

# TÉCNICAS Y CALIBRACIÓN DEL ISE Y MÓDULO c501 DEL COBAS

ELENA MARTÍN GÓMEZ

Análisis clínicos

Marzo 2021

Hospital Universitario de  
Badajoz

# ÍNDICE

---

ELECTRODO SELECTIVO DE IONES (ISE)

---

CALIBRACIÓN ISE

---

ERRORES Y ALARMAS DE ISE

---

FOTOMETRÍA

---

ENSAYOS FOTOMÉTRICOS

---

CALIBRACIÓN FOTOMÉTRICA

---

ERRORES Y ALARMAS DE FOTOMETRÍA

# TÉCNICAS COBAS c501

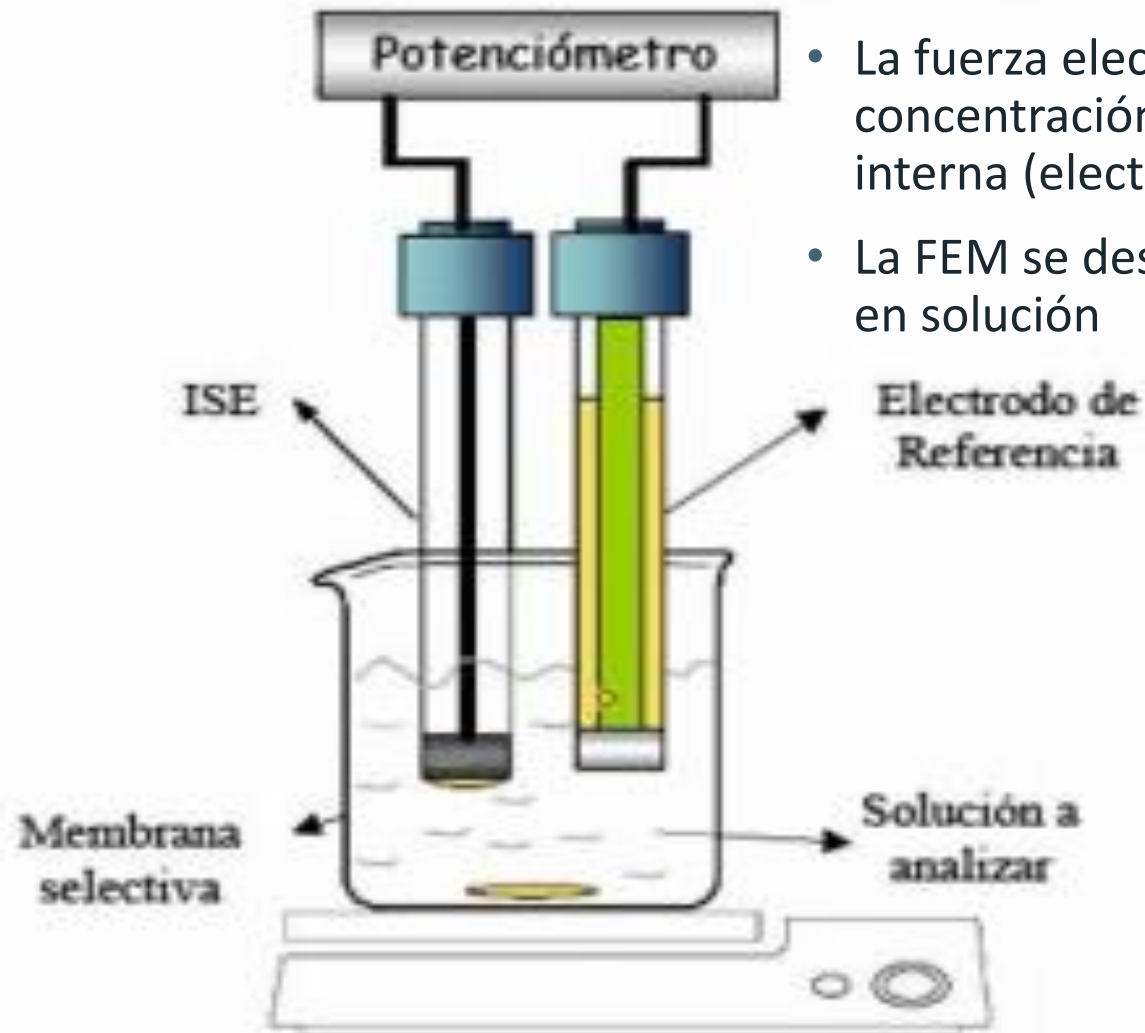
POTENCIOMETRÍA  
(ISE)

FOTOMETRÍA

# ELECTRODO SELECTIVO DE IONES (ISE)



# ISE



- La fuerza electromotriz de la membrana → diferencia entre la concentración del ión de test en la solución analizada y en la solución interna (electrodo de referencia).
- La FEM se desarrolla según la ecuación de Nernst para un ion específico en solución

$$(1) \quad E = E_0 + \frac{RT}{nF} \cdot \ln \left( \frac{f \cdot C_i}{f \cdot C_1} \right)$$

Siendo:

$E$  = la FEM del electrodo

$E_0$  = la FEM estándar

$R$  = la constante

$T$  = la temperatura

$n$  = la carga del ion

$F$  = la constante de Faraday

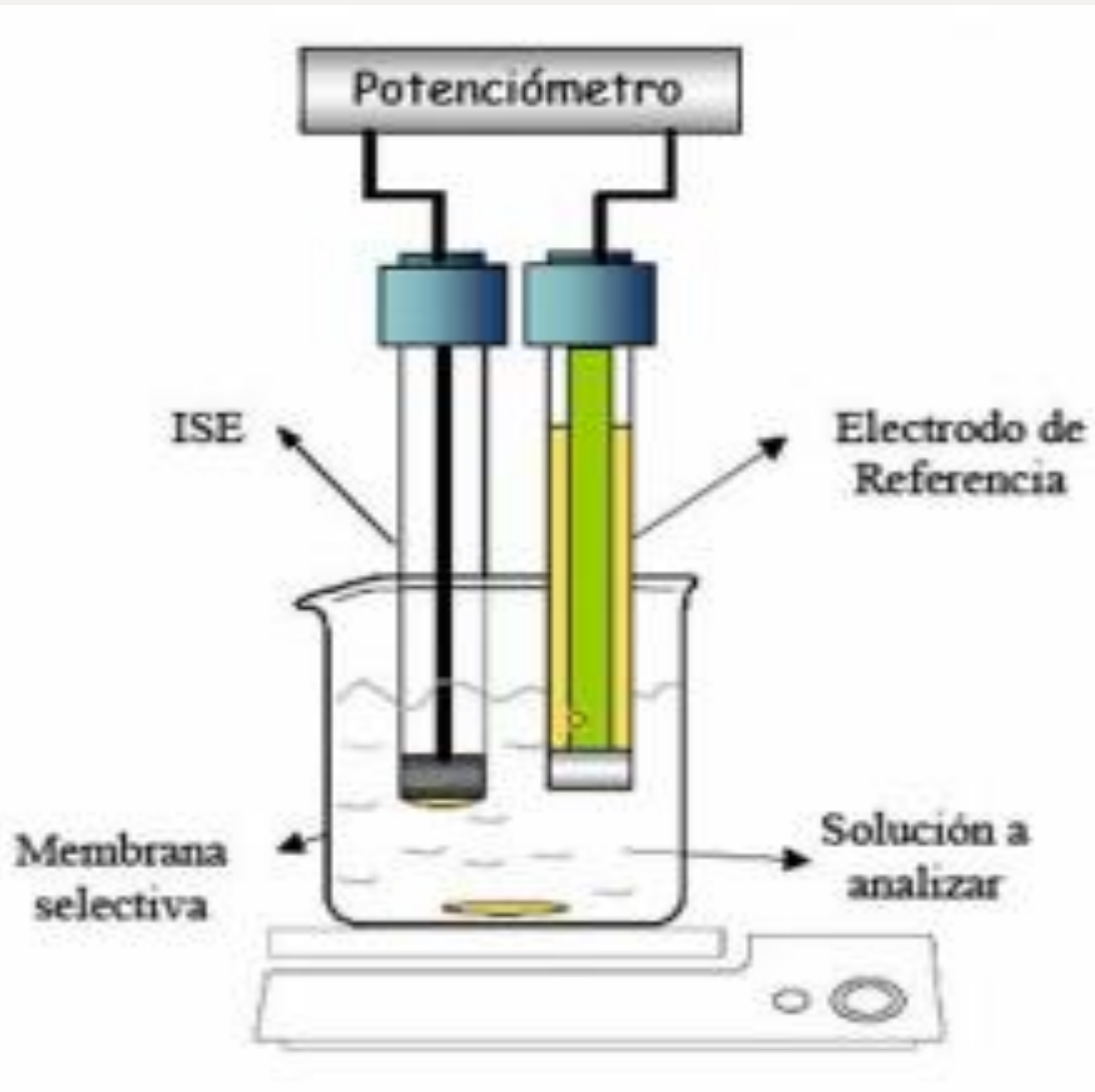
$\ln$  = el logaritmo natural (en base e)

$f$  = el coeficiente de actividad

$C_1$  = la concentración del ion en la solución analizada

$C_i$  = la concentración del ion en la solución interna

# ISE



$$(1) \quad E = E_0 + \frac{RT}{nF} \cdot \ln \left( \frac{f \cdot C_i}{f \cdot C_e} \right)$$

Siendo:

$E$  = la FEM del electrodo

$E_0$  = la FEM estándar

$R$  = la constante

$T$  = la temperatura

$n$  = la carga del ion

$F$  = la constante de Faraday

$\ln$  =

**Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> solo una carga → Constante**

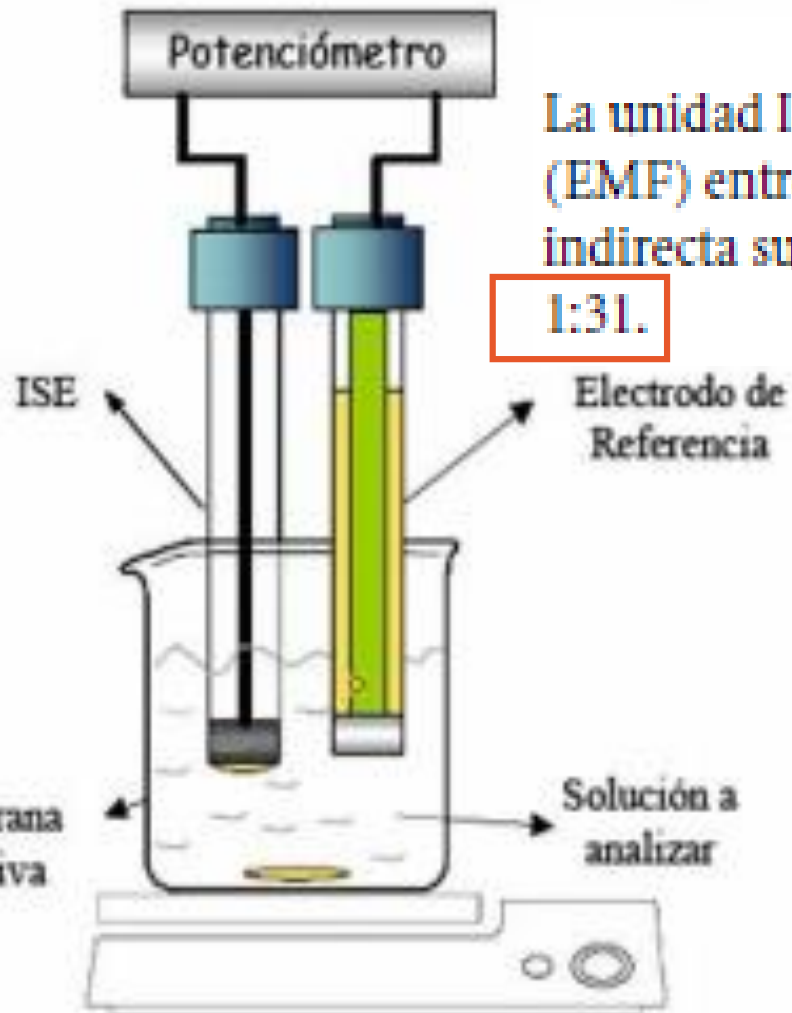
$f$  = el coeficiente de actividad

$C_e$  = la concentración del ion en la solución analizada

$C_i$  = la concentración del ion en la solución interna

**Constante → PENDIENTE**

# ISE



La unidad ISE realiza una medición indirecta en milivoltios de la fuerza electromotriz (EMF) entre los electrodos ion selectivos y el electrodo de referencia. Una medición indirecta supone que todas las muestras presentan una dilución con una relación de 1:31.

No se puede diluir la muestra

# ISE

Para dilución 1:31

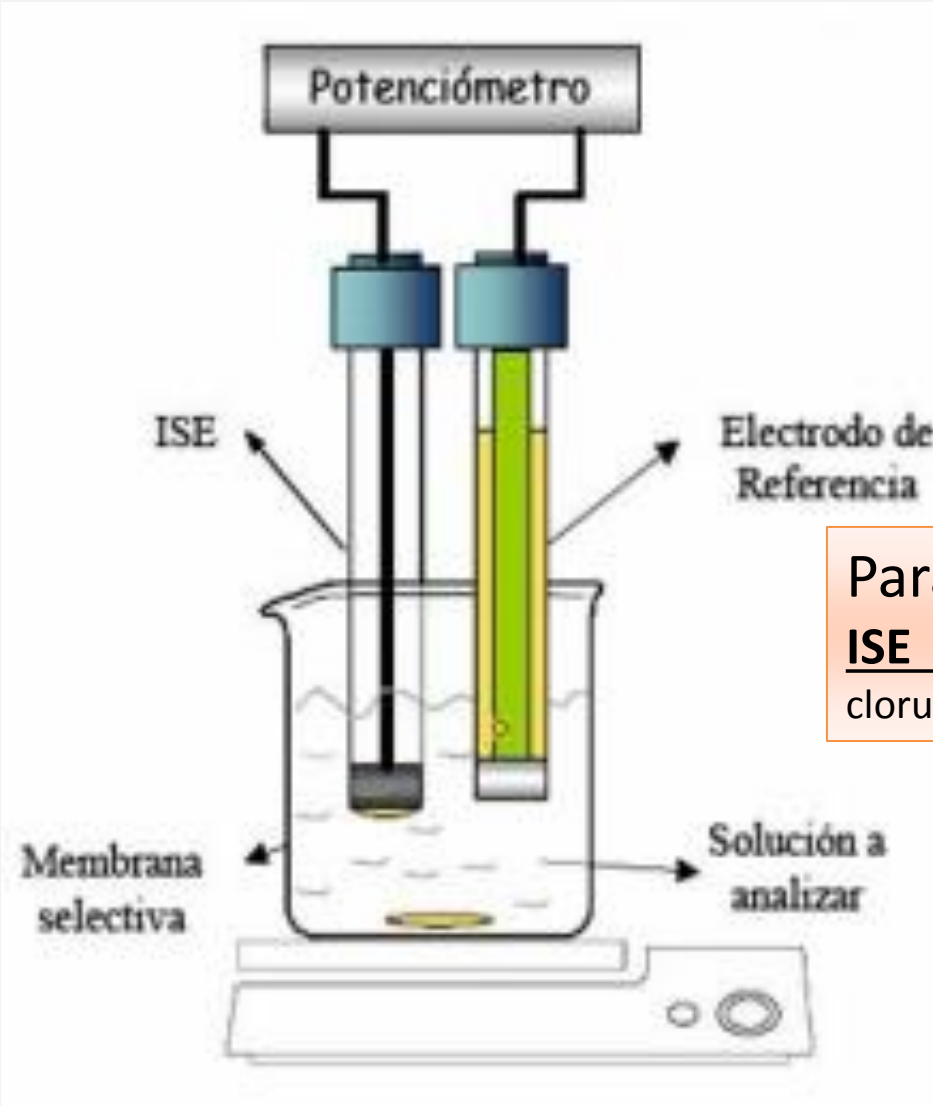
**Diluyente ISE diluent**  
(tampón y trietanolamina)

Para calibración (sol a analizar)

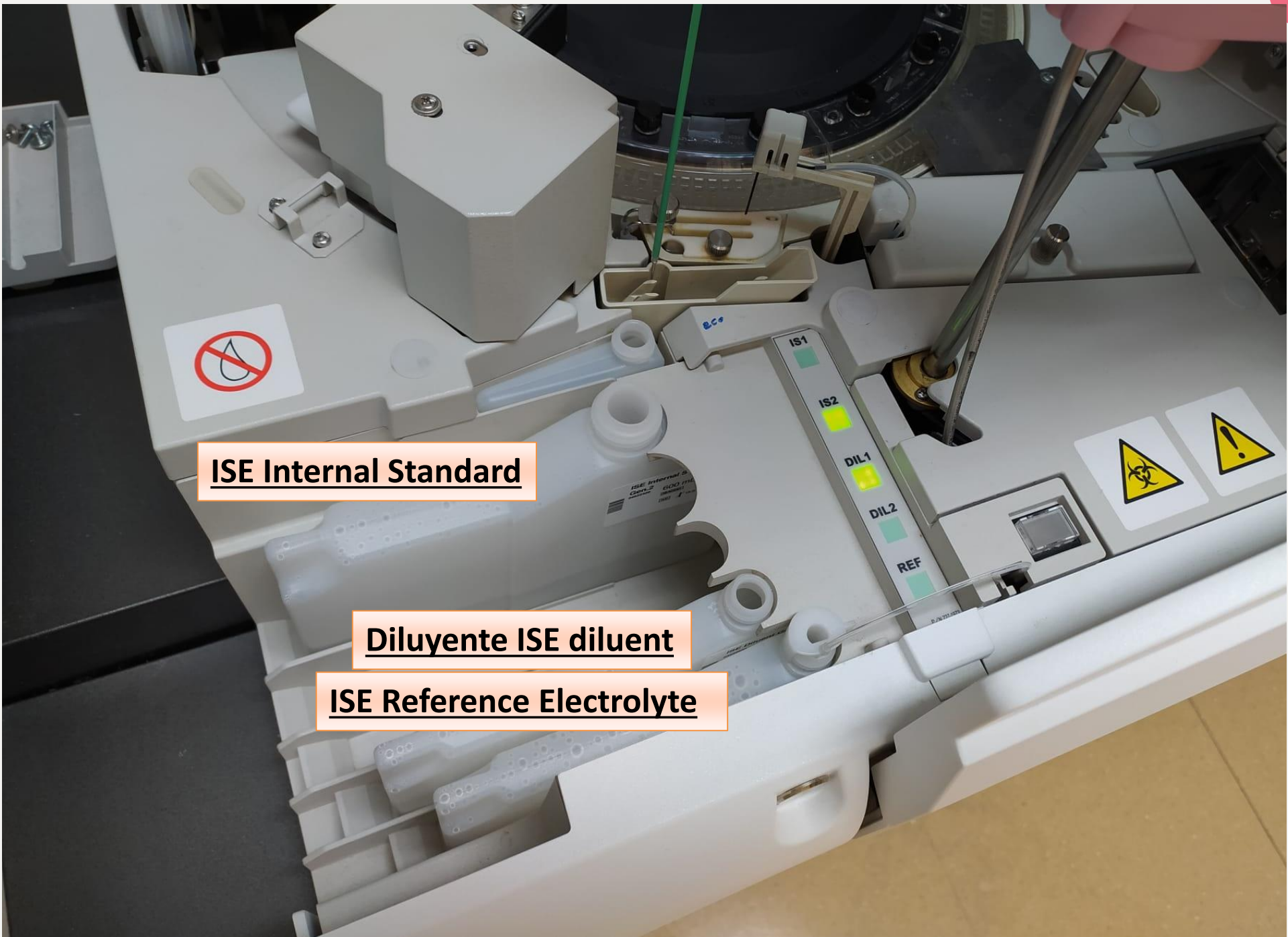
S1: **ISE Standard Low**  
(Na<sup>+</sup> 120 mmol/L, K<sup>+</sup> 3 mmol/L, Cl<sup>-</sup> 80 mmol/L)

