} (\text{diferencia de promedios}) + 3s_{\text{meas}} (\text{DE (replicación)}) / (S_{x/y})$$

### **Error sistemático**

La exactitud e inexactitud o, como se prefiere hoy en día, la veracidad se produce de una cantidad infinita de cálculos de este mensurando, generando así el valor medio, las cuales son realizadas en condiciones de repetibilidad, menos el valor verdadero del mensurando que puede ser medido de diferentes formas, el cual es usualmente medido en forma de sesgo, pero también puede ser expresado en términos porcentuales (CLSI EP9A3, 2013). Un ejemplo de este error es el *bias*.

### **Error aleatorio**

Este error es considerado sinónimo de imprecisión o precisión, se manifiesta como la diferencia entre un resultado determinado de una medida y el resultado promedio que se observaría de un cálculo infinito de mediciones de este mensurando realizadas teniendo en cuenta los requisitos de repetibilidad. Este error puede ser medido y usualmente expresado como coeficiente de variación. Un ejemplo de este tipo de errores es el *smeas*.

### **Línea de regresión (S<sub>x/y</sub>)**

Hace referencia a la ecuación que se emplea para obtener la desviación estándar alrededor de la línea de regresión, lo cual permite obtener el valor del error aleatorio. La ecuación que se emplea para hallar el cálculo es la siguiente:

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - Y_i)^2}{N - 2}}$$

Donde:

$y_i$  = valor individual de  $y$

$Y_i$  = valor teórico de  $Y$  utilizando la información de  $x_i$

N = cantidad de valores

### **Coefficiente de variación**

Es una herramienta estadística que reporta sobre la dispersión relativa de un conglomerado de datos (CLSI EP9A3, 2013), por ello los datos que se usan para obtenerla son la desviación estándar población y la media poblacional. La ecuación utilizada para el cálculo del coeficiente es la siguiente:

$$CV = ds / m$$

### III. MÉTODO

#### 3.1 Tipo de Investigación

La investigación se centra en un enfoque de tipo descriptivo-comparativo, cuantitativo y corte transversal.

#### 3.2 Ámbito Temporal y Espacial

##### 3.2.1 Ámbito Temporal

Los datos tomados en esta investigación se recogieron en un periodo de tiempo que abarca los meses de septiembre a diciembre del año 2020.

##### 3.2.2 Ámbito Espacial

El estudio se desarrolla en las instalaciones de laboratorio clínico de la empresa Centro de Apoyo al Diagnóstico Suiza Lab que se encuentra ubicado en el Hospital Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara en el distrito de La Perla, en la Provincia Constitucional del Callao.

#### 3.3 Variables

**Tabla 5**

*Operacionalización de las variables*

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Indicador	Instrumento de recolección
Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)	Es una definición que hace referencia a un grupo de elementos que se	El analito está en la fase móvil y pasa por una columna a alta presión, los	Cuantitativa	Razón	Desempeño analítico	Ficha de datos
HbA1c					Significancia	Base de datos

<p>Inmuno-turbidimetría por inhibición (TINIA) HbA1c</p>	<p>Es una definición que hace referencia a un grupo de elementos que se forman a partir de la interacción bioquímica entre algunos azúcares presentes en el torrente sanguíneo y la hemoglobina A (HbA).</p>	<p>compuestos serán separados por interacciones moleculares en la columna, logrando la separación efectiva. Una vez separados el cromatógrafo, por medio de diferentes técnicas, calcula el valor de los analitos formando una gráfica en donde se puede observar la concentración de los componentes analizados.</p> <p>La HbA1c presente en la muestra se una con los anti-HbA1c dando como producto un compuesto divisible, mientras que los anti-HbA1c sobrantes entran en contacto con poli haptenos cuya reacción puede calcularse por turbidimetría: a más elevado los valores de HbA1c, inferior es la turbidez detectada.</p>	<p>Cuantitativa Razón</p>	<p>Error sistemático</p> <p>Desempeño analítico</p> <p>Significancia</p> <p>Error sistemático</p>	<p>Fichas de datos</p> <p>Base de datos</p>
--	--	--	---------------------------	---	---

### 3.4 Población y Muestra

Las características del estudio, según el protocolo de la guía de CLSI EP9A-3, establece que se debe utilizar un mínimo de 40 muestras elegidas al azar. En el marco de este estudio se

procesaron ocho muestras durante cinco días por un periodo de dos horas para procesarlas por medio de las dos metodologías a comparar.

### **3.5 Instrumentos**

Se hizo uso de una ficha para la recolección de datos acorde con las indicaciones dadas en la guía de la CLSI EP9-A3 (ver Anexo 1). En atención a estas se registraron los resultados de HbA1c obtenidos por medio de la aplicación de ambas metodologías en el servicio de laboratorio de Suiza Lab.

### **3.6 Procedimientos**

Se comenzó a desarrollar el proyecto de investigación con la extensión de una solicitud de autorización al laboratorio de Suiza Lab para utilizar los equipos que cuenten con la metodología de HbA1c y TINIA, y también para tener acceso a la data que se produce por ambas metodologías o equipos respectivamente. Para ello, primero se coordinó una familiarización con los equipos por un periodo de una semana, con fin de proceder con la programación de recogida de datos.