S2: **ISE Standard High** (Na<sup>+</sup> 160 mmol/L, K<sup>+</sup> 7 mmol/L, Cl<sup>-</sup> 120 mmol/L)

S3: **ISE Standard High**  
(Na<sup>+</sup> 160 mmol/L, K<sup>+</sup> 7 mmol/L, Cl<sup>-</sup> 120 mmol/L)



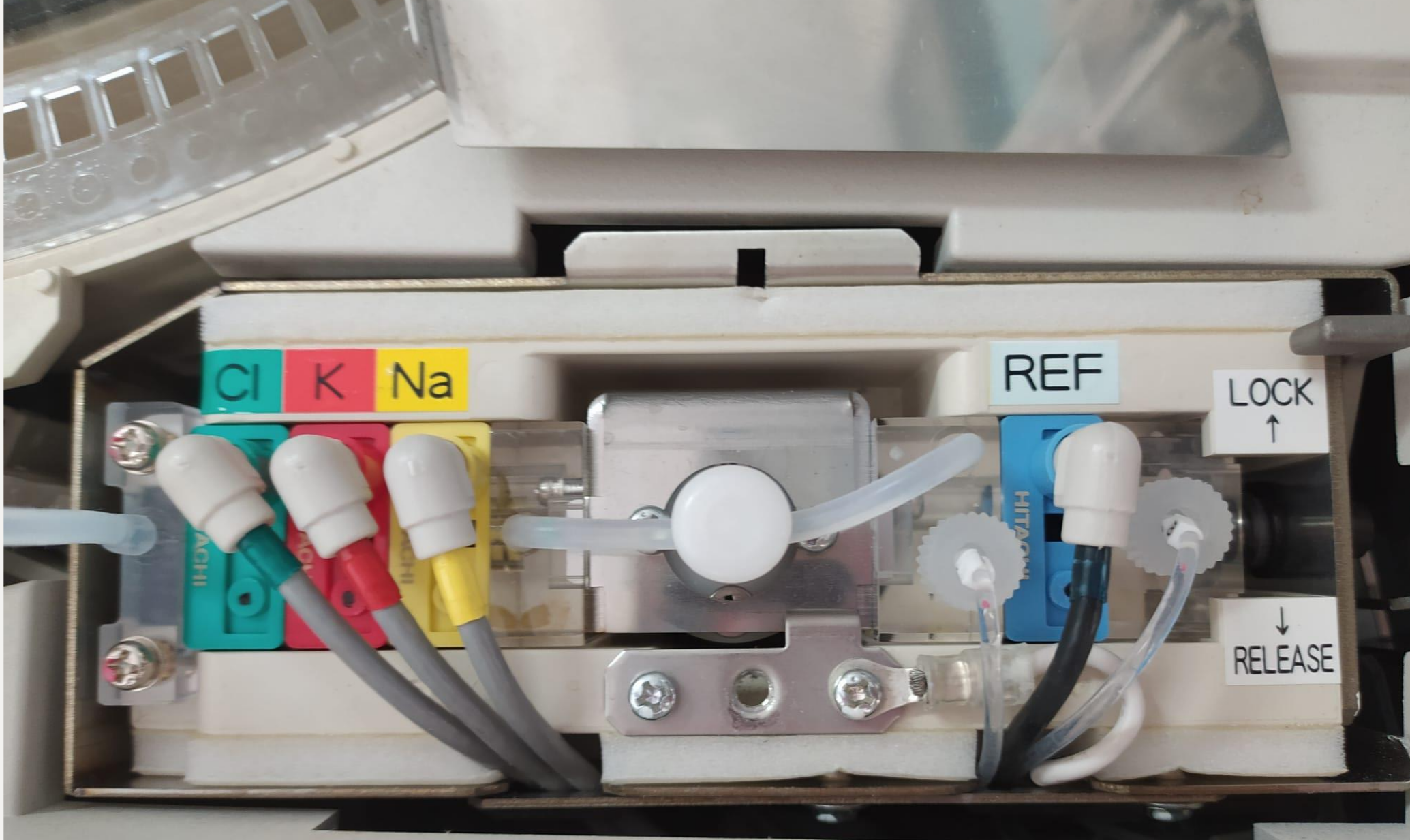
Para electrodo de referencia:  
**ISE Reference Electrolyte** (1 mol/L de cloruro de potasio)



ISE Internal Standard

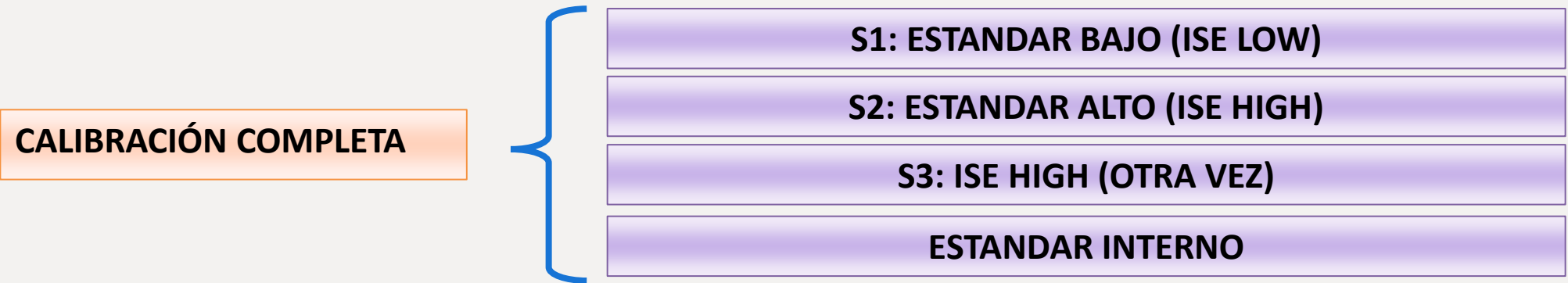
Diluyente ISE diluent

ISE Reference Electrolyte

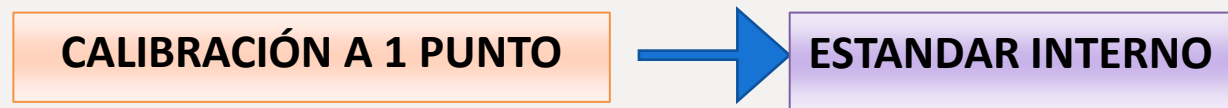


# CALIBRACIÓN ISE

# CALIBRACIÓN ISE



- CADA 24 H SE DEBE HACER UNA CALIBRACIÓN ISE COMPLETA



- ANTES Y DESPUÉS DE CADA MUESTRA

# ESTÁNDAR INTERNO

- Estándar interno (IS) compensa variaciones relacionadas con el sistema
- Se calcula al calibrar, y antes y después de medir una muestra (Calibración a 1 punto)
- 1º calibración → cálculo pendiente → CÁLCULO CONCENTRACIÓN ESTANDAR INTERNO

Ecuación C-2 
$$C_{IS} = C_L \times 10^{(E_{IS} - E_L)/S}$$

|          |                                                           |
|----------|-----------------------------------------------------------|
| $C_{IS}$ | Concentración del ión específico en el estándar interno   |
| $C_L$    | Concentración de entrada del estándar bajo                |
| $E_{IS}$ | EMF (voltaje) del estándar interno para el ión específico |
| $E_L$    | EMF (voltaje) del estándar bajo para el ión específico    |
| $S$      | Pendiente                                                 |

## **ISE Internal Standard** (listo para el uso)

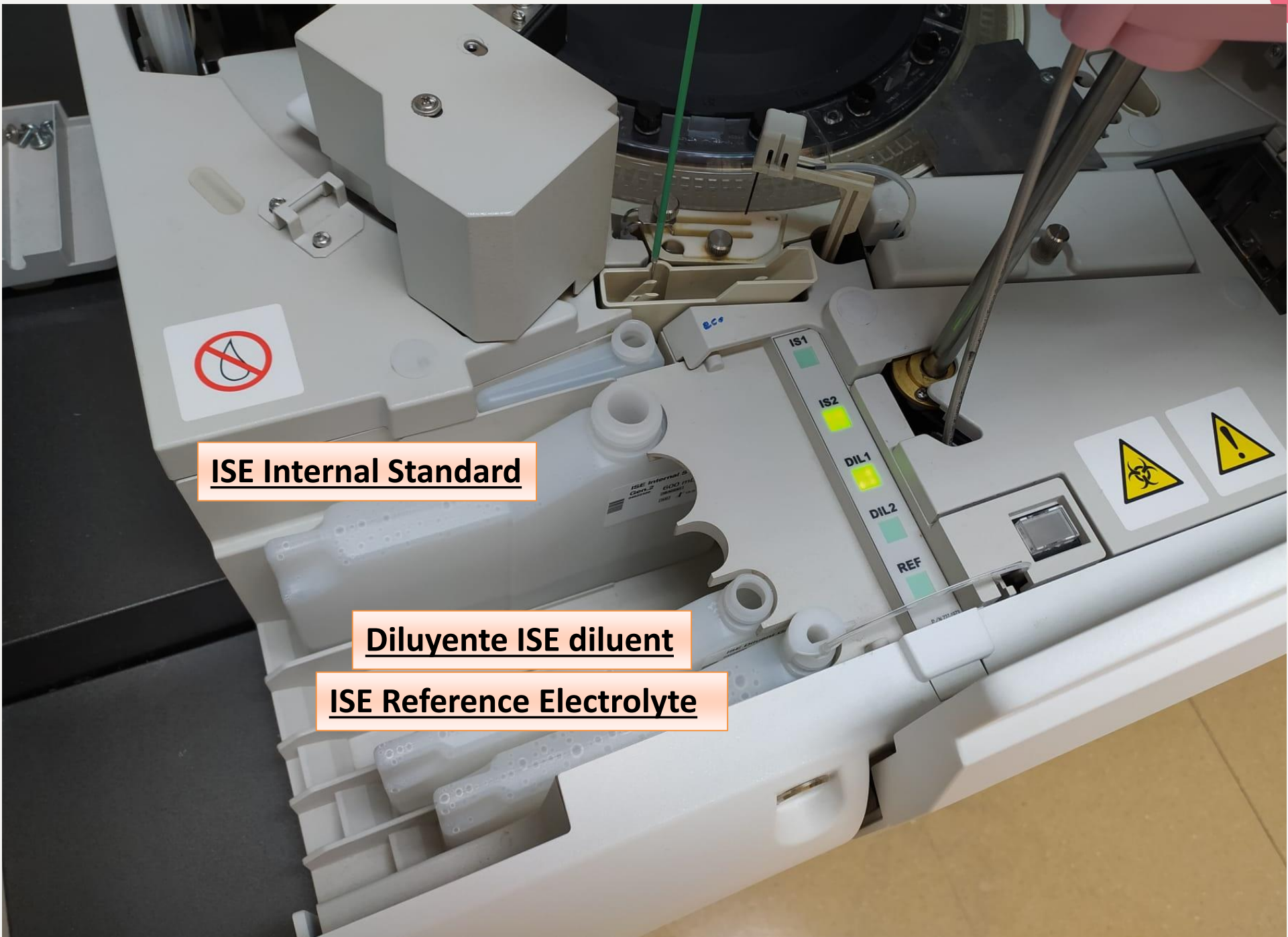
Tampón HEPES: 10 mmol/L

Trietanolamina: 7 mmol/L

Cloruro de sodio: 3.06 mmol/L

Acetato de sodio: 1.45 mmol/L

Cloruro de potasio: 0.16 mmol/L



ISE Internal Standard

Diluyente ISE diluent

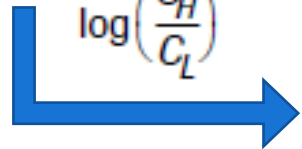
ISE Reference Electrolyte

# CÁLCULO DE LA PENDIENTE

La pendiente se calcula en milivoltios (mV) a partir de los estándares acuosos alto y bajo. La pendiente se calcula según la siguiente fórmula:

Ecuación C-1

$$S = \frac{E_H - E_L}{\log\left(\frac{C_H}{C_L}\right)}$$



$$E = E_0 + \frac{RT}{nF} \cdot \ln\left(\frac{f \cdot C_i}{f \cdot C_o}\right)$$

Pendiente debe estar:

|       |                                 |
|-------|---------------------------------|
| $S$   | Pendiente                       |
| $E_H$ | EMF (voltaje) del estándar alto |
| $E_L$ | EMF (voltaje) del estándar bajo |
| $C_H$ | Concentración del estándar alto |
| $C_L$ | Concentración del estándar bajo |

|               |                 |
|---------------|-----------------|
| $\text{Na}^+$ | De 50 a 68 mv   |
| $\text{K}^+$  | De 50 a 68 mv   |
| $\text{Cl}^-$ | De -40 a -68 mv |

# ISE S3

- ISE High y Low son estándares acuosos, por lo que se añadía un ISE high basado en proteínas para compensar las diferencias entre un suero humano y una matriz acuosa.
- Ahora → compensador el ISE high (más estable).
- El estándar 3 de ISE **afecta a la intersección**, no a la pendiente.
- Mantenimiento regular → diferencias mínimas
- En determinadas condiciones estas diferencias se acentúan y hacen necesaria una compensación.

**Óptimas condiciones cuando el valor de compensación es estable y mínimo**

# FOTO CALIBRACION ISE

|               |                 |
|---------------|-----------------|
| $\text{Na}^+$ | De 50 a 68 mv   |
| $\text{K}^+$  | De 50 a 68 mv   |
| $\text{Cl}^-$ | De -40 a -68 mv |

Fuerza electromotriz del estándar interno

Fuerza electromotriz del ISE Low

Fuerza electromotriz del ISE High

Fuerza electromotriz del ISE High comp

Pendiente

Concentración del estándar interno

Concentración del ISE High comp

Test  
ISE-A-IS2

Módulo  
c501

Calibración → Estado → ISE → Resultado de la calibración

IS EMF

Std (1) EMF bajo

Std (2) EMF alto

Std (3) EMF Compensado

Pendiente

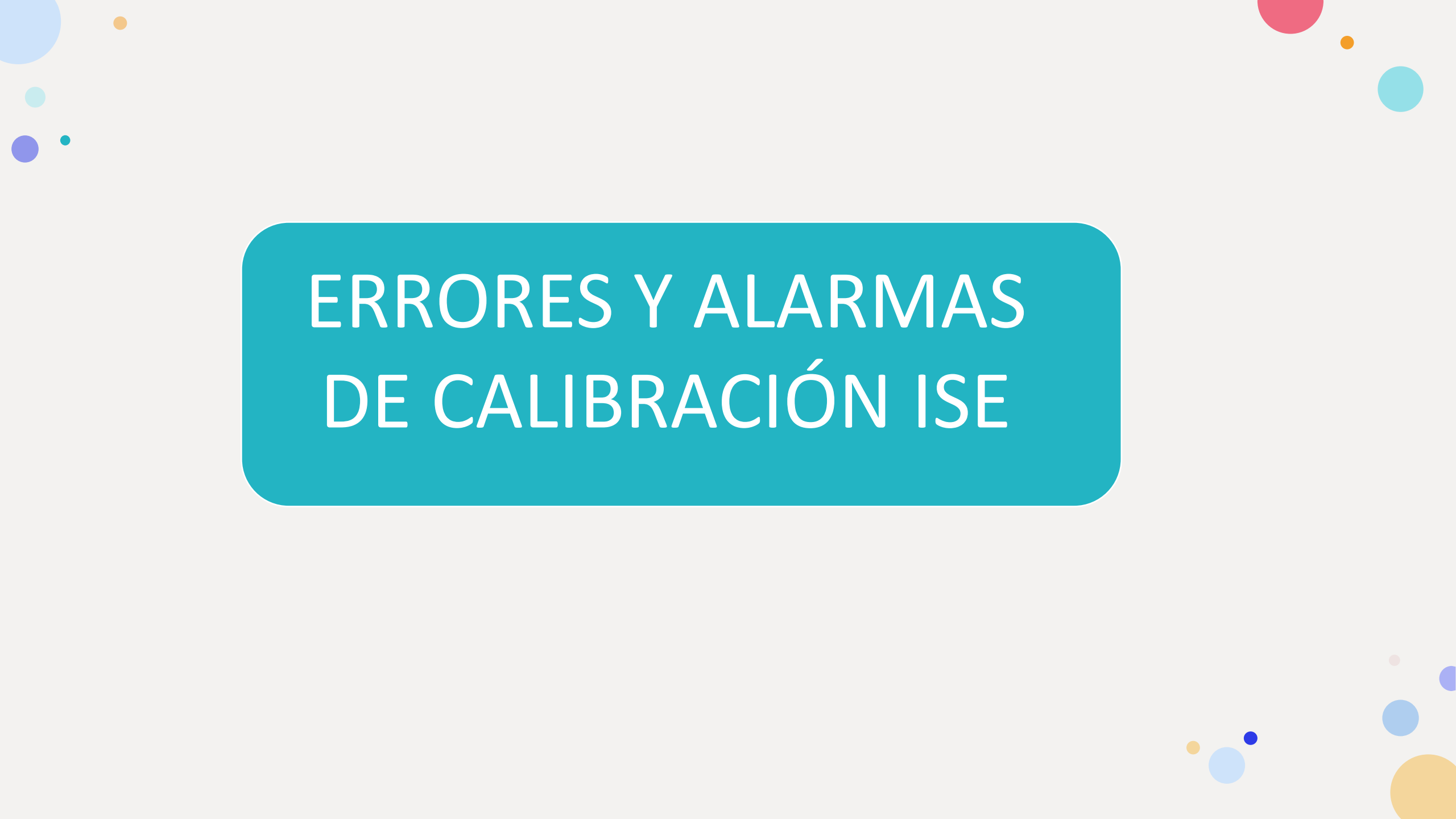
Conc. IS

Std (3) Conc. comp.

| Na    | K     | Cl    |
|-------|-------|-------|
| -50.1 | -52.0 | 133.3 |
| -52.9 | -64.5 | 136.1 |
| -45.2 | -42.1 | 127.3 |
| -44.7 | -42.1 | 126.9 |
| 61.6  | 60.9  | -50.0 |
| 133   | 4.81  | 90.9  |
| 163   | 7.00  | 122   |

Valor Compensación

-3 0.00 -2



# ERRORES Y ALARMAS DE CALIBRACIÓN ISE

# Cal.E

Durante la calibración → comparación del valor de compensación actual con el anterior  
Si la diferencia % es mayor que la especificada en Utilidades – Aplicación – Calibración → **Cal.E**

- Causa*
- La solución estándar o el reactivo no están ubicados en la posición correcta.
  - El reactivo se ha deteriorado o la solución estándar se ha concentrado debido a evaporación.

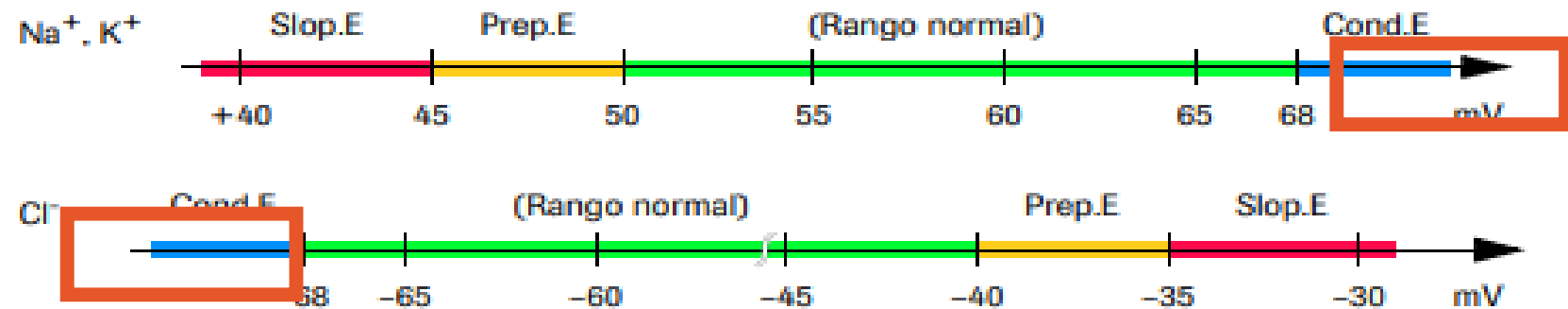
- Remedio*
- Corrija todas las demás alarmas del instrumento y/o de resultados.
  - Compruebe los estándares, reactivos y controles. Si los controles están dentro del rango, y los estándares y reactivos son aceptables, reanude el funcionamiento. En caso contrario, corrija las anomalías y recalibre.
  - Compruebe el límite de compensación en **Utilidades > Aplicación > Calib.**

# Cond.E

Mayor pendiente de lo normal

**Alarma** Preparación (ISE) anómala

**Descripción** El valor de la pendiente es igual a 68,1 mV o mayor para los electrodos  $\text{Na}^+$  o  $\text{K}^+$ , o es igual a -68,1 mV o inferior para el electrodo  $\text{Cl}^-$ . La preparación es inadecuada.



**Ilustración D-4** Alarmas de resultados del ISE y sus correspondientes valores de pendiente (valores FEM)

- Causa**
- El acondicionamiento de un nuevo electrodo es insatisfactorio.
  - La concentración de la solución de estándar bajo/alto es inadecuada.

- Remedio**
1. Procese 10 muestras aleatorias de suero humano.
  2. Vierta ISE bajo [Std (1)], ISE alto [Std (2)] y ISE alto (compensado)/ISE comp. [Std (3)] del calibrador nuevo, póngalo en el rack de calibración y recalibre los ISE.
  3. Reanude la operación. Si se repite la alarma, póngase en contacto con su representante del servicio técnico de Roche.

# Prep.E

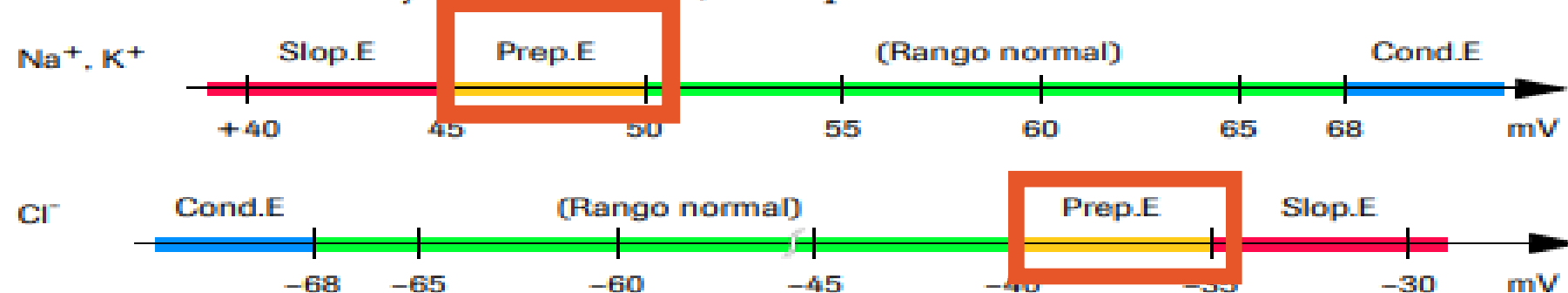
Menor pendiente de lo normal

**Alarma** Preparación anómala

Aparece en **Calibración > Estado > Gráfico Calibración.**

**Descripción**

El valor de la pendiente está dentro del siguiente rango: de 45,0 a 49,9 mV para electrodos  $\text{Na}^+$  o  $\text{K}^+$  y de -39,9 a -35,0 mV para el electrodo  $\text{Cl}^-$ .



**Ilustración D-5** Alarmas de resultados del ISE y sus correspondientes valores de pendiente (valores FEM)

**Causa**

- El electrodo está deteriorado.
- El paso de flujo (flowpath) está contaminado.

**Remedio**

1. Sustituya el electrodo.



La sustitución de electrodos ISE deben realizarla sólo operadores con cualificación especial.

👁 Para obtener más información, consulte el manual de mantenimiento: *Mantenimiento ampliado del módulo c 501 con ISE.*

2. Ejecute la intervención (8) Purga Reactivo para purgar las líneas.

# Slop.E

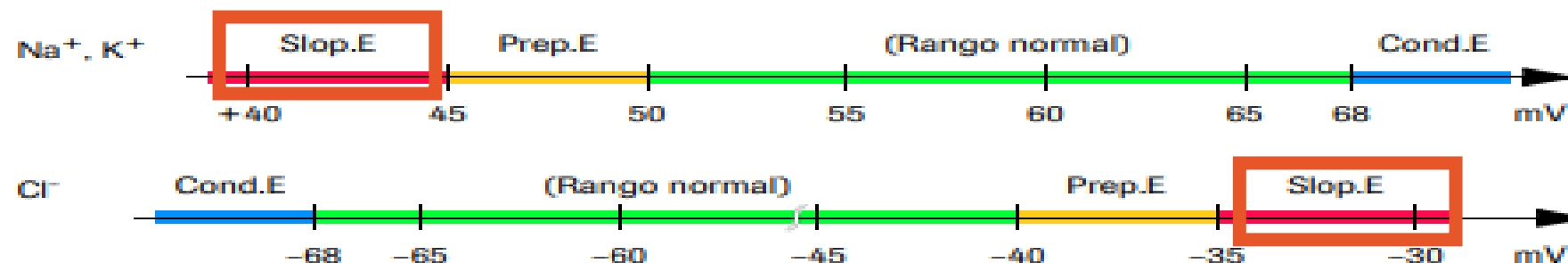
Mucha menor pendiente de lo normal

**Alarma** Pendiente del ISE anómala

Aparece en **Calibración > Estado > Gráfico Calibración.**

**Descripción**

El valor de la pendiente es inferior a 45,0 mV para los electrodos  $\text{Na}^+$  o  $\text{K}^+$ , o es superior a -35 mV para el electrodo  $\text{Cl}^-$ .



**Ilustración D-6** Alarmas de resultados del ISE y sus correspondientes valores de pendiente (valores FEM)

**Causa**

- El electrodo está deteriorado.
- Las soluciones de estándar alto y bajo no están colocadas en las posiciones correctas.
- La pipeta de muestra está taponada.

**Remedio**

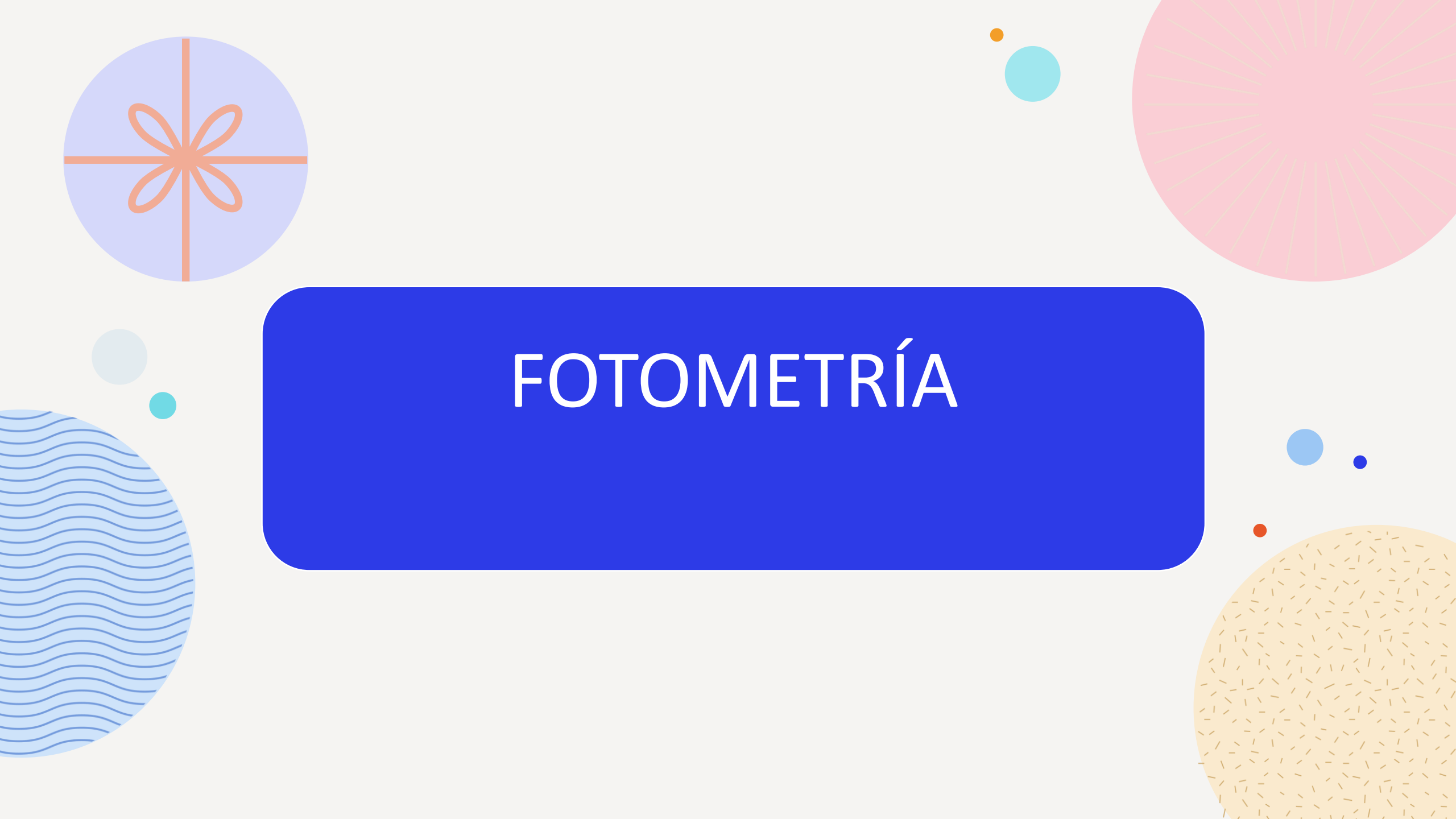
1. Sustituya el electrodo ISE apropiado antes de continuar con el análisis de rutina.
2. Procese 10 muestras aleatorias de suero humano.
3. Prepare calibrador nuevo, póngalo en el rack de calibración y recalibre los tests ISE.
4. Reanude la operación. Si se repite la alarma, póngase en contacto con su representante del servicio técnico de Roche.

# Istd.E

|                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                       |                  |                      |              |                       |                 |
|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|------------------|----------------------|--------------|-----------------------|-----------------|
| <i>Alarma</i>         | Concentración anómala de estándar interno<br>Aparece en <b>Calibración &gt; Estado &gt; Gráfico Calibración.</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                       |                  |                      |              |                       |                 |
| <i>Descripción</i>    | <p>La concentración de la solución de estándar interno (ISE IS) no estaba dentro de los rangos siguientes:</p> <table><tr><td><b>Na<sup>+</sup></b></td><td>120,0-160,0 mmol</td></tr><tr><td><b>K<sup>+</sup></b></td><td>3,0-7,0 mmol</td></tr><tr><td><b>Cl<sup>-</sup></b></td><td>80,0-120,0 mmol</td></tr></table>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | <b>Na<sup>+</sup></b> | 120,0-160,0 mmol | <b>K<sup>+</sup></b> | 3,0-7,0 mmol | <b>Cl<sup>-</sup></b> | 80,0-120,0 mmol |
| <b>Na<sup>+</sup></b> | 120,0-160,0 mmol                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                       |                  |                      |              |                       |                 |
| <b>K<sup>+</sup></b>  | 3,0-7,0 mmol                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                       |                  |                      |              |                       |                 |
| <b>Cl<sup>-</sup></b> | 80,0-120,0 mmol                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                       |                  |                      |              |                       |                 |
| <i>Causa</i>          | <ul style="list-style-type: none"><li>• El paso de flujo (flowpath) está contaminado.</li><li>• El reactivo se ha deteriorado.</li></ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                       |                  |                      |              |                       |                 |
| <i>Remedio</i>        | <ol style="list-style-type: none"><li>1. Si la FEM (EMF) de la solución ISE IS es anómala en el informe de calibración, compruebe el volumen del reactivo ISE IS. En caso necesario, realice una purga de reactivo y recalibre.</li><li>2. Si la FEM (EMF) de ISE IS es normal en el informe de calibración, compruebe la jeringa de reactivos ISE. La FEM (EMF) de ISE IS está idealmente a medio camino entre el estándar bajo y el estándar alto. Los valores ideales de concentración de ISE IS son los siguientes: Na<sup>+</sup>: 140 mmol/l; K<sup>+</sup>: 5 mmol/l; Cl<sup>-</sup>: 100 mmol/l.</li><li>3. Reanude la operación. Si se repite la alarma, póngase en contacto con su representante del servicio técnico de Roche.</li><li>4. Lleve a cabo la intervención (8) Purga Reactivo para la unidad ISE para lavar el paso de flujo.</li><li>5. Sustituya la solución de estándar interno y recalibre.</li></ol> |                       |                  |                      |              |                       |                 |

# Std.E

| Alarma                              | Error de estándar                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                      |                         |             |       |                                  |        |                                  |       |                       |       |                                     |      |                                |       |                      |        |
|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-------------------------|-------------|-------|----------------------------------|--------|----------------------------------|-------|-----------------------|-------|-------------------------------------|------|--------------------------------|-------|----------------------|--------|
| Descripción                         | <p>1. Durante la calibración ISE, se encontró alguna de las siguientes alarmas:</p> <table><tr><th>Alarma de resultados</th><th>Indicador de resultados</th></tr><tr><td>ADC anómalo</td><td>ADC.E</td></tr><tr><td>No se puede realizar el cálculo.</td><td>Calc.?</td></tr><tr><td>Error de nivel de voltaje de ISE</td><td>ISE.E</td></tr><tr><td>Error de ruido de ISE</td><td>ISE.N</td></tr><tr><td>Nivel bajo de potencia de agitación</td><td>&lt;Mix</td></tr><tr><td>Error de agitación ultrasónica</td><td>Mix.E</td></tr><tr><td>Muestra Insuficiente</td><td>Samp.S</td></tr></table> | Alarma de resultados | Indicador de resultados | ADC anómalo | ADC.E | No se puede realizar el cálculo. | Calc.? | Error de nivel de voltaje de ISE | ISE.E | Error de ruido de ISE | ISE.N | Nivel bajo de potencia de agitación | <Mix | Error de agitación ultrasónica | Mix.E | Muestra Insuficiente | Samp.S |
| Alarma de resultados                | Indicador de resultados                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                      |                         |             |       |                                  |        |                                  |       |                       |       |                                     |      |                                |       |                      |        |
| ADC anómalo                         | ADC.E                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                      |                         |             |       |                                  |        |                                  |       |                       |       |                                     |      |                                |       |                      |        |
| No se puede realizar el cálculo.    | Calc.?                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                      |                         |             |       |                                  |        |                                  |       |                       |       |                                     |      |                                |       |                      |        |
| Error de nivel de voltaje de ISE    | ISE.E                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                      |                         |             |       |                                  |        |                                  |       |                       |       |                                     |      |                                |       |                      |        |
| Error de ruido de ISE               | ISE.N                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                      |                         |             |       |                                  |        |                                  |       |                       |       |                                     |      |                                |       |                      |        |
| Nivel bajo de potencia de agitación | <Mix                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                      |                         |             |       |                                  |        |                                  |       |                       |       |                                     |      |                                |       |                      |        |
| Error de agitación ultrasónica      | Mix.E                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                      |                         |             |       |                                  |        |                                  |       |                       |       |                                     |      |                                |       |                      |        |
| Muestra Insuficiente                | Samp.S                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                      |                         |             |       |                                  |        |                                  |       |                       |       |                                     |      |                                |       |                      |        |
| Causa                               | <ul style="list-style-type: none"><li>• El reactivo se ha acabado y debe sustituirse.</li><li>• La concentración del calibrador es incorrecta o el calibrador no está en una posición correcta.</li><li>• El valor de chequeo especificado es inadecuado.</li></ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                      |                         |             |       |                                  |        |                                  |       |                       |       |                                     |      |                                |       |                      |        |
| Remedio                             | <ol style="list-style-type: none"><li>1. Corrija todas las demás alarmas del instrumento y/o de resultados.</li><li>2. Prepare calibrador nuevo; colóquelo en el rack y recalibre.</li><li>3. Sustituya el reactivo, purgue y recalibre.</li><li>4. Seleccione <b>Utilidades &gt; Aplicación</b> para comprobar los parámetros de calibración.</li><li>5. Reanude la operación. Si se repite la alarma, póngase en contacto con su representante del servicio técnico de Roche.</li></ol>                                                                                                          |                      |                         |             |       |                                  |        |                                  |       |                       |       |                                     |      |                                |       |                      |        |

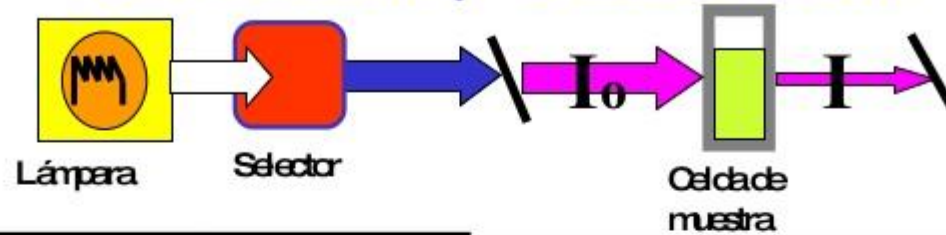
The background is a light gray color with several decorative elements. In the top left, there is a light purple circle containing an orange flower-like shape with six petals and a crosshair. In the top right, there is a large pink circle with thin, radiating lines. In the bottom left, there is a light blue circle with wavy horizontal lines. In the bottom right, there is a light orange circle with a dense pattern of small, dark orange dashes. Additionally, there are several small, solid-colored circles in various colors (orange, teal, light blue, dark blue, red) scattered across the background.