De manera previa al análisis de datos se comprobó que el paso de calibración y los controles en ambas metodologías estuvieran correctos, para poder proceder a realizar el análisis de muestras por ambas metodologías. Para obtener, recolectar y procesar las muestras se siguieron las recomendaciones brindadas por la guía de la CLSI EP-9A3.

Posteriormente, se procedió con el procesamiento de forma inmediata, sin centrifugar las muestras, solo se hizo una previa homogenización respetando el plazo de dos horas para poder procesar las muestras en ambos equipos, siguiendo las instrucciones de la guía EP-9A3. Asimismo, estas recomendaciones contenidas en la guía de la CLSI también se tuvieron en cuenta para el almacenamiento de las muestras.

Una vez fueron procesadas las muestras en concordancia con lo dispuesto en la guía EP-9A3 se procedió con el análisis. Se procesaron ocho muestras durante cinco días consecutivos, completando así el procesamiento de un total de 40 muestras por equipo.

### **3.7 Análisis de Datos**

El análisis de los datos abarca lo estipulado en el protocolo de la CLSI, usando los respectivos programas recomendados y teniendo como apoyo el programa de Excel de Microsoft versión 2010.

### **3.8 Consideración Éticas**

Esta investigación no vulneró o afectó al paciente, tampoco altera la confidencialidad, dado que solo se trabajó con los datos obtenidos de la prueba realizada por medio de las dos metodologías que se consideraron. En este proceso no se manejó ningún dato personal de los pacientes. Y para asegurar lo anterior el estudio será sometido al Comité de Ética de la Oficina de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV).

#### IV. RESULTADOS

El estudio llevado a cabo brinda definiciones sobre cuánto error se le puede conceder a un procedimiento de medición sin anular el beneficio clínico de los resultados, contemplando su uso previsto y pudiendo estar basados en diferentes fuentes. Con respecto a este margen de error se tuvo en cuenta la disposición de la CLIA que indica un 10 % como ETA. Los datos presentados en este capítulo son evaluaciones comparativas del rendimiento analítico de dos sistemas de uso común, a saber: Tosoh G8 y Roche c502.

Tanto para la metodología del HPLC como el TINIA se seleccionó el requisito de la calidad según la CLIA para poder aplicar la guía de la CLSI EP-9A3 con respecto al desempeño analítico de ambas metodologías. Este es aceptado según lo dispuesto en la guía de la CLSI EP-15A3, al igual que la información brindada por ambas casas comerciales en sus respectivos insertos.

Al enfrentar los resultados obtenidos frente a los del fabricante se usaron como niveles de decisión los siguientes:  $< 5.7 \%$ ,  $5.7 \%$  a  $6.4 \%$  y  $6.5 \%$   $<$ , los cuales son recomendados como valores esperados según la ADA; además se tuvo como coeficiente de variación los valores que usó el fabricante, los cuales fueron:  $5 \%$ ,  $6.5 \%$ ,  $8 \%$  y  $12 \%$ . Se reportaron como valores de coeficiente de variación los siguientes  $1.84 \%$ ,  $0.68 \%$ ,  $0.98 \%$  y  $1.31 \%$  respectivamente en Tosoh; y en el Cobas c502 las medias  $4.4 \%$ ,  $5.6 \%$ ,  $8.4 \%$  y  $10.6 \%$ ; con un CV de  $1.6 \%$ ,  $1.6 \%$ ,  $1 \%$  y  $1.1 \%$ . Por lo anterior, se observa que la información que aportan los fabricantes cumple con el requisito de tener un  $CV < 3 \%$  como lo indica la NGSP.

Posteriormente, se sometió a comparación el coeficiente de variación obtenido en el estudio con el del fabricante, esperando tener un valor menor o igual y calculando un desempeño analítico aceptado. la comparación se llevó a cabo por regresión de Passing-Bablok y el gráfico de dispersión de Bland-Altman. Se utilizó el programa Excel 2010 para el cálculo estadístico.

Los cálculos de pendiente y ordenada al origen se expresan en compañía del IC al 95 %. Luego se calculó el promedio de ES para las de mediciones evaluadas y en los puntos de dictamen médico se enfrentó con el ES aprobado por el NGSP y el requerido por CLIA. El análisis de la tendencia central, las medias, las medianas y la desviación estándar se presentan en la Tabla 6.

**Tabla 6.**

*Resultados logrados para ambas metodologías (n = 40)*

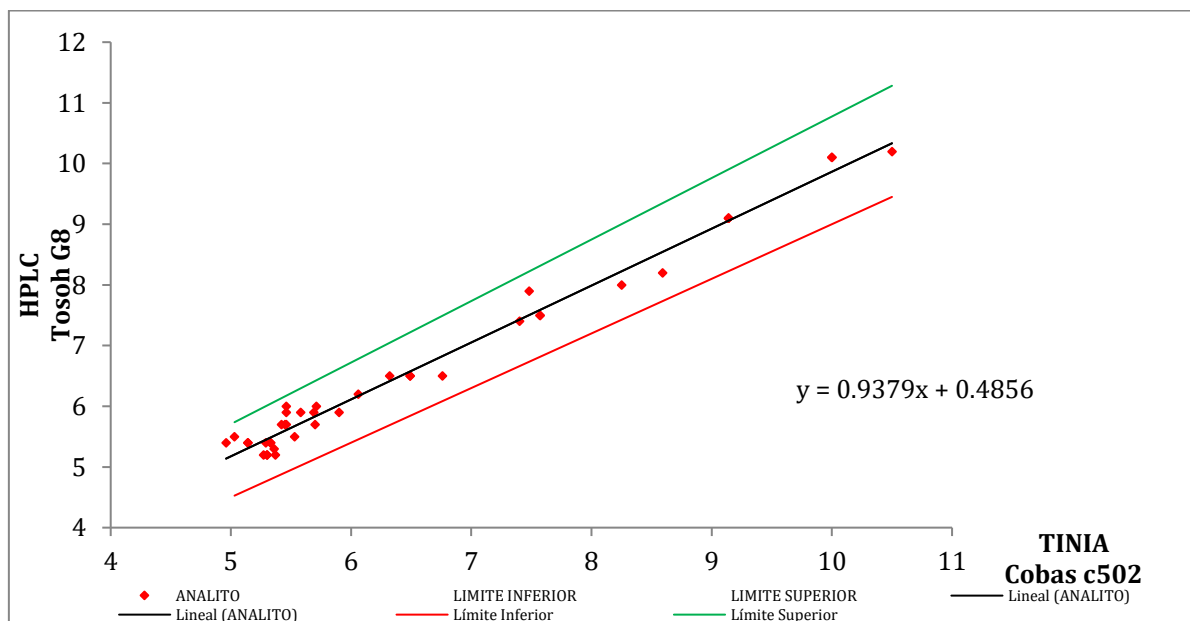
	<b>Cobas c501</b>	<b>Tosoh G8</b>
Concentración menor	4.96	5.2
Concentración mayor	10.5	10.2
Media	6.527	6.60
Mediana	5.695	5.9
Desviación estándar	1.618	1.53

Fuente: elaboración propia

Usando el estudio no paramétrico de Passing-Bablok se calculó la recta  $y = 0.9379x + 0.4856$  (ver Figura 2).

**Figura 2**

*Recta de regresión obtenida por Passing-Bablok para HPLC y TINIA*



Fuente: elaboración propia



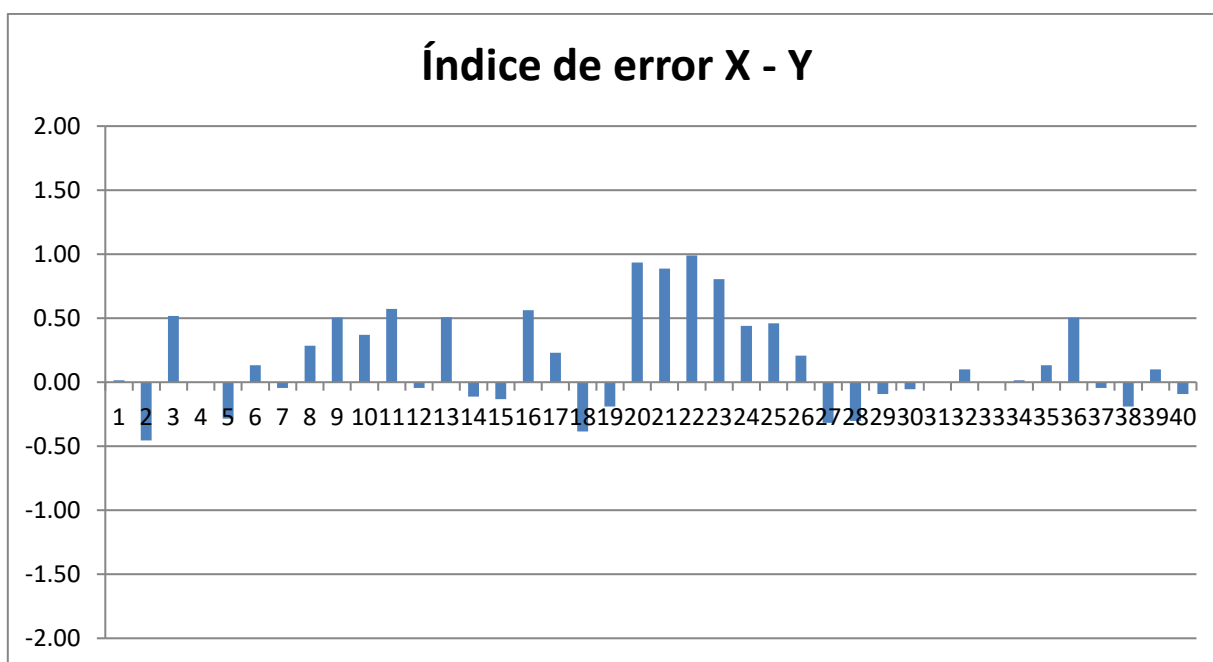
En la figura 2. La coordenada horizontal X representa las mediciones realizadas por el analizador automatizado Cobas c502 (TINIA), y en la coordenada vertical Y las mediciones tomadas por Tosoh G8 (HPLC). Se evidencia la recta de regresión lineal y el IC al 95 %. La recta punteada central corresponde a la recta con ordenada 0 y pendiente 1. para este estudio los indicadores de regresión y su IC 95 % fueron:

- Pendiente: 0.9379 (0.897779 – 0.978078)
- Ordenada al origen: 0.4856 (0.215846 – 0.755439)

Con base en la observación de la diferencia que se genera entre las metodologías de TINIA y HPLC, aplicando la fórmula de la recta resultante del método de regresión de Passing-Bablok, se definió que alrededor de los puntos de corte tomados como referente (5.9 %), valor diagnóstico (6.5 %) y objetivo terapéutico (7 %), la diferencia entre las metodologías fue de 2.02 %, 1.26 % y 0.73 %. Este valor resultó ser inferior al definido por el NGSP (3 %).