# FOTOMETRÍA

# FOTOMETRÍA

La **fotometría** es una técnica analítica utilizada para medir cuánta luz absorbe una sustancia química, midiendo la intensidad de la luz cuando un haz luminoso pasa a través de la solución muestra, con base en la ley de Beer-Lambert.

## Absorbancia y Transmitancia



### Absorbancia

$$A = \text{Log } I_0 / I$$

### Transmitancia

$$T = I / I_0$$

### Absorbancia y transmitancia

$$A = \text{Log } 1/T$$

### Absorbancia y transmitancia

$$A = -\text{Log } T$$

# Ley Lambert-Beer

La intensidad del producto coloreado (o turbidez) es un indicador de la concentración de los componentes de la muestra.

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot C$$

Donde:

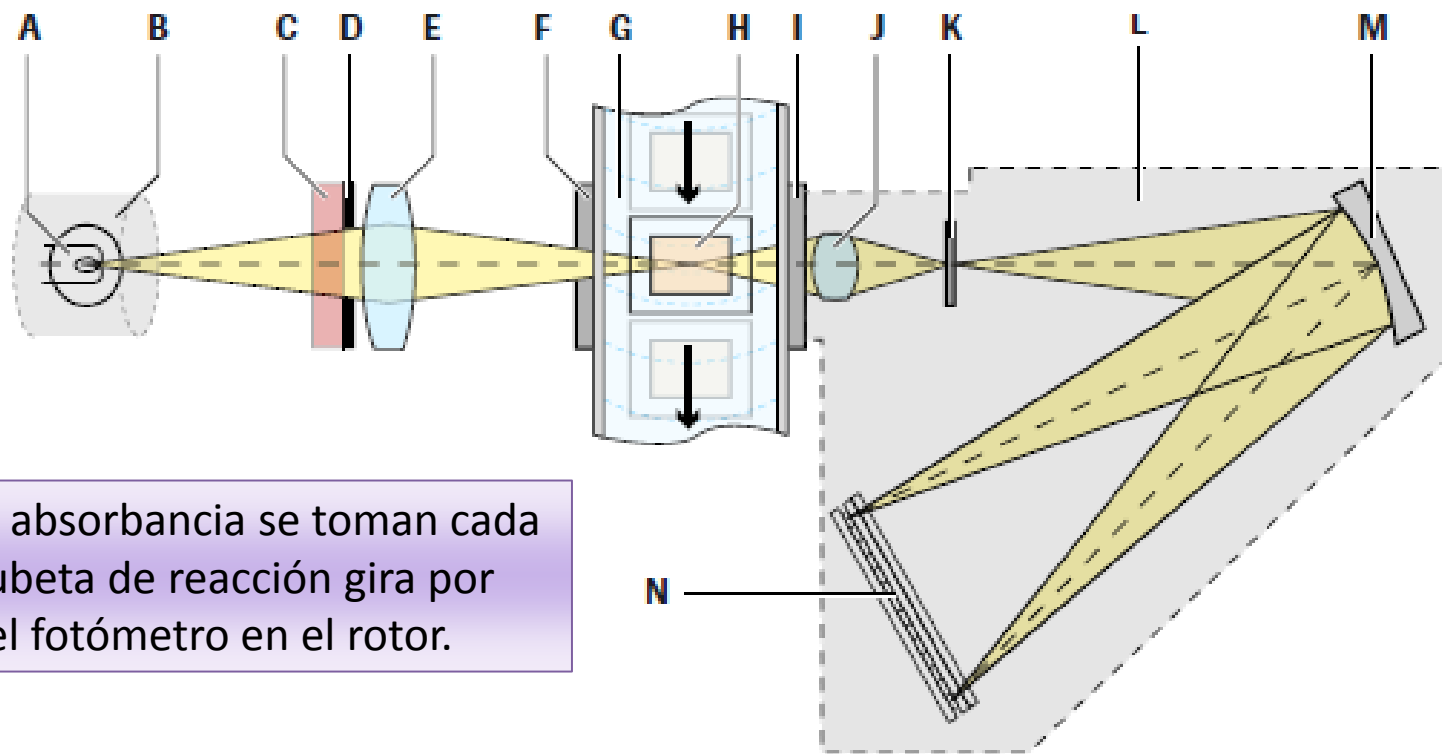
A: absorbancia de la disolución a una longitud de onda dada (adimensional)

$\varepsilon$ : coeficiente de extinción molar ( $\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ )

b: longitud de paso de la cubeta (cm)

C: concentración de la disolución (M)

# FOTOMETRÍA



Las lecturas de absorbancia se toman cada vez que la cubeta de reacción gira por delante del fotómetro en el rotor.

**A** Lámpara del fotómetro  
**B** Camisa de agua  
**C** Filtro  
**D** Máscara  
**E** Lente de condensación

**F** Rendija (de entrada)  
**G** Baño de reacción  
**H** Cubeta de reacción y contenido  
**I** Rendija (de salida)  
**J** Lente de formación de imágenes

**K** Rendija  
**L** Fotómetro  
**M** Red de difracción  
**N** Detector

**Figura A-1**

Paso de luz del fotómetro

Mejor resolución fotométrica al medir a dos longitudes de onda (sistema bicromático) en vez de a una (monocromático)

Se eliminan interferencias

El análisis bicromático emplea dos longitudes de onda: una situada en la absorbancia pico (o cerca) del cromógeno que genera la reacción y una longitud de onda secundaria en la que no se detecta absorbancia del cromógeno deseado (o muy poca).

Las absorbancias ( $A_2$ ) detectadas, provocadas por la interferencia de otras sustancias de la muestra, se miden en la longitud de onda secundaria. El resultado se resta de la absorbancia total ( $A_1$ ) de la longitud de onda principal para obtener la absorbancia neta ( $A^C$ ).

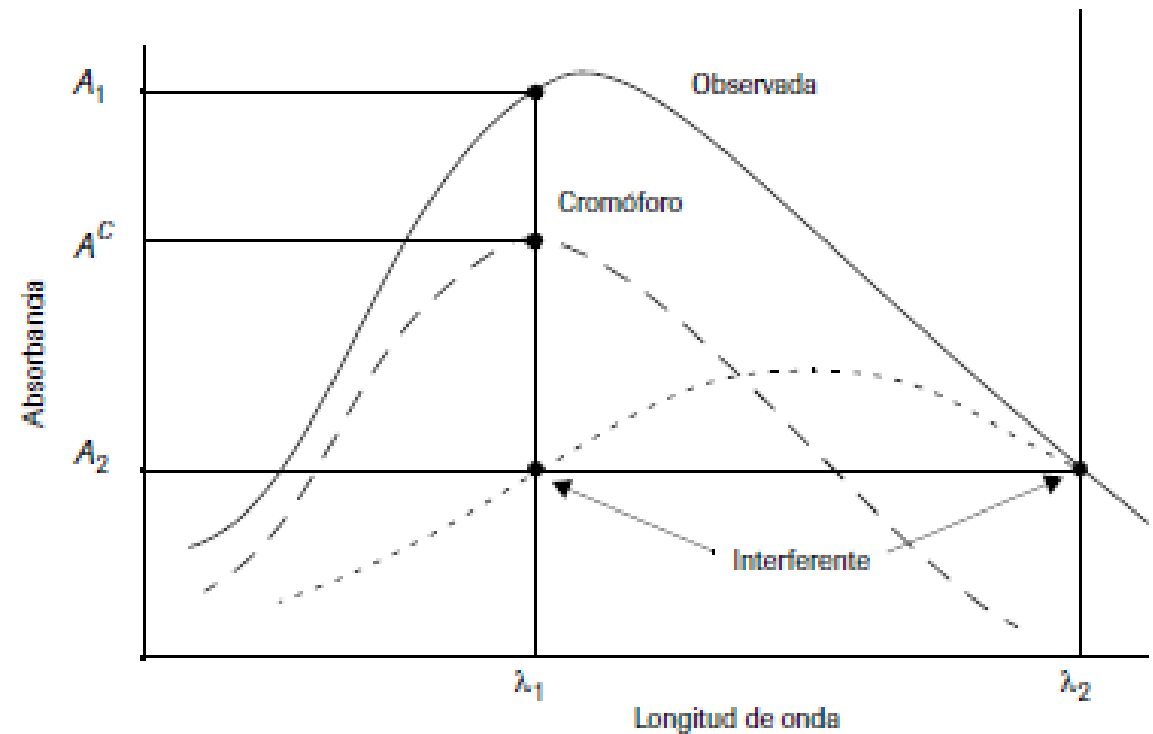
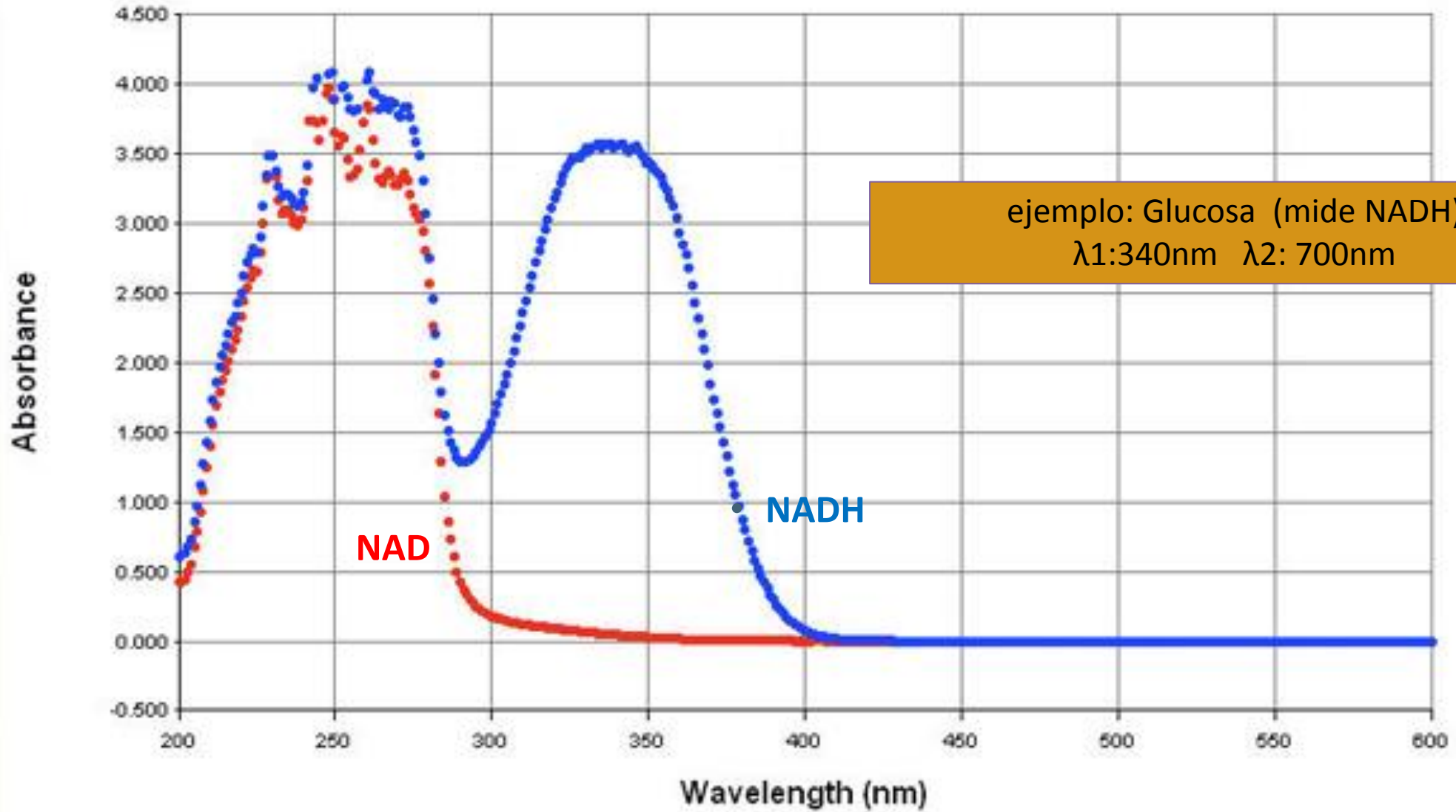
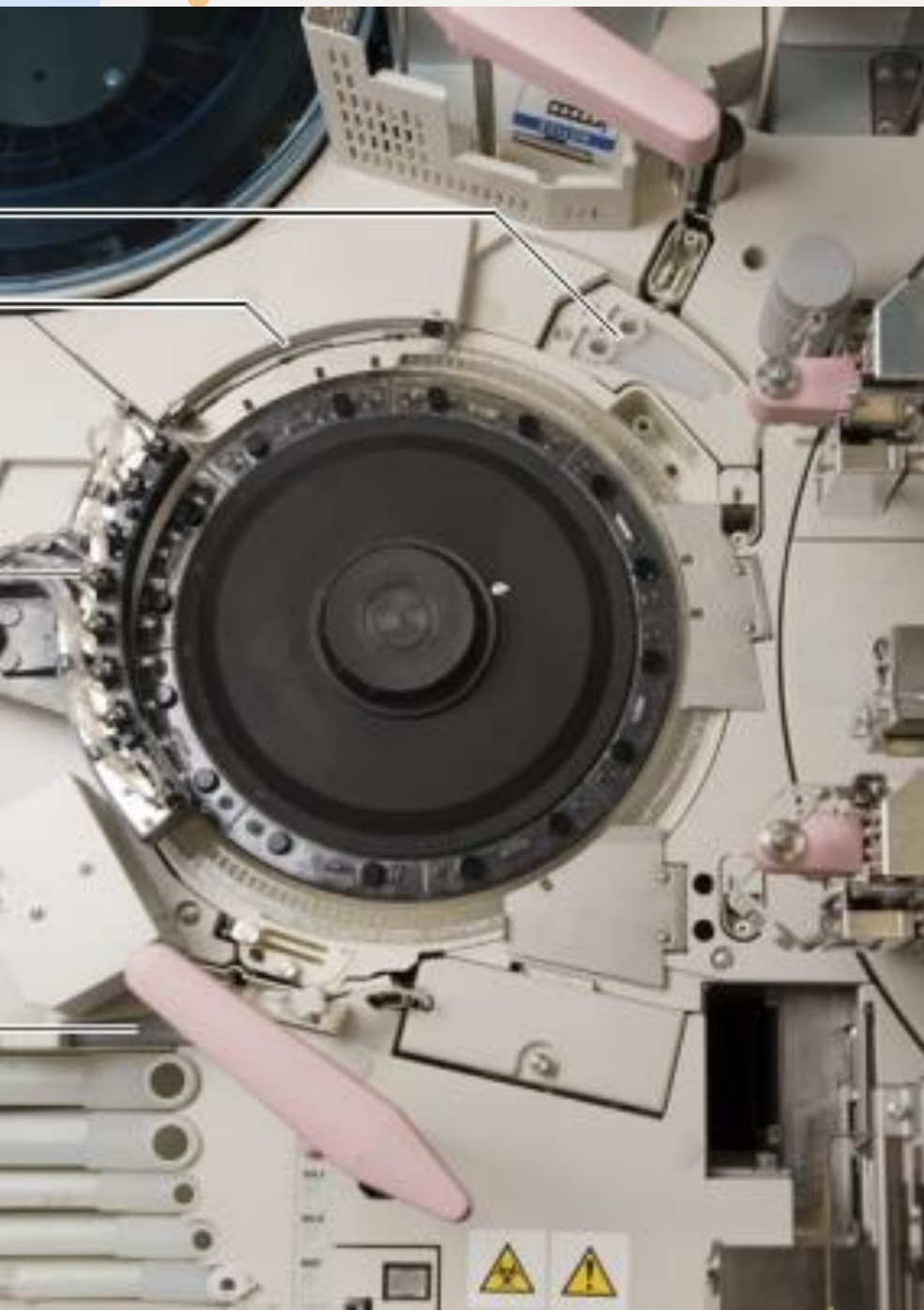