### Figura 3

*Índice de error para HPLC y TINIA*



Fuente: elaboración propia

la figura 3 es la estadística que se usó para medir la diferencia entre los dos métodos que se compararían se calculó restando los datos obtenidos del método de comparación (HPLC) menos los datos obtenidos del método referencia (TINIA) y, posteriormente, dividiendo el resultado por el error total permitido (TEa), teniendo en cuenta que los valores son adecuados si se encuentran entre -1 a 1.

Nota: el 10 % será el TEa según lo indicado por la CLIA (2019).

**Tabla 7**

*Criterios de aceptabilidad CLSI EPA-3*

Criterios de aceptabilidad	Coefficiente de correlación esperado (R) > 0.975	Aceptabilidad
		0.992
	Índice de error rango esperado (-1.0 a 1.0)	Aceptabilidad
	-0.45 a 0.99	Acceptable
	% de índices de error esperado $\geq$ 95 %	Aceptabilidad
	100 %	Acceptable

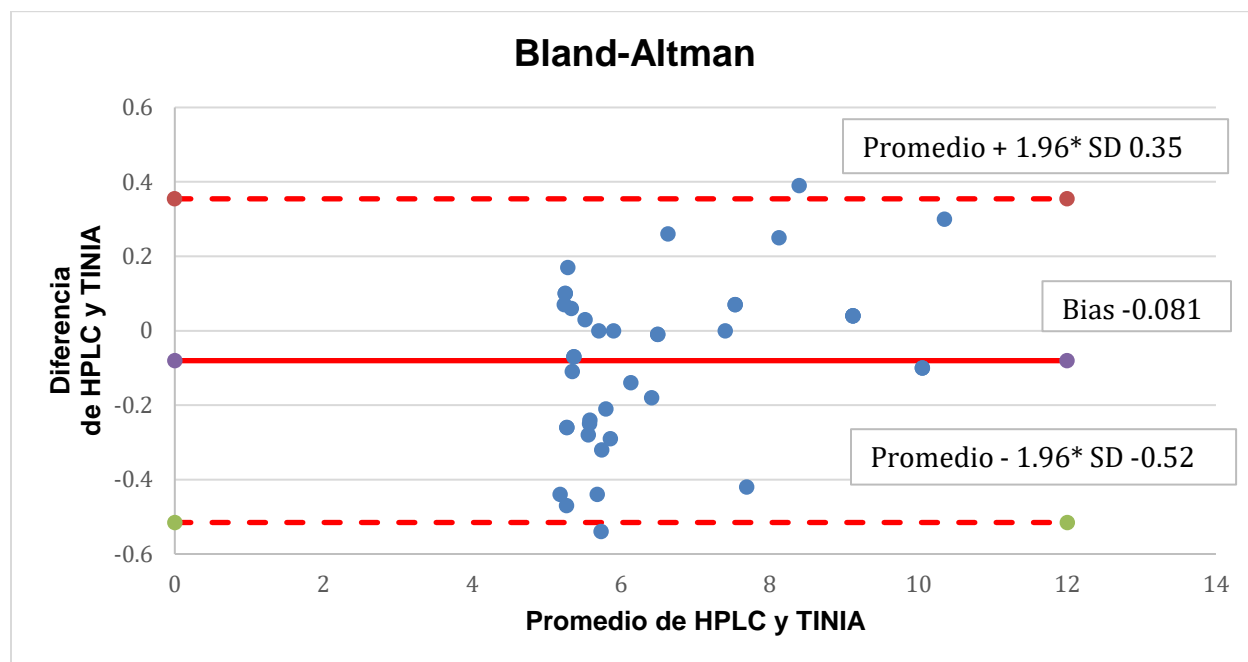
Fuente: CLSI EP9A-3 (2013)

El análisis de regresión se utilizó para determinar si los métodos son precisos dentro del TEa. Con este propósito se evaluó si los métodos cumplían con los siguientes criterios según la tabla 7:

1. El coeficiente de correlación debe ser  $> 0.975$ .
2. Los datos del índice de error deben estar entre -1 y 1, se mide para cada (HPLC – TINIA) /TEa.
3. Si más del 5 % de las muestras tienen un índice de error menor que -1 o mayor que 1 el experimento de exactitud falla.
4. Para los analitos que no pasen la prueba del índice de error, la correlación se evaluará mediante el análisis Six Sigma. La métrica Six Sigma debe ser  $\geq 3.0$ .

**Figura 4**

Gráfico de Bland-Altman para HPLC y TINIA



Fuente: elaboración propia

En la Figura 4 se observa el gráfico de Bland-Altman donde en la coordenada vertical Y se grafican las diferencias entre las mediciones empleando términos porcentuales para los analizadores automatizados Roche Cobas c502 y Tosoh G8. En la coordenada horizontal X se grafica el promedio de las mediciones realizadas por las dos metodologías, la línea horizontal define la media de las diferencias y las líneas horizontales punteadas expresan el  $\pm 1.96$  DS, el gráfico expone lo azaroso de las mediciones cercanos del valor medio y calcula un sesgo de -0.081 % entre la metodología TINIA y HPLC. El valor conseguido es inferior al ES establecido por el NGSP (3 %).

Al ser una distribución de datos no normal solo se utiliza una prueba no paramétrica que fue el índice de correlación de Spearman en el cual se obtuvo un resultado de 0.99.

Al momento de realizar el cálculo de error de medida de la metodología TINIA versus HPLC se tuvo en cuenta que se aplicó como valor verdadero el valor de medición de la metodología TINIA, debido a que esta metodología es la que se encuentra actualmente en uso en el laboratorio. De esa manera se calculó el sesgo para los 40 valores. La fórmula que se usó fue la siguiente:

$$\text{Error sistemático} = ((\text{valor medido} - \text{valor verdadero}) / \text{valor verdadero}) * 100$$

Tras la aplicación de la fórmula se obtuvo como resultado un 1.63 de error sistemático o *bias* de las 40 mediciones, siendo el error de medida no significativo. En la DS alrededor de la regresión lineal ( $S_x/y$ ), que equivale al error aleatorio, se obtuvo como resultado un valor de 0.232132267. Luego se realizó el cálculo del error total ( $TE_{cal}$ ) = 2.326396801 %, obteniendo el siguiente resultado frente al requisito de calidad de error total (< 10 %):

$$TE_{cal} < \eta = 2.326396801 \% < 10 \%$$

## V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La finalidad de este estudio fue confrontar el analizador Tosoh G8 con un método de laboratorio establecido (TINIA), encontrándose que ambas metodologías tuvieron un desempeño analítico aceptable tras aplicar en muestras de sangre, controles de calidad y CV, cuyo valor se encontraba en  $< 2 \%$  según lo recomendado por la Academia Nacional de Bioquímica Clínica (Sacks, 2012). Los resultados obtenidos para el desempeño analítico en el marco este trabajo concuerdan con los hallados por Unger et al. (2014), quienes obtuvieron los siguientes resultados: un CV % y ET % acordes al valor definido por el NGSP ( $< 3 \%$ ) para su metodología enzimática; no obstante, contrariamente en el estudio no se reportó un desempeño aceptable para las metodologías de inmunoturbidimetría y cromatografía de intercambio catiónico debido a que los resultados obtenidos fueron mayores que los propuestos por el NGSP.

Contrario al resultado reportado por estos autores, los obtenidos por Grant et al. (2017) para el CV % fueron de 1.2 % y 1.6 % para la HPLC, y de 3.5 % y 2.7 % para la tecnología de extinción de fluorescencia, con base en estos resultados se concluyó que los métodos tenían un desempeño aceptable según el NGSP. Asimismo, los autores Wu et al. (2016) obtuvieron un valor de CV % para los cuatro sistemas inferiores a los planteados por el NGSP ( $< 2 \%$ ), lo cual denota, al igual que en el marco de este estudio, que el desempeño de los métodos es aceptable.

La diferencia significativa entre las investigaciones tomadas como antecedentes y la presente se observa en los resultados logrados al usar Bland-Altman. En el marco de este estudio se obtuvo como resultado -0.081, lo cual es concordante con los valores hallados por Ris et al. (2017) de 0.33 % y -0.07 %; Grant et al. (2017) de 1.4 %; Wu et al. (2016) de 0.13, 0.13 y -0.04; Badiou et al. (2014) de 0.08 y 0.015; Mores et al. (2016) de 0.3 %. Cabe anotar que todos los

resultados de las concentraciones medidas se encontraron en un valor  $\pm 1.96$  DS, lo cual señala no encontrar una diferencia significativa entre los resultados logrados para ambas metodologías.

El sesgo estimado por medio del método gráfico de Bland-Altman (-0.081 %) y el ES definido por medio de la ecuación de la recta, en la concentración de dictamen médico, manifiestan no estar por encima al ES de referencia (NGSP < 3 %). Por ende, se determinó que no es observable una diferencia significativa entre las metodologías evaluadas.

Con respecto al resultado obtenido al aplicar el  $R^2$ , en este estudio se obtuvo un  $R^2 = 0.992$ . Este resultado es concordante con los reportados por los estudios llevados a cabo por Badiou et al. (2014) con un  $R^2 = 0.995$ , Wu et al. (2016) con un  $R^2 = 0.99$ , Grant et al. (2017) con un  $R^2 = 0.969$  y Godino et al. (2014) con un  $R^2 = 0.998$ . No obstante, estos resultados son contrarios al obtenido en el estudio desarrollado por Unger et al. (2014), puesto que, si bien concuerdan con el valor reportado para el método inmunturbidimétrico y el  $R^2 = 0.996$ , no concuerdan con el valor que se informa para el método enzimático  $E^2 = 0.793$ .