Figura A-2 Absorbancia bicromática

NAD and NADH Absorbance Spectrum



ejemplo: Glucosa (mide NADH)  
 $\lambda_1$ : 340nm  $\lambda_2$ : 700nm

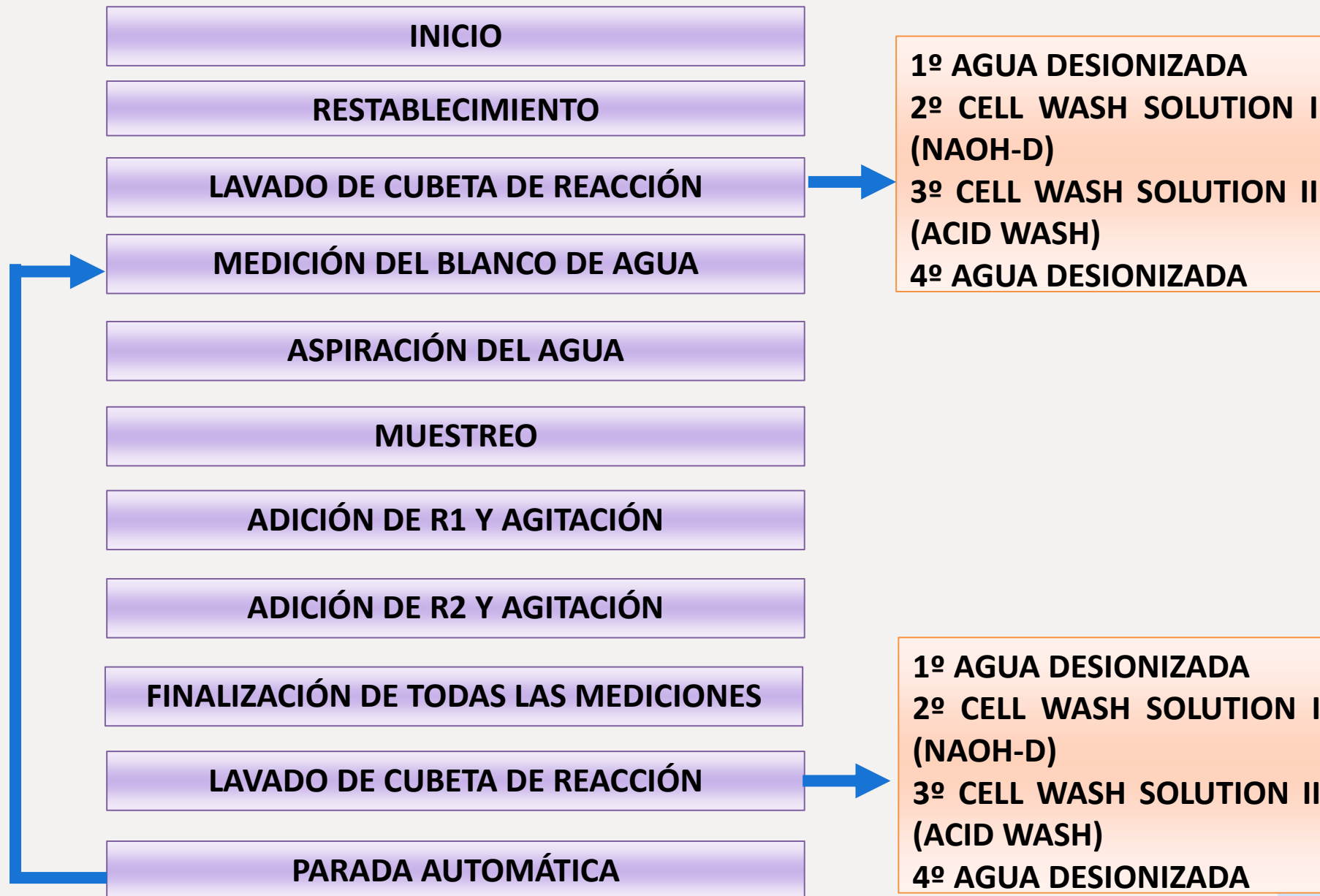


# DISCO DE REACCIÓN

El disco de reacción del módulo c 501 transporta 160 cubetas de reacción de plástico reutilizables. Estas cubetas de reacción están agrupadas en ocho segmentos con 20 cubetas cada uno. Todas las cubetas de reacción están situadas en un baño a temperatura controlada. Este baño de incubación mantiene las cubetas a la temperatura requerida de 37°C.

Las cubetas de reacción deben sustituirse mensualmente puesto que se deterioran gradualmente con el uso. Efectúe una medición del blanco de las cubetas una vez a la semana después de lavar el sistema de reacción para comprobar la integridad de todas las cubetas.

Se pipetea la muestra en las cubetas del disco de reacción, y posteriormente se añaden los reactivos para medir las absorbancias



The background is a light gray color. It features several decorative elements: a purple circle in the top left with an orange flower-like pattern; a pink circle in the top right with a radial line pattern; a blue circle in the bottom left with a wavy line pattern; and an orange circle in the bottom right with a dashed line pattern. There are also several small circles in various colors (blue, orange, gray) scattered around the main elements.

# ENSAYOS FOTOMÉTRICOS

# ENSAYOS FOTOMÉTRICOS

## ENSAYOS DE PUNTO FINAL

**1 punto:** un solo punto de medición

**2 puntos:** Ensayo de punto final + blanco de muestra

- **Después** de finalizar reacción midiendo la intensidad del producto coloreado (como glucosa)

## ENSAYOS CINÉTICOS

**Cinética A:** aplica el método de mínimos cuadrados en varios puntos de medición

**Cinética 2 puntos:** programado para dos puntos de medición

- **Mientras** se desarrolla la reacción, enzimas, (AST, ALT, GGT...)

- El fotómetro mide absorbancias con intervalos de medición de 7 a 15 segundos (cada vez que gira el rotor).
- Mp1 y mp2 son los puntos de medición 1 y 2, que se programan (pueden coincidir con la décima medición, la 34ava...)

### 1 punto final: un solo punto de medición

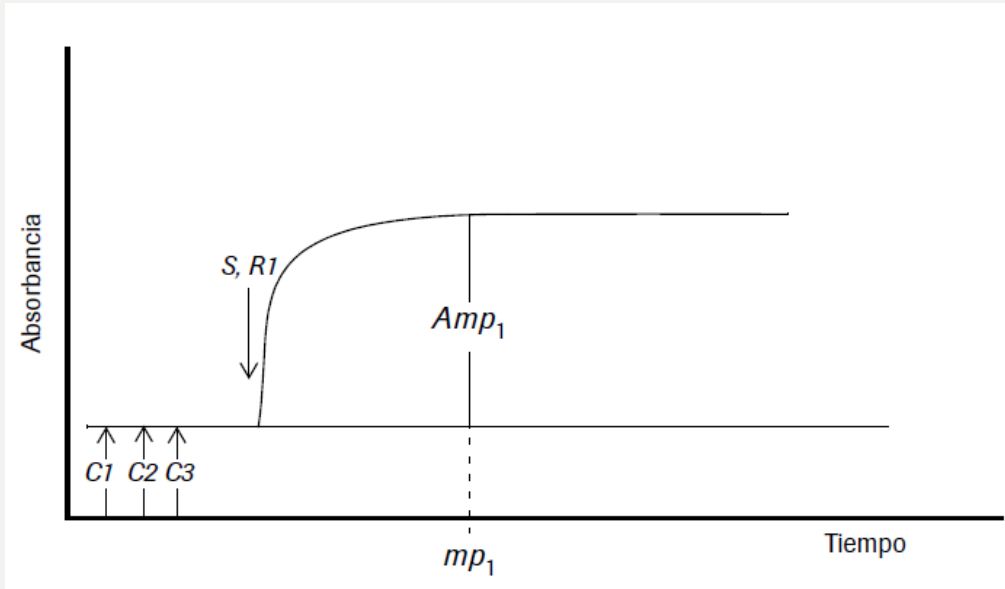


Figura B-16 Ensayo 1 Punto Final - reactivo en el tiempo R1

### 2 puntos final: Ensayo de punto final + blanco de muestra

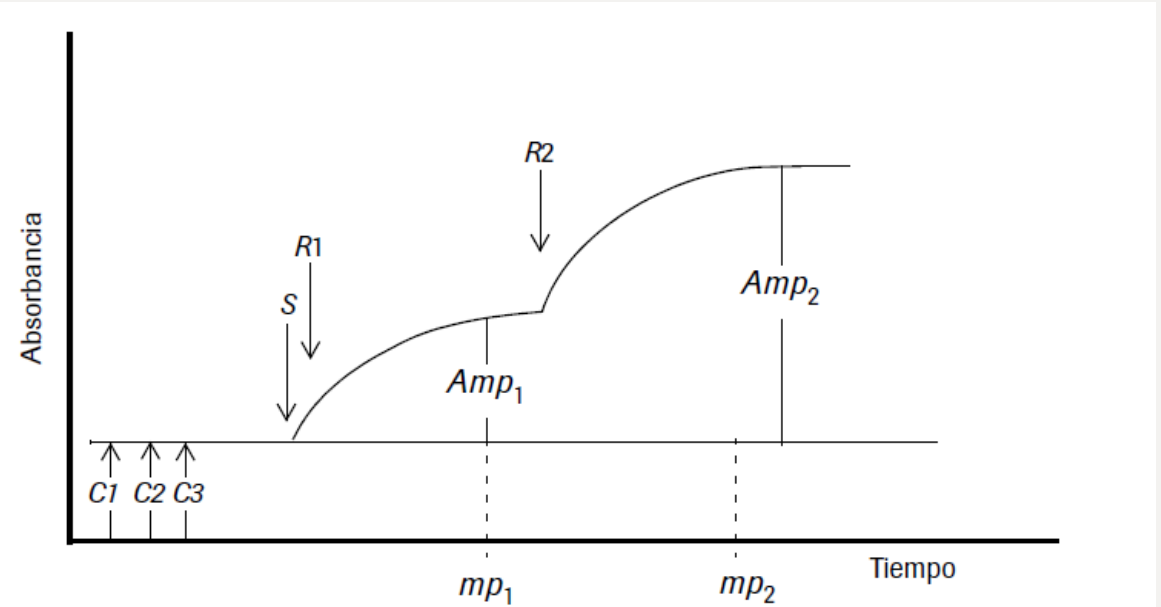
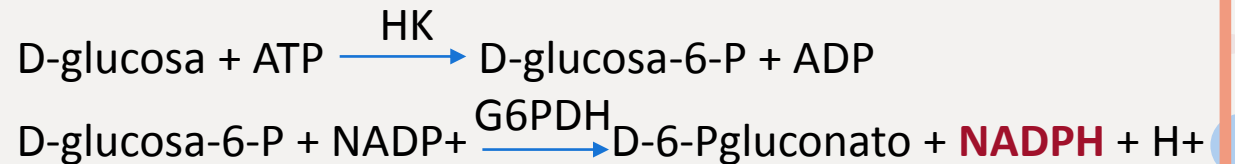
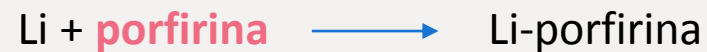
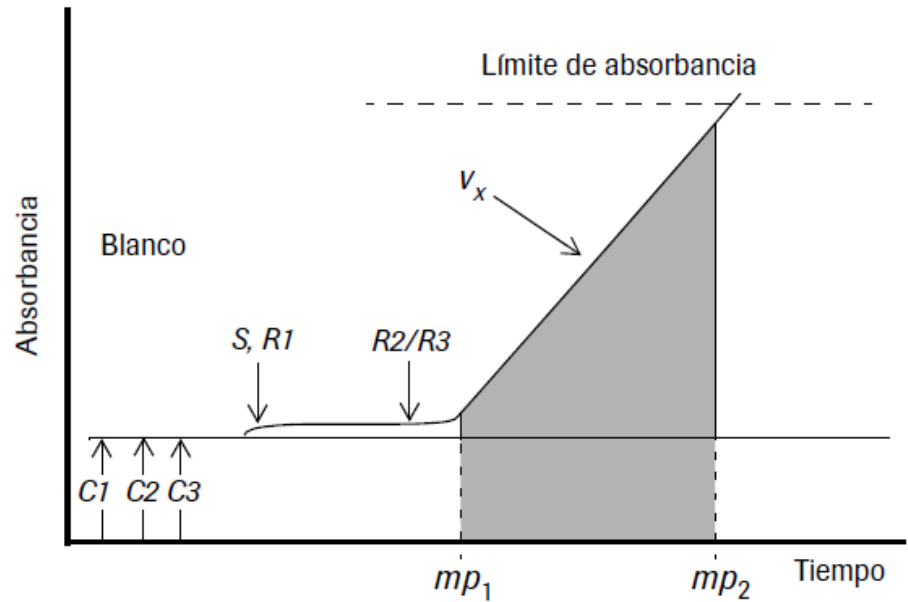


Figura B-3 Gráfico de un ensayo de 2 Puntos Final



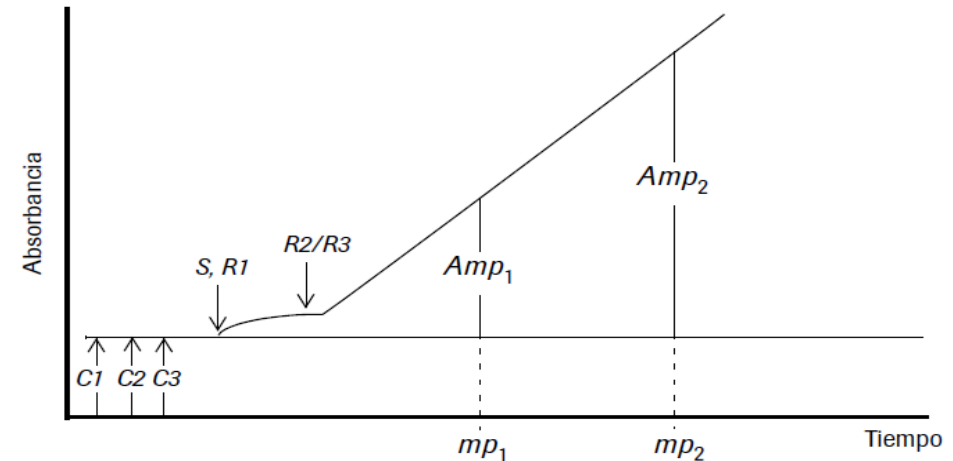
**Cinética A:** aplica el método de mínimos cuadrados en varios puntos de medición



**Figura B-8** Ensayo Cinética A - reactivos en R1 y R2 o R3

**Cinética 2 puntos:** programado para dos puntos de medición

A continuación puede observar una representación gráfica de un ensayo Cinética 2 Puntos con reactivos dispensados en R1 y R2 o R3.



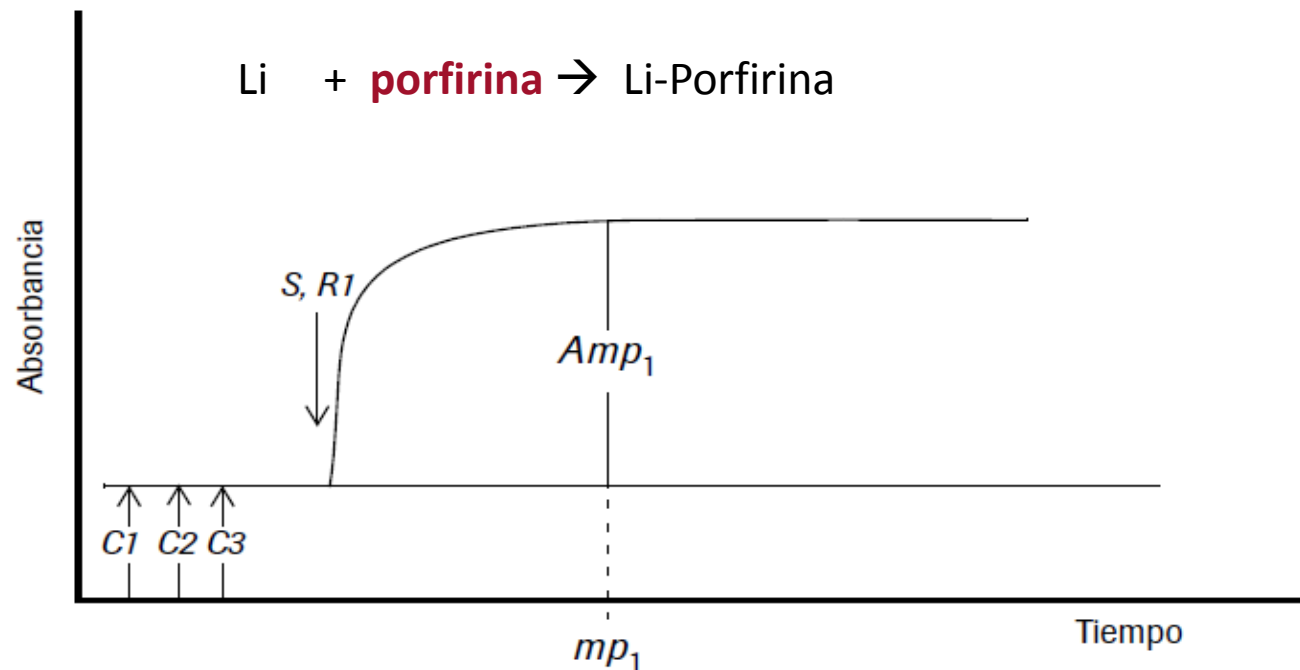
**Figura B-26** Ensayo Cinética 2 Puntos - reactivos en los tiempos R1 y R2 o R3



- Se utiliza el incremento de la absorbancia de todos los puntos entre mp1 y mp2

- Se utiliza el incremento de la absorbancia de mp1 y mp2, sin tener en cuenta los puntos intermedios

# ENSAYO 1 PUNTO FINAL



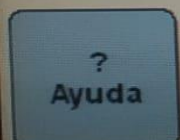
**Figura B-16**      Ensayo 1 Punto Final - reactivo en el tiempo R1

Entradas en Utilidades > Ensayo/Tiempo/Punto: [ 1 Punto ] [ tiempo ] [  $mp_1$  ] [ 0 ] [ 0 ] [ 0 ]  
 Aplicación > Analizar (10) (11)

| Trabajo         |       |               |         | Reactivos               |  | Calibración      |  | Control Calidad      |  | Utilidades        |  |
|-----------------|-------|---------------|---------|-------------------------|--|------------------|--|----------------------|--|-------------------|--|
| Sistema         |       | Mantenimiento |         | Aplicación              |  | Tests Calculados |  | Lav. Adic.           |  | Informe           |  |
| Config. Módulos |       |               |         |                         |  |                  |  |                      |  |                   |  |
|                 | Test  |               | Tipo M. | Analizar                |  | Calib.           |  | Rango                |  | Otros             |  |
| 1               | GLUC3 | C             | Sro./PI | Técnica/Tpo./Pto.       |  | 1 Punto          |  | 10                   |  | 5 0 0 0           |  |
|                 |       |               | Urine   | Longitud Onda (2a/Pri.) |  | 700              |  | 340                  |  |                   |  |
|                 |       |               | LCR     | Vol. Muestra            |  |                  |  | Configuración Casete |  |                   |  |
| 2               | DIG   | C             | Sro./PI | Norm. 6.0               |  | 0.0 0            |  | Cód. 0768707         |  |                   |  |
| 3               | AMYL2 | C             | Sro./PI | Dism. 6.0               |  | 0.0 0            |  | Días Caducidad 84    |  |                   |  |
|                 |       |               | Urine   | Aum. 6.0                |  | 0.0 0            |  | Volumen Reactivo     |  |                   |  |
| 4               | ALTL  | C             | Sro./PI | Dilución                |  |                  |  | R1 15 135 Inactivo   |  |                   |  |
| 5               | ASTL  | C             | Sro./PI | Agua                    |  |                  |  | R2 0 0               |  |                   |  |
| 6               | TPC3  | C             | LCR     | Diluyen. 0              |  | 1                |  | R3 0 0               |  | Config. Botella   |  |
| 7               | SI2   | C             | Sro./PI | Lím. Linealidad         |  | 0 % 0 % 0        |  |                      |  |                   |  |
| 8               | BILT3 | C             | Sro./PI | Lím. Prozona            |  | 0 0 0 0 0 0      |  | Inter.               |  | 0 0               |  |
| 9               | CK2   | C             | Sro./PI | Límite Abs.             |  | 32000 Aument.    |  |                      |  | No. Versión 00-03 |  |
| 10              | TPU3  | C             | Urine   | Detergente              |  | Detergente 1     |  | Nivel Agitación 2    |  |                   |  |
| 11              | CHE2  | C             | Sro./PI | Agitac.                 |  | M1               |  | M2                   |  | M3                |  |
| 12              | CREJ2 | C             | Sro./PI | Alto Agitac.            |  | Bajo Agitac.     |  | Agitac.              |  | Agitac.           |  |
| 13              | CRJ2U | C             | Urine   |                         |  |                  |  |                      |  |                   |  |
| 14              | NH3L2 | C             | Sro./PI |                         |  |                  |  |                      |  |                   |  |
| 15              | CRP4  | C             | Sro./PI |                         |  |                  |  |                      |  |                   |  |
| 17              | TP2   | C             | Sro./PI |                         |  |                  |  |                      |  |                   |  |
| 22              | ALB2  | C             | Sro./PI |                         |  |                  |  |                      |  |                   |  |
| 25              | UA    | C             | Sro./PI |                         |  |                  |  |                      |  |                   |  |

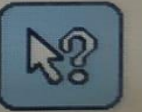
**Borrar** **Descargar**

**Guardar**



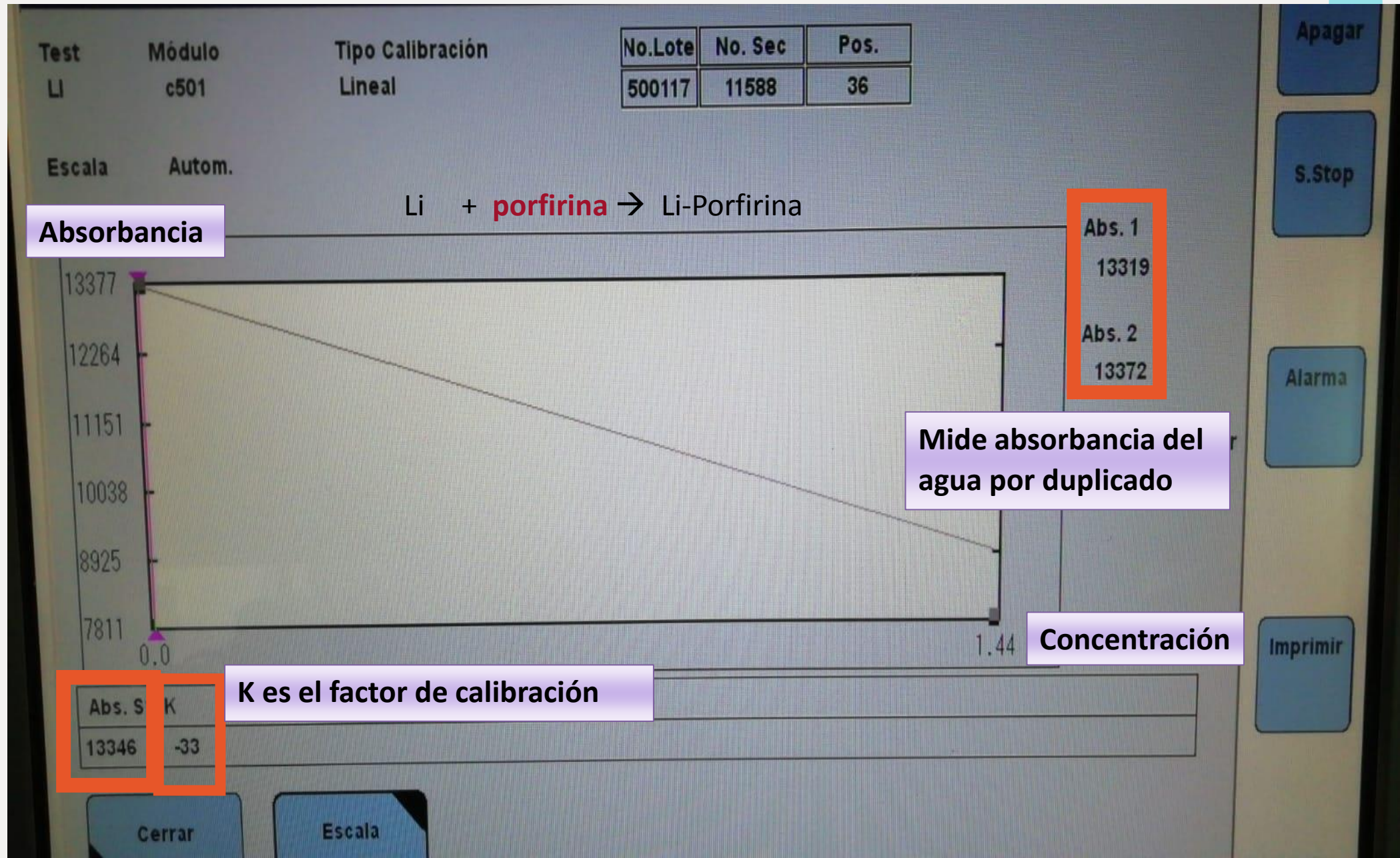
Entradas en Utilidades > Ensayo/Tiempo/Punto: [ 1 Punto ] [ tiempo ] [ mp<sub>1</sub> ] [ 0 ] [ 0 ] [ 0 ]

Aplicación > Analizar



Monitor → Estado → Prueba a medir (p. ej. LI) → **Curva de calibración**

Se calibra con  
h2O y CFAS



X10<sup>4</sup>

Para calcular la concentración del analito de la muestra se utiliza la siguiente ecuación:

**Ecuación B-9**       $C_x = [K(A_x - A_b) + C_b] \cdot IF_A + IF_B$

| Símbolo      | Definición                                                                 | Valor  |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------|--------|
| $A_x$        | Valor de absorbancia para el cálculo de concentración <sup>(a)</sup>       | 0,4686 |
| $C_x$        | Concentración del analito de la muestra                                    |        |
| $K$          | Factor de calibración <sup>(b)</sup>                                       | 14,06  |
| $A_b$        | Absorbancia de Std (1)/calibrador blanco (Abs. S1) <sup>(b)</sup>          | 0,1188 |
| $C_b$        | Valor de concentración de Std (1)/calibrador blanco <sup>(c)</sup>         | 0,00   |
| $IF_A, IF_B$ | Constantes del instrumento para una pendiente de 1 y una intersección de 0 | 1, 0   |

# PRUEBAS 1 PUNTO EN URGENCIAS

LITIO

INDICES  
SÉRICOS

# ENSAYO 2 PUNTOS FINAL

Mp1 es el blanco de la muestra que se mide antes o un poco después de añadir el reactivo final, a partir del cual comenzaría la reacción

Mp2 mide la absorbancia del producto final de la reacción, se define después de añadir el reactivo final y de finalizar la reacción

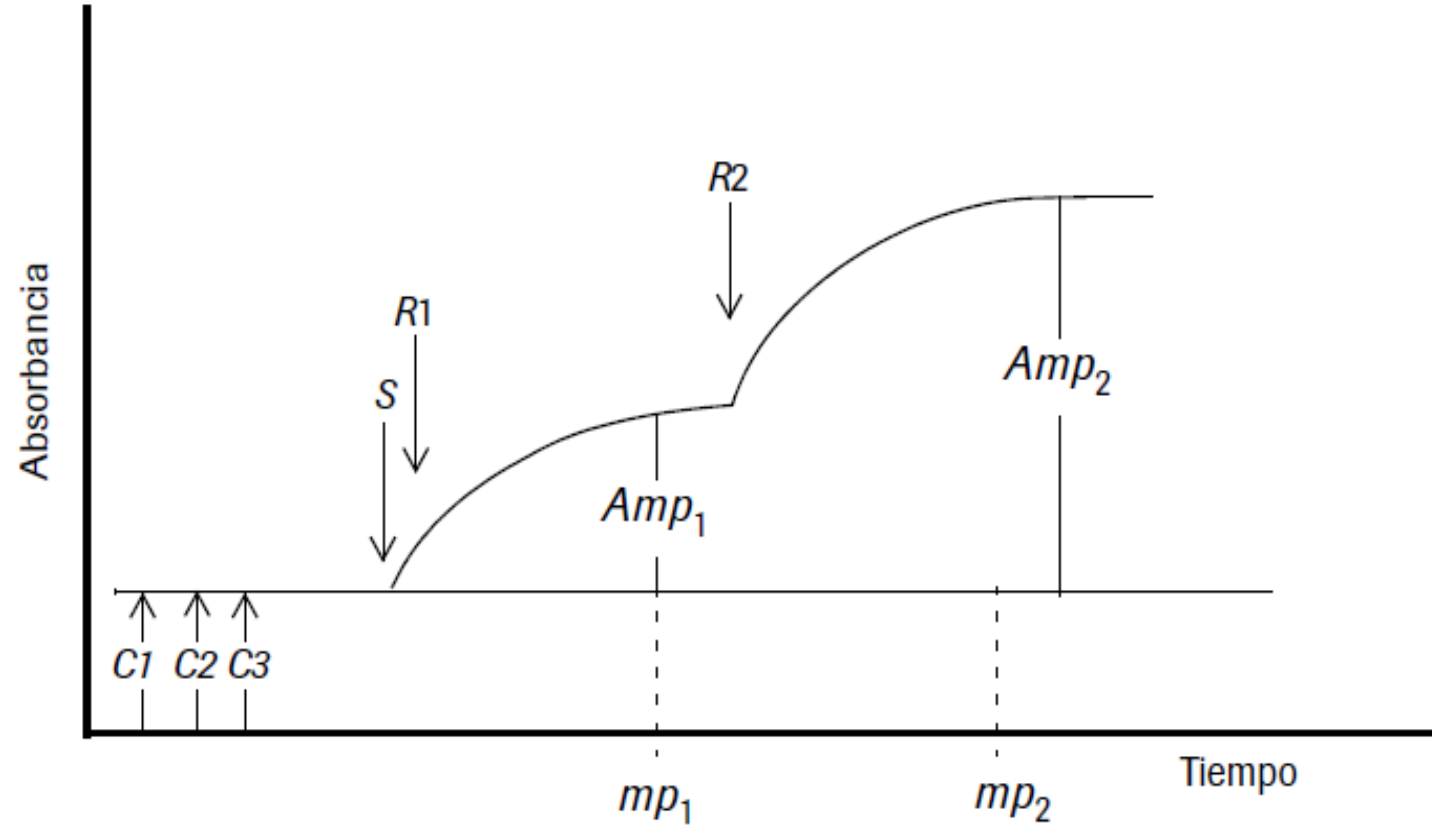
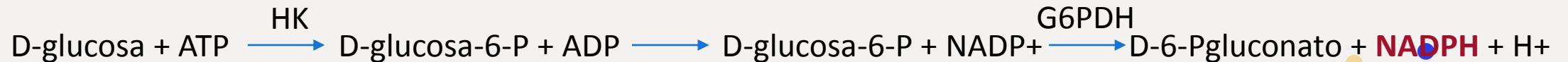


Figura B-3

Gráfico de un ensayo de 2 Puntos Final



Trabajo

Reactivos

Calibración

Control Calidad

Utilidades

Sistema

Mantenimiento

Aplicación

Tests Calculados

Lav. Adic.

Informe

Config. Módulos

|    | Test  |   | Tipo M. | Analizar                                      | Calib.       | Rango           | Otros   |    |   |                   |
|----|-------|---|---------|-----------------------------------------------|--------------|-----------------|---------|----|---|-------------------|
| 1  | GLUC3 | C | Sro./PI | Técnica/Tpo./Pto.                             | 2 Punt. Fin. | 10              | 10      | 47 | 0 | 0                 |
|    |       |   | Urine   | Longitud Onda (2a/Pri.)                       | 700          | 340             |         |    |   |                   |
|    |       |   | LCR     |                                               |              |                 |         |    |   |                   |
| 2  | ALP2L | C | Sro./PI | Vol. Muestra                                  |              |                 |         |    |   |                   |
| 3  | AMYL2 | C | Sro./PI | Norm. 2.0                                     | 0.0          | 0               |         |    |   |                   |
|    |       |   | Urine   | Dism. 15.0                                    | 10.0         | 135             |         |    |   |                   |
|    |       |   |         | Aum. 4.0                                      | 0.0          | 0               |         |    |   |                   |
| 4  | ALT1  | C | Sro./PI | Dilución                                      |              |                 |         |    |   |                   |
| 5  | AST1  | C | Sro./PI | <input type="radio"/> Agua                    |              |                 |         |    |   |                   |
| 6  | TPC3  | C | LCR     | <input checked="" type="radio"/> Diluyen. 951 | 10           |                 |         |    |   |                   |
| 7  | SI2   | C | Sro./PI |                                               |              |                 |         |    |   |                   |
| 8  | BILT3 | C | Sro./PI |                                               |              |                 |         |    |   |                   |
| 9  | CK2   | C | Sro./PI |                                               |              |                 |         |    |   |                   |
| 10 | GGT12 | C | Sro./PI | Lim. Linealidad                               | 0            | % 0             | % 0     | 0  |   |                   |
| 11 | CRPL3 | C | Sro./PI | Lim. Prozona                                  | 0            | 0               | 0       | 0  | 0 | Inter. 0 0        |
| 12 | CREJ2 | C | Sro./PI | Límite Abs.                                   | 32000        | Aument.         |         |    |   | No. Versión 00-01 |
| 13 | CRJ2U | C | Urine   | Detergente                                    | Detergente 1 | Nivel Agitación | 2       |    |   |                   |
| 14 | TP2   | C | Sro./PI | Agitac.                                       | M1           | M2              | M3      |    |   |                   |
| 15 | ALB2  | C | Sro./PI | Alto Agitac.                                  | Bajo Agitac. | Agitac.         | Agitac. |    |   |                   |

Configuración Casete

Cód. 0768316

Días Caducidad 56

Volumen Reactivo

|    |    |     |          |
|----|----|-----|----------|
| R1 | 28 | 141 | Inactivo |
| R2 | 10 | 20  |          |
| R3 | 0  | 0   |          |

Config. Botella

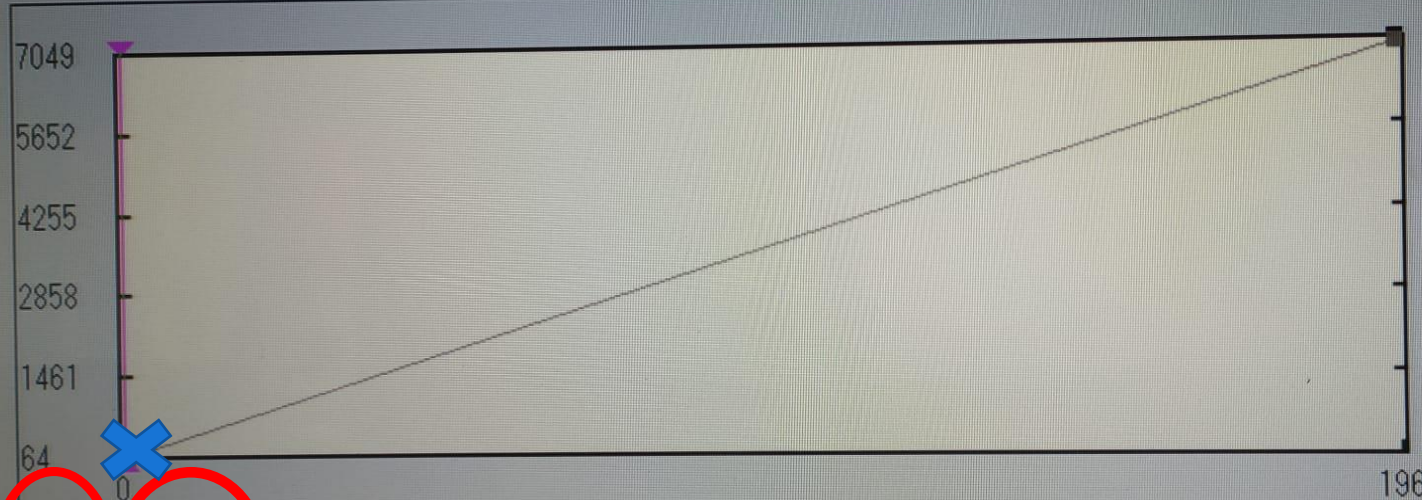
Guardar

Curva Calibración

Se calibra con h20 y CFAS

| Test  | Módulo | Tipo Calibración | No.Lote | No. Sec | Pos. |
|-------|--------|------------------|---------|---------|------|
| GLUC3 | c501   | Lineal           | 514703  | 66119   | 5    |

Escala Autom.