El resultado del sesgo o *bias* en este estudio fue de 1.63 (< 3 % NGSP), lo cual es concordante con lo reportado por Ris et al. (2017) con 0.04 % y Wu et al. (2016) con un sesgo < +/- 6 % para las cuatro metodologías que usaron en su estudio, teniendo como límite de aceptación +/- 6 %. Por el contrario, Unger et al. (2014) obtuvieron un sesgo de 3.7 % y 2.7 %, lo cual indica que la evaluación de sus metodologías fue aceptada solo para la inmunturbidimetría, pero no para los métodos enzimáticos y de cromatografía de intercambio catiónico, pues en ambas metodologías se reportó un desempeño no aceptable en las condiciones en las cuales se realizó el estudio.

Por lo tanto, nuestros resultados demuestran estar de acorde con los datos de estudios previos y aportaran una base para futuras investigaciones de temas similares

## VI. CONCLUSIONES

- Se concluye que habiendo aplicado la guía EP9A-3 se encontró que ambas metodologías son comparables. De ese modo, en este estudio la evaluación para la comparación de métodos es aceptada por ende HPLC y TINIA son intercambiables.
- Además, las metodologías usadas en el estudio mostraron buen desempeño analítico con un valor para el CV que se encontraba dentro de lo recomendado, es decir, estaba por debajo del 3 % para las unidades de la IFCC y para las unidades de NGSP, de esa manera se demostró que los métodos tienen un desempeño analítico aceptable y que se ajustan a los requisitos internacionales propuestos.
- Con las pruebas de bland-altman (incluya el 0) y índice de error (-1 a 1) obtenemos valores dentro de los parámetros definidos para el estudio, por lo tanto, no se cuenta no una diferencia significativa entre las metodologías de HPLC y TINIA.
- En la correlación se concluye que la evaluación de la comparación de metodologías de TINIA y HPLC fue satisfactorio, dado que se cumplen con la especificación de la CSLI EP9-A3 ( $R^2 > 0.975$ ). Ello implica que el método candidato proporciona resultados similares al método comparativo, por lo tanto, existe una correlación lineal entre los datos.
- Los resultados obtenidos en este estudio demostraron que la comparación entre la metodología TINIA y HPLC concluyen con un error sistemático o bias no significativo ( $<TEa$ ).

## VII. RECOMENDACIONES

- Sumado al compromiso y a los continuos esfuerzos de la IFCC, la ADA y el NGSP por lograr una estandarización mundial del cálculo de la HbA1c, en el estudio realizado se ha evidenciado la urgencia de contar con métodos certificados para poder evaluar y validar los métodos que se utilizan para cuantificar los valores de HbA1c en los laboratorios. También se han revisado las recomendaciones que dan los fabricantes para implementar condiciones de uso adecuadas para la metodología que se quiere usar en el laboratorio. Además, se ha resaltado la valía de ejecutar controles internos de calidad del método y de formar parte en programas de examinación externa de la calidad, dado que de la calidad de los resultados obtenidos influenciara en el dictamen médico con respecto al diagnóstico y/o tratamiento de la diabetes.
- Con estos aportes se pretende que el estudio realizado sirva como referencia para la implementación de los procedimientos, sobre todo al momento de intercambiar las metodologías en los laboratorios.
- Si bien el trabajo cumplió con las metas de calidad trazadas, se recomienda que en estudios posteriores similares se utilice una mayor cantidad de datos, debido a que una mayor data brindará más información sobre la estimación del sesgo y abarcará más concentraciones de medida, lo cual beneficiará la consolidación de los datos en las gráficas de dispersión y diferencias. También se recomienda el uso del protocolo EP9-A3 en investigaciones futuras, dado que estas orientaciones brindan información relevante y necesaria para hacer estudios de comparación de métodos.
- Cabe destacar que para el requisito de calidad en el marco de esta investigación se eligió el CLIA ( $ETa < 10\%$ ), pero también se pueden consultar otras fuentes como RiliBÄK en



Alemania, RCPA en Australia y Asia, y Qualab en Suiza para elegir la que más se adecúe a los objetivos trazados.

- Por ello se recomienda que los laboratorios utilicen únicamente métodos de ensayos que están certificados por el NGSP, puesto que el personal debe usar metodologías que representen beneficios para los pacientes.
- De ese modo, con sustento en el estudio ejecutado, se definió que el laboratorio clínico asume una responsabilidad muy grande al establecer el método que utilizará para medir los valores de HbA1c, pues debe garantizar que la metodología usada cuente con calidad óptima, abarquen los requisitos analíticos estipulados, porque ello impactará directamente la calidad y la utilidad clínica del resultado obtenido.