Abs. 1  
69  
Abs. 2  
71

Actualizar Factor

Abs1 y 2 Son las 2 absorbancias que ha detectado el cobas duplicadas en el calibrador blanco o cero (h20)

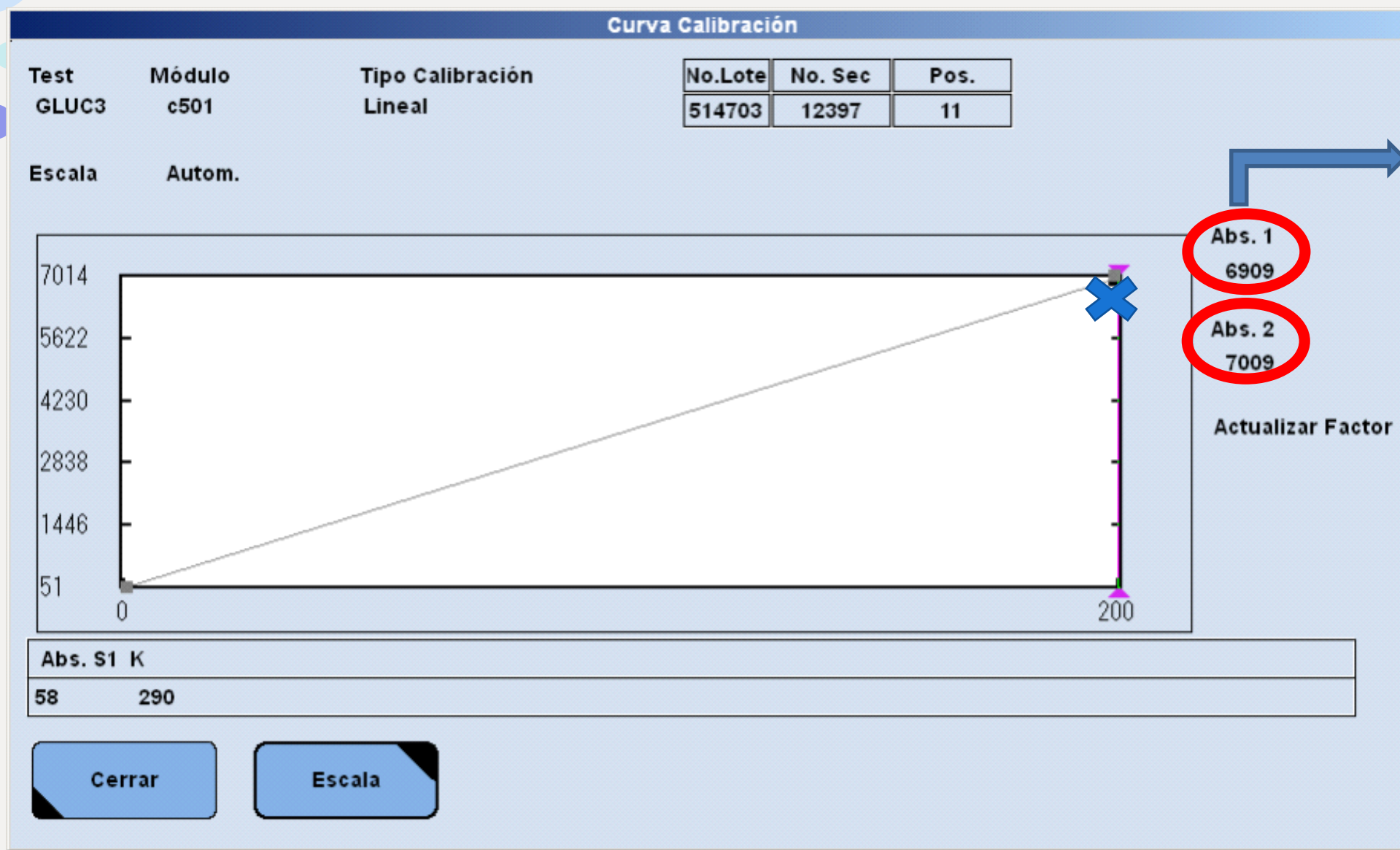
A partir de todos estos datos se calcula la K, y se obtiene la curva de calibración

| Abs. S | K   |
|--------|-----|
| 70     | 283 |

Media de Abs.1 y Abs.2  
Es  $\times 10^4$  (0,007)

Escala

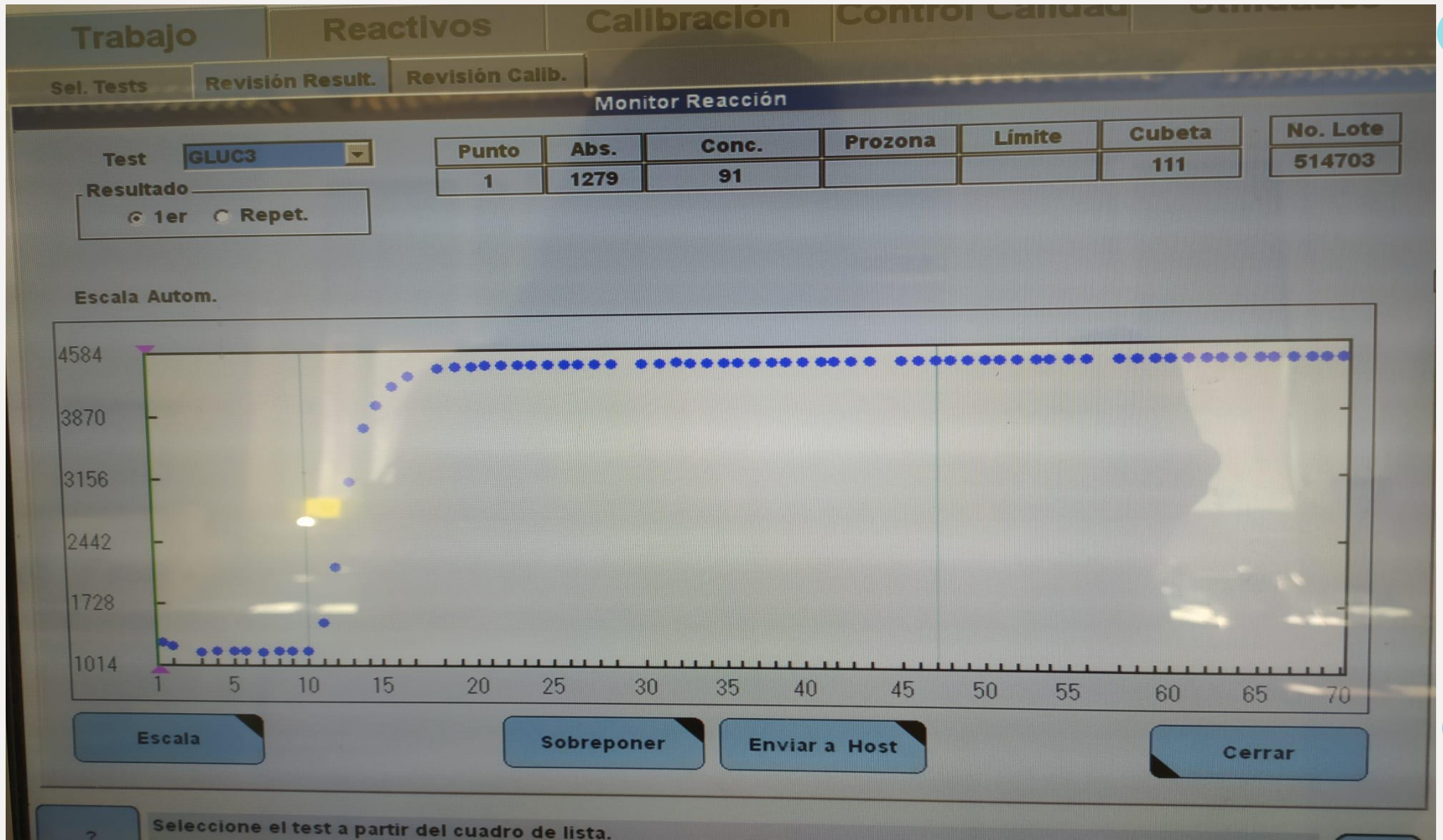
la, haga clic con el ratón o pulse <Intro>.



Abs1 y 2 Son las 2 absorbancias que ha detectado el cobas duplicadas con **el calibrador CFAS**

A partir de todos estos datos se calcula la **K**, y se obtiene la curva de calibración

# ABSORBANCIAS DE UNA MUESTRA



$IF_A, IF_B$

Constantes del instrumento representando una pendiente de 1 y una intersección de 0

---

Si aplicamos estos valores a la fórmula anterior  $C_x = [K(A_x - A_b) + C_b] \cdot IF_A + IF_B$  obtenemos:

$A_{mp2} - A_{mp1}$

A blanco

$$\begin{aligned} C_x &= 12,41(0,3716 - 0,0036) + 0,0 \\ &= 12,41(0,3680) \\ &= 4,567 \end{aligned}$$



# PRUEBAS 2 PUNTOS FINAL EN URGENCIAS

ALBÚMINA

AMONIO

BILIRRUBINA  
DIRECTA

BILIRRUBINA  
TOTAL

CALCIO

GLUCOSA

LACTATO

MAGNESIO

PROTEÍNAS  
TOTALES



# ENSAYO CINÉTICA A

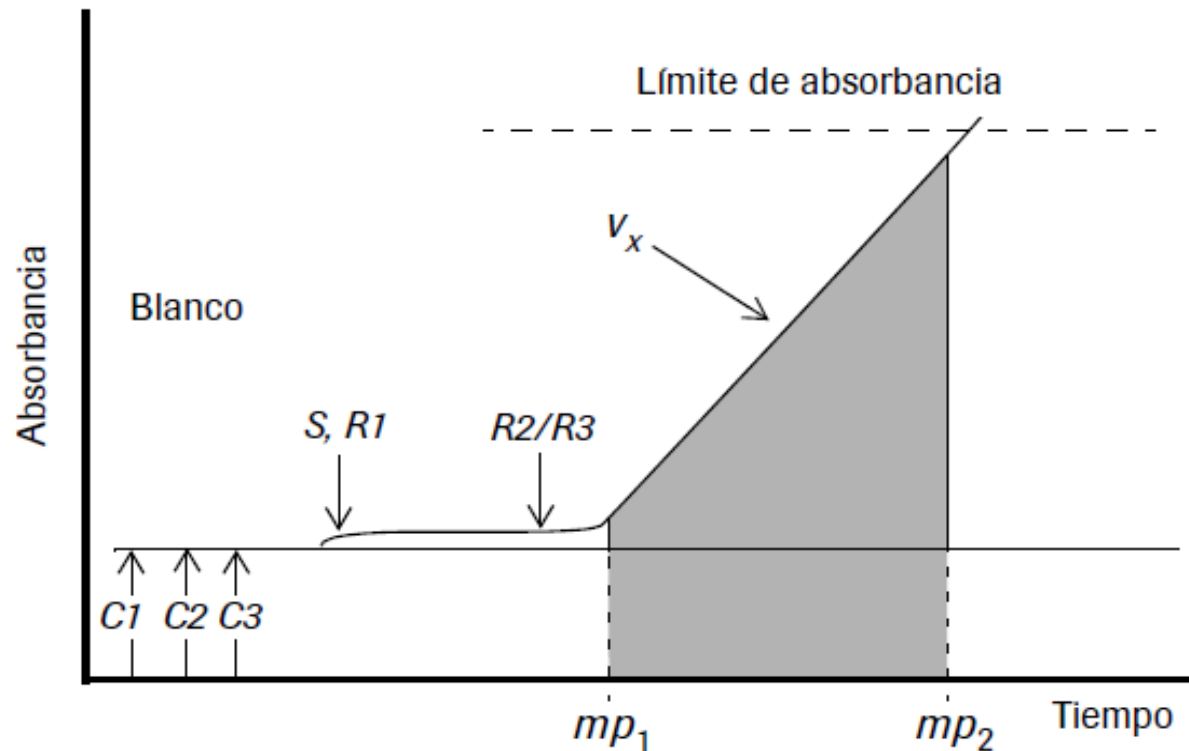


Figura B-8

Ensayo Cinética A - reactivos en R1 y R2 o R3

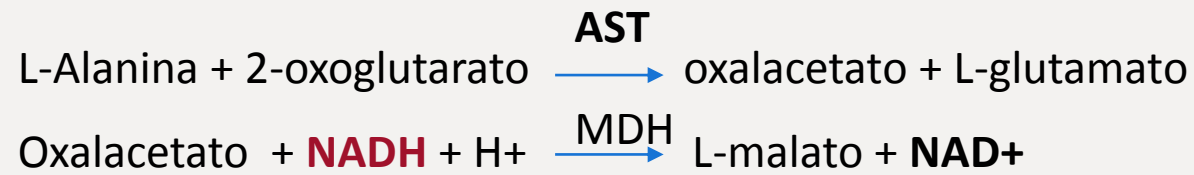
No es necesario añadir un factor de dilución como en el caso anterior, porque todas las medidas se realizan DESPUÉS de añadir el último reactivo, y se calcula incremento de absorbancia.

$C1$   $C2$  y  $C3$  valores de blanco del agua de las cubetas

$S1$  es pipeteo de la muestra

$R1$ ,  $R2$  y  $R3$  reactivos en tiempo 1 2 y 3

$mp_1$  y  $mp_2$  primer y último punto de medida de absorbancias



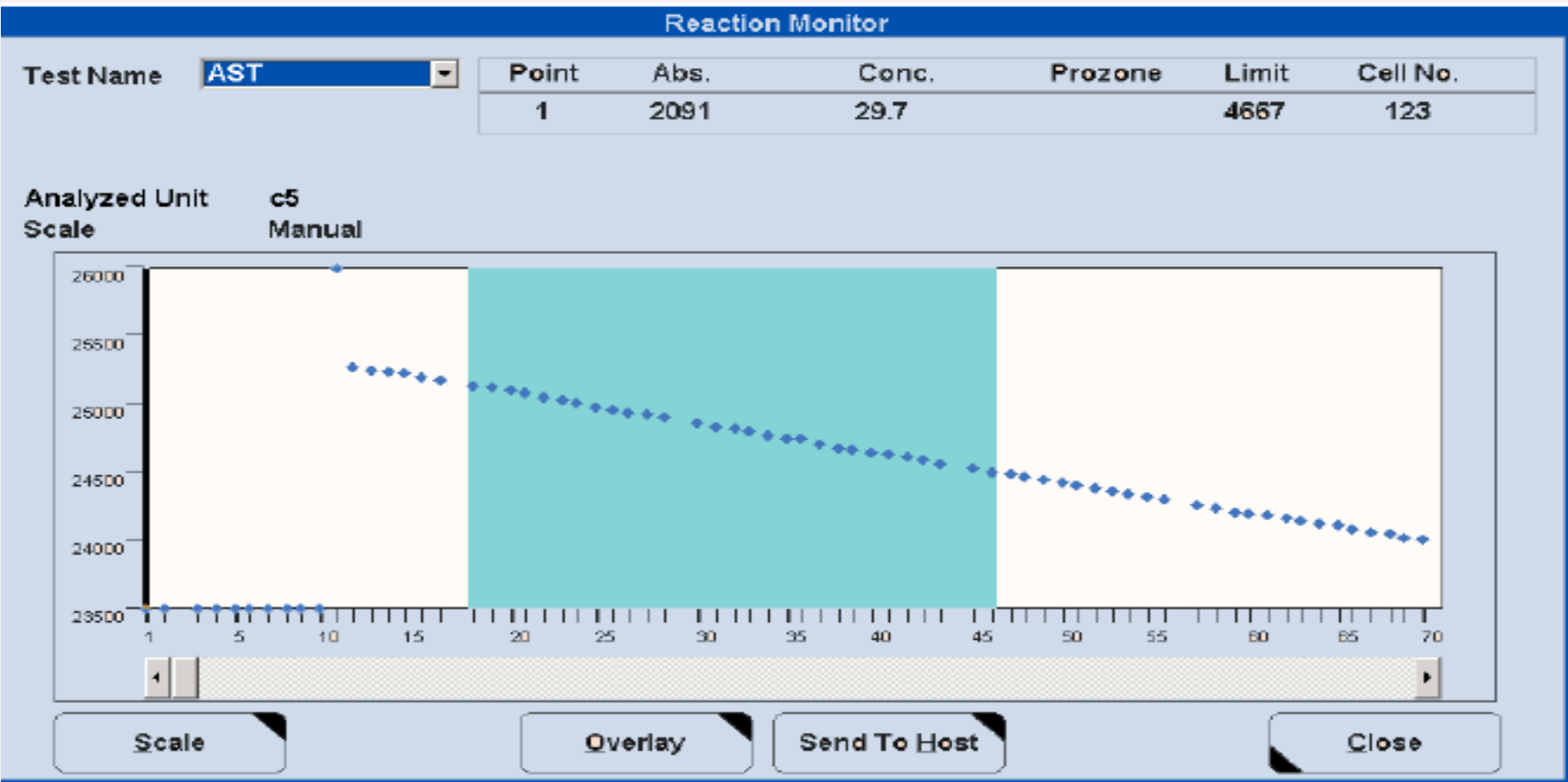
**Test** AST  
**Ensayo** Cinética A  
**Tiempo** 10 minutos  
**Puntos** 18, 46  
**Longitud de onda secundaria** 700 nm  
**Longitud de onda primaria** 340 nm  
**Valor de conc. para Std (1)** 0,0

| Analyze                  | Calib. | Range | Others    |
|--------------------------|--------|-------|-----------|
| Assay/Time/Point         | Rate A | 10    | 18 46 0 0 |
| Wavelength (2nd/Primary) | 700    | 340   |           |