## VIII. REFERENCIAS

- Asociación Estadounidense de Diabetes [ADA]. (2021d). *Home*. <https://www.diabetes.org/>
- Asociación Estadounidense de Diabetes [ADA]. (2021a). *Clasificación Y Diagnóstico De La Diabetes: Estándares De Atención Médica En Diabetes — 2021*. [https://care.diabetesjournals.org/content/44/Supplement\\_1/S15](https://care.diabetesjournals.org/content/44/Supplement_1/S15)
- Asociación Estadounidense de Diabetes [ADA]. (2021b). *Tabla de Contenido*. [https://care.diabetesjournals.org/content/44/Supplement\\_1](https://care.diabetesjournals.org/content/44/Supplement_1)
- Asociación Estadounidense de Diabetes [ADA]. (2021c). *Understanding*. <https://www.diabetes.org/a1c>
- Badiou S., Guillot J., Kuster N., & Bargnoux A. (2014). Comparison of Arkray/Elitech ADAMS HA-8180V with Bio-Rad Variant, II Turbo2.0 and Tosoh Bioscience HLC-723G8 for HbA1c determination. *J Clin Lab Anal.*, 28(6), 428-34. 10.1002/jcla.21705.
- Campuzano, G., & Latorre, G. (2010). *La HbA1c en el diagnóstico y en el manejo de la diabetes*. Editora Médica Colombiana S. A.
- Campuzano, G. (2011). *Diabetes-utilidad de la hemoglobina glicada (HbA1c en el diagnóstico y control de la diabetes)*. <https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2010/myl1105-6b.pdf>
- Cercado, A., Álvarez, G., & Vargas, M. (2017). Bina A1c, Diabetes Mellitus, Nefropatía DiaBética Y Enfermedad Renal Crónica. *Rev Nefrol Dial Traspl.* 37(4), 225-242.
- Godino, A., Vergara, J., Marquez A., Barrero F., & Papay L. (2014). Evaluación multicéntrica de la hemoglobina glucosilada (HbA1c) de Roche Diagnostics en Andalucía. *Clin Biochem.*, 47(12), 1108-11. 10.1016/j.clinbiochem.2014.04.006

- Grant, D., Dunseath, G., & Churm, R. (2017). Comparación de un analizador de punto de cuidado para la determinación de HbA1c con el método de HPLC. *Practical Laboratory Medicine*, 8, 26-29. <https://doi.org/10.1016/j.plabm.2017.04.001>
- Higgins, T., HbA(1c) An Analyte Of Increasing Importance. *Clinical biochemistry* 2012,45, 1038-45.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009912012002755?via%3Dihub>
- Instituto Nacional de Calidad [INACAL]. (2018). *Directriz para la verificación de los procedimientos de análisis cuantitativos en los laboratorios clínicos*.  
<https://www.qualitat.cc/sitebuildercontent/sitebuilderfiles/CENAM.EMA.Validacion-verificacion.pdf>
- Maesa, J., Riejos, P., Mora, C. (2016) “Evaluación del analizador de HbA1c Bio-Rad D-100 Contra Tosoh G8 Y Menarini Ha-8180v”. España.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352551716300154?via%3Dihub>
- Mores, M., Gervan, N., & Salinas F. (2016). *Comparación de métodos en la determinación de HbA1c*”. Argentina. <https://cobico.com.ar/wp-content/archivos/2017/09/COMPARACION-DE-METODOS-EN-LA-DETERMINACION.pdf>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2011). *Use of Glycated Haemoglobin (HbA1c) In The Diagnosis Of Diabetes Mellitus*.  
[file:///C:/Users/David/Downloads/hba1c\\_diagnosis.1111.en.es.pdf](file:///C:/Users/David/Downloads/hba1c_diagnosis.1111.en.es.pdf)
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2016). *Perfiles de los países para la diabetes*.  
[https://www.who.int/diabetes/country-profiles/per\\_es.pdf?ua=1](https://www.who.int/diabetes/country-profiles/per_es.pdf?ua=1)

- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2021). *Diabetes. Informe Mundial Resumen de Orientación*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
- Organización Panamericana de la Salud [OPS]. *Home*. (2021). <https://www.paho.org/es/temas/diabetes>
- Rhea, J.; Molinaro, R., Pathology consultation on HbA(1c) Methods And Interferences. *American Journal Of Clinical pathology*2014,141, 5-16. <https://academic.oup.com/ajcp/article/141/1/5/1766020>
- Ris M., Bozicevic S., & Biljak V. (2017). Verificación Analítica Y Evaluación De La Calidad Del Analizador Tosoh Hlc-723gx Hba. *Practical Laboratory Medicine*, 7, 15-18. <https://doi.org/10.1016/j.plabm.2016.12.001>
- Sacks, D. (2012). Measurement Of Hemoglobin A(1c): a new twist on the path to harmony. *Diabetes Care*, 35(12), 2674–2680. <https://doi.org/10.2337/dc12-1348>
- Unger, G., Ruiz, G., & Benozzi, S. (2014). *Evaluación del desempeño analítico de tres métodos de cuantificación de hemoglobina A1c*. [https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/4663/CONICET\\_Digital\\_Nro.5755\\_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/4663/CONICET_Digital_Nro.5755_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y)
- Weykamp, C., HbA1c: A Review Of Analytical And Clinical Aspects. *Annals Of Laboratory Medicine* 2013,33, 393-400. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3819436/>
- Weykamp, C.; John, W.; Mosca, A., A Review Of The Challenge In Measuring Hemoglobin A1c. *J Diabetes Sci Technol*2009,3, 439-45. <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/193229680900300306>
- Wu X., Chao Y., Wan Z., Wang Y., Ma Y., Ke P., Wu X., Xu J., Zhuang J., & Huang X. (2016). Una evaluación comparativa de las prestaciones analíticas de los analizadores

Capillarys 2 Flex Piercing, Tosoh HLC-723 G8, Premier Hb9210 y Roche Cobas c501 Tina-quant Gen 2 para la determinación de HbA1c” (Croacia). *Biochem Med.*, 26(3), 353-364. 10.11613/BM.2016.039.

## IX. ANEXOS

### Anexo A: Matiz de consistencia

A continuación, en la siguiente tabla se muestra la comparación entre los métodos de HPLC y de inmunoturbidimetría por inhibición para la medición de HbA1c en el 2020.

Problemas	Objetivos	Hipótesis	Variables	Metodología
<p><b>General:</b> ¿Cuál es la comparación entre la cromatografía líquida y la inmunoturbidimetría por inhibición para la medición de HbA1c?</p> <p><b>Secundarios:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. ¿Cuál es el desempeño analítico de la cromatografía líquida para la medición de HbA1c?</li> <li>2. ¿Cuál es el desempeño analítico de la inmunoturbidimetría por inhibición para la medición de HbA1c?</li> <li>3. ¿Cuál es la diferencia significativa entre las metodologías de cromatografía líquida e inmunoturbidimetría por inhibición para la medición de HbA1c?</li> <li>4. ¿Cuál es la correlación entre la metodología de cromatografía líquida y la inmunoturbidimetría por inhibición?</li> <li>5. ¿Cuál es el error sistemático o <i>bias</i> de la cromatografía líquida y la inmunoturbidimetría por inhibición?</li> </ol>	<p><b>General:</b> Determinar la comparación entre los métodos de cromatografía líquida y de inmunoturbidimetría por inhibición en la medición de HbA1c</p> <p><b>Secundarios:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Determinar el desempeño analítico de la cromatografía líquida para la medición de HbA1c.</li> <li>2. Determinar el desempeño analítico de la inmunoturbidimetría por inhibición para la medición de HbA1c.</li> <li>3. Determinar la diferencia significativa entre las metodologías de cromatografía líquida e inmunoturbidimetría por inhibición para la medición de HbA1c.</li> <li>4. Establecer la correlación entre la metodología de cromatografía líquida e inmunoturbidimetría por inhibición.</li> <li>5. Calcular el error sistemático o <i>bias</i> de la cromatografía líquida y de la inmunoturbidimetría por inhibición.</li> </ol>	<p>Al ser un estudio descriptivo no se requirió formular hipótesis.</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) para la HbA1c.</li> <li>2. inmunoturbidimetría por inhibición para la HbA1c.</li> </ol>	<p><b>Tipo de investigación:</b> Se realizó una investigación de enfoque cuantitativo y nivel descriptivo, por el número de mediciones que se hizo fue un estudio transversal y por el tiempo de ocurrencia fue retrospectivo.</p> <p><b>Población:</b> Pacientes del Hospital Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távora en el año 2020.</p> <p><b>Muestra:</b> 40 muestras elegidas al azar. Se procesaron 8 muestras por día durante 5 días, en un periodo de 2 horas en el cual se procesaron por ambas metodologías para poder compararlas.</p>

**Anexo B:** Ficha de recolección de datos CLSI EP9-A3

N.º muestra	Métodos		% de sesgo
	TINIA	HPLC	
1	A1	B1	$C1 = ((B1-A1) / B1 * 100)$
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
21			
22			
23			
24			

25			
26			
27			
28			
29			
30			
31			
32			
33			
34			
35			
36			
37			
38			
39			
40			

FUENTE: CLSI EP9-A3 (2013)



FUENTE: CLSI EP9-A3 (2013)

<b>Error total permitido (ETA)</b>	CLIA, VB, Estado del arte
<b>Pendiente</b>	= pendiente (A1:A40; B1:B40)
<b>Intercepto</b>	= intersección eje (A1:A40; B1:B40)
<b>Coefficiente de correlación</b>	= coef. de correlación (A1:A40; B1:B40)
<b>Límite de detección de HbA1c</b>	%
<b>Sesgo promedio</b>	= promedio (C1:C40)
<b>Error INDEX</b>	= B – Y

**Anexo D:** Carta de autorización para la realización del proyecto de tesis



## **AUTORIZACIÓN PARA EJECUCIÓN DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

Por el presente documento se autoriza al bachiller Heisenberg David Gil Mori la ejecución de su proyecto de investigación titulado: **“COMPARACIÓN ENTRE LOS METODOS DE HPLC E INMUNOTURBIDIMETRÍA POR INHIBICIÓN PARA LA MEDICION DE HBA1C, 2020”**, en pacientes atendidos en el Laboratorio Suiza Lab que se encuentra dentro del Hospital Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara, entre los meses de setiembre de 2020 a diciembre de 2020 para la obtención del grado académico de licenciado en laboratorio clínico y anatomía patológica.

**Lima, 26 de abril del 2023**

**Dra. Claudia Gianoli Keller**  
**Patólogo Clínico**

**C.M.P. 11790 – R.N.E 8799 – IFCAP 122766**