**Figura B-9** Entradas en Utilidades > Aplicación > Analizar

| Monitor Reacción |              |          |          |               |          |       | 19/01/04 | 15:02 |
|------------------|--------------|----------|----------|---------------|----------|-------|----------|-------|
| Suero/Pl         | N002050      | 00020-1  | 19/01/04 | 20 CUBETA 123 | AST      | 29,7  |          |       |
| ID               |              |          | 14:30:43 |               |          |       |          |       |
| ***              | (PRIMARIA) - |          | ***      |               |          |       |          |       |
|                  | (SECUNDARIA) |          |          |               |          |       |          |       |
| CB1-3            | 1-10         | 11-20    | 21-30    | 31-40         | 41-50    | 51-60 | 61-70    |       |
| 1535             | 2091         | 26660    | 25078    | 24830         | 24629    | 24401 | 24183    |       |
| 1535             | 2051         | 25264    | 25051    | 24814         | 24609    | 24381 | 24161    |       |
| 1534             | 2091         | 25243    | 25028    | 24796         | 24589    | 24362 | 24143    |       |
|                  | 2088         | 25236    | 25003    | 24766         | 44 24562 | 24340 | 24125    |       |
|                  | 2088         | 25226    | 24977    | 24746         | 45 24525 | 24320 | 24107    |       |
|                  | 2088         | 25193    | 24958    | 24742         | 46 24499 | 24298 | 24075    |       |
|                  | 2081         | 25170    | 24935    | 24703         | 24480    | 24259 | 24061    |       |
|                  | 2081         | 18 25132 | 24921    | 24676         | 24463    | 24238 | 24049    |       |
|                  | 2080         | 19 25117 | 24898    | 24660         | 24443    | 24206 | 24020    |       |
|                  | 2079         | 20 25094 | 24862    | 24639         | 24419    | 24194 | 24007    |       |

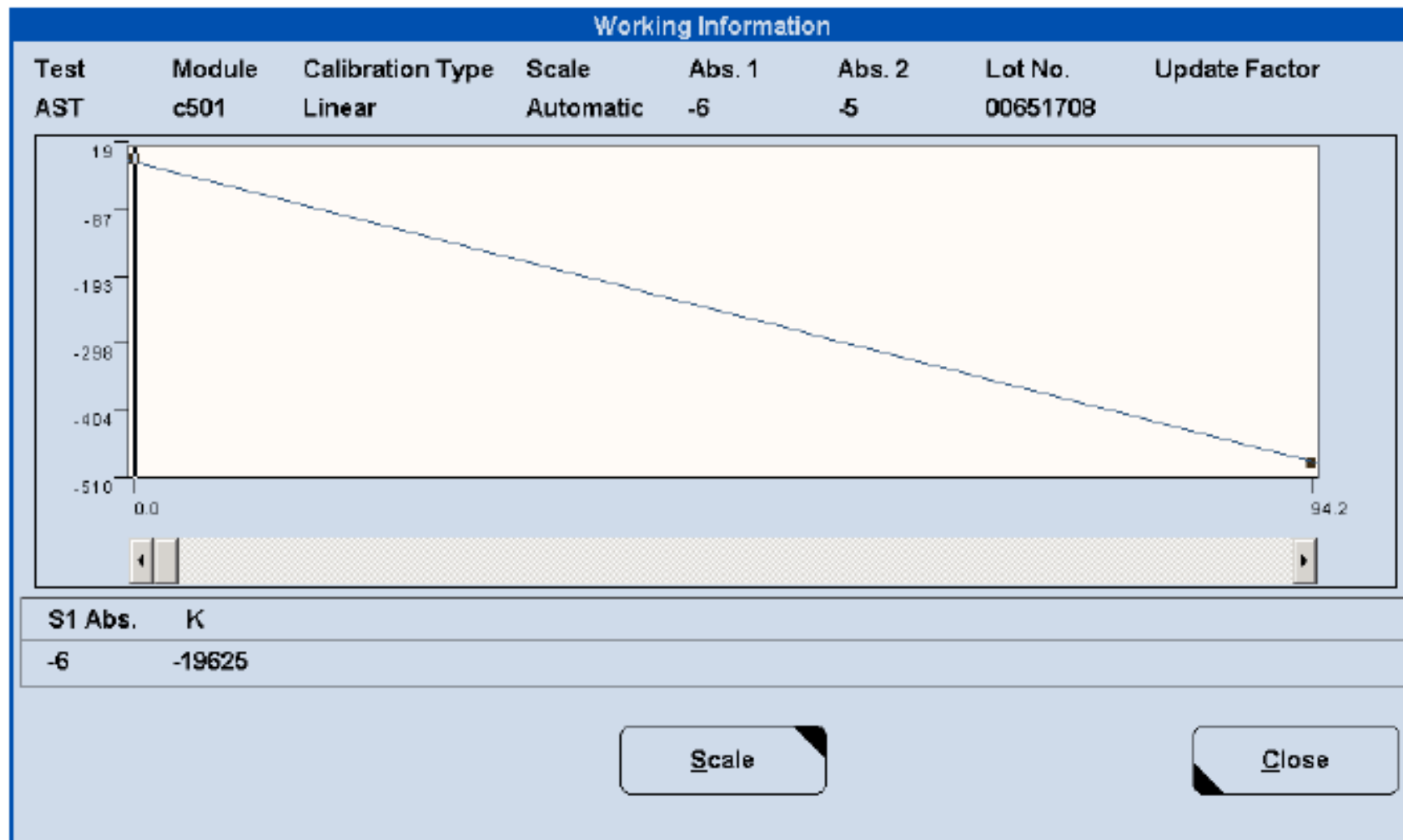
En azul están las mediciones de absorbancia desde la medición nº 18 a la 46, que van disminuyendo, porque el NADH se va convirtiendo en NAD



En esta muestra se va viendo cómo las absorbancias bajan de 25132 en el punto 18 a 24499 en el punto 46

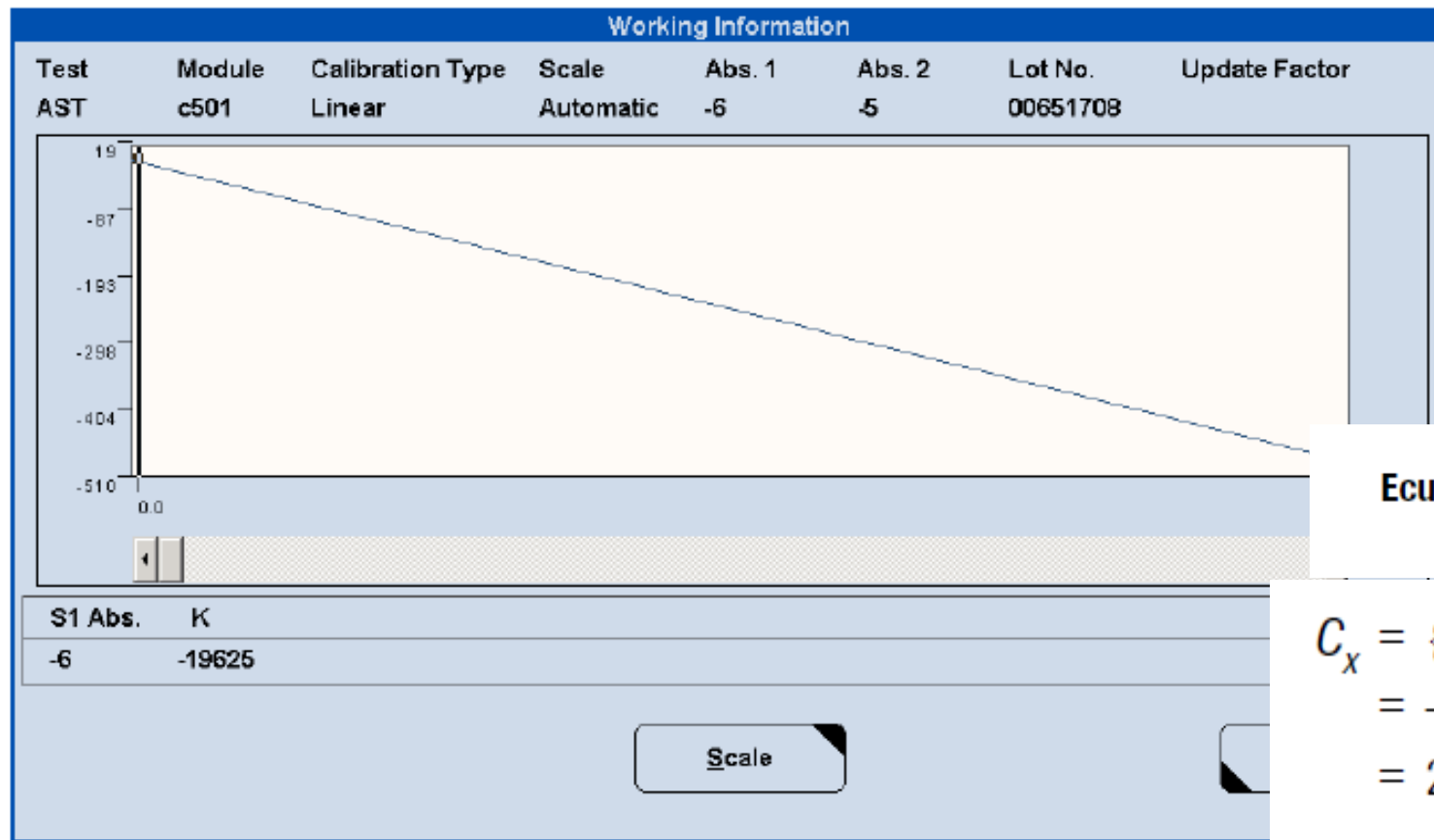
Diferencia de absorbancias mediante el método de mínimos cuadrados

Figura B-10 Ventana Monitor Reacción de un ensayo Cinética A



**Figura B-12** Ventana Curva Calibración

Vb (variación de absorancia del blanco) da -0,0006, visualizado como -6 en el campo Abs S1 debido al factor  $10^4$ )



Ecuación B-6

$$C_x = [K(v_x - v_b) + C_b] \cdot IF_A + IF_B$$

$$\begin{aligned}
 C_x &= \{-1962,5 \cdot [-0,01575 - (-0,0006)] + 0,0\} \cdot 1 + 0 \\
 &= -1962,5 \cdot (-0,01515) \\
 &= 29,73
 \end{aligned}$$

**Figura B-12**

Ventana Curva Calibración

Vb (variación de absorancia del blanco) da -0,0006, visualizado como -6 en el campo Abs S1 debido al factor  $10^4$ )

# PRUEBAS CINETICA A EN URGENCIAS

FOSFATASA ALCALINA  
(ALP)

ALANINA  
AMINOTRANSFERASA  
(ALT)

ASPARTATO  
AMINOTRANSFERASA  
(AST)

ALFA-AMILASA (AMYL2)

CREATINKINASA (CK)

CREATININA (CREJ2)

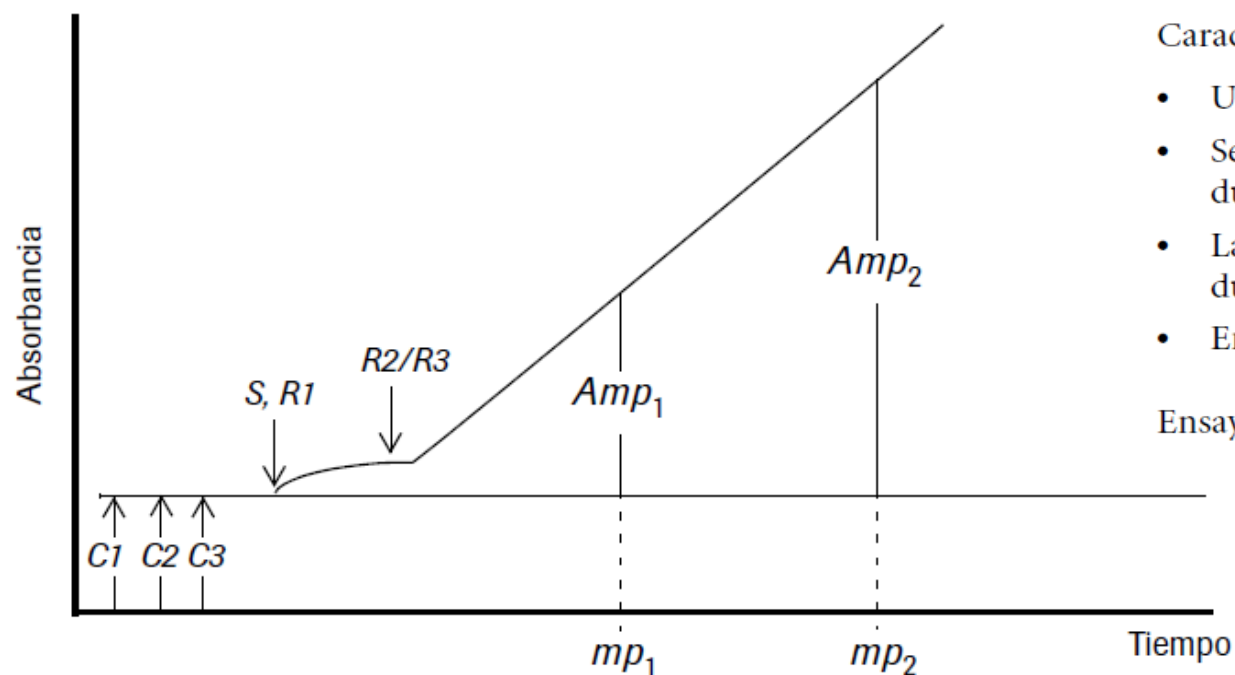
GAMMA-  
GLUTAMILTRANSFERASA  
(GGT)

LACTATO  
DESHIDROGENASA  
(LDHI2)

UREA (UREAL)

# ENSAYO CINÉTICA A 2 PUNTOS

A continuación puede observar una representación gráfica de un ensayo Cinética 2 Puntos con reactivos dispensados en R1 y R2 o R3.



Características del ensayo:

- Un ensayo cinético mide la variación de la absorbancia.
- Se denomina ensayo 2 Puntos porque hay dos puntos de medición (o lecturas duplicadas en  $mp_1$  y  $mp_2$ ).
- La primera lectura de la absorbancia de este tipo de ensayo se puede medir durante cualquier vuelta del disco tras la adición del reactivo final.
- En esta reacción se supervisa el agotamiento de sustrato, pero no la linealidad.

Ensayo/Tiempo/Punto: [ Cinética 2 Puntos ] [ tiempo ] [  $mp_1$  ] [  $mp_2$  ] [ 0 ] [ 0 ]

**Figura B-26**

Ensayo Cinética 2 Puntos - reactivos en los tiempos R1 y R2 o R3

| Monitor Reacción |                              |                |                      |              |       |       | 04/11/16 | 13:33 |
|------------------|------------------------------|----------------|----------------------|--------------|-------|-------|----------|-------|
| Suero/Pl<br>ID   | N                            | 00076-1<br>010 | 04/11/16<br>12:55:01 | CUBETA C 001 | CREAJ | 486,7 |          |       |
| ***              | (PRIMARIA) -<br>(SECUNDARIA) | ***            |                      |              |       |       |          |       |
| CB1-3            | 1-10                         | 11-20          | 21-30                | 31-40        | 41-50 | 51-60 | 61-70    |       |
| 28               | 1370                         | 1383           | 1923                 | 2329         | 2604  | 2826  | 3005     |       |
| 27               | 1314                         | 1407           | 1967                 | 2365         | 2623  | 2847  | 3021     |       |
| 28               | 1227                         | 1475           | 2011                 | 2389         | 2646  | 2867  | 3029     |       |
|                  | 1218                         | 1539           | 2045                 | 2420         | 2672  | 2880  | 3042     |       |
|                  | 1213                         | 1585           | 2088                 | 2451         | 2714  | 2898  | 3059     |       |
|                  | 1207                         | 1643           | 2128                 | 2472         | 2734  | 2917  | 3070     |       |
|                  | 1204                         | 1695           | 2156                 | 2503         | 2757  | 2945  | 3080     |       |
|                  | 1201                         | 1790           | 2193                 | 2532         | 2772  | 2963  | 3095     |       |
|                  | 1200                         | 1840           | 2232                 | 2551         | 2793  | 2978  | 3103     |       |
|                  | 1198                         | 1888           | 2298                 | 2576         | 2815  | 2986  | 3116     |       |

**Figura B-27** Informe del monitor de reacción

Ecuación B-15

$$v_x = (Amp_2 - Amp_1) / t$$

| Símbolo | Definición                                           | Valor              |
|---------|------------------------------------------------------|--------------------|
| $v_x$   | Variación de la absorbancia                          |                    |
| $Amp_2$ | Absorbancia en el punto de medición 2 <sup>(a)</sup> | 0,2232             |
| $Amp_1$ | Absorbancia en el punto de medición 1                | 0,1790             |
| $t$     | Tiempo entre $mp_1$ y $mp_2$                         | 1,4917 min<br>utos |

Ecuación B-16

$$C_x = [K(v_x - v_b) + C_b] \cdot IF_A + IF_B$$

| Símbolo      | Definición                                                                                  | Valor    |
|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| $C_x$        | Concentración del analito de la muestra                                                     |          |
| $K$          | Factor de calibración <sup>(a)</sup>                                                        | 16479,6  |
| $v_x$        | Variación de la absorbancia de la reacción con la muestra                                   | 0,029631 |
| $v_b$        | Variación de la absorbancia de la reacción con Std (1)/<br>calibrador blanco <sup>(a)</sup> | 0,0001   |
| $C_b$        | Valor de concentración de Std (1)/calibrador blanco <sup>(b)</sup>                          | 0,0      |
| $IF_A, IF_B$ | Constantes del instrumento para una pendiente de 1 y una<br>intersección de 0               | 1, 0     |

# ÍNDICES SÉRICOS

- Los índices séricos son cálculos de mediciones de absorbancia que ofrecen una representación semicuantitativa de los niveles ictericos, hemolíticos y lipémicos (turbidez) presentes en la muestra de los pacientes

El analizador toma una parte alícuota de la muestra de paciente, la diluye con una solución de NaCl al 0,9% y luego mide las absorbancias en tres pares de longitudes de onda.

- Para la medición de la lipemia (L) se utilizan longitudes de onda 700/660 nm porque este intervalo está libre de la influencia de cromógenos como la hemólisis y la ictericia (véase la Figura B-31 a continuación).
- La hemólisis (H) se mide en longitudes de onda 600/570 nm y luego se aplica una corrección para compensar la absorción provocada por la lipemia.
- La ictericia (I) se mide en longitudes de onda 505/480 nm y luego se aplica una corrección para compensar la absorción provocada por la lipemia y la hemólisis.

Los resultados deberían obtenerse en los siguientes intervalos, que corresponden a un volumen aproximado del cromógeno indicado:

| Índice sérico     |   | Unidades<br>convencionales | Unidades SI        |                   |
|-------------------|---|----------------------------|--------------------|-------------------|
| Índice lipémico   | L | 0-1000 mg/dl               | 0-11 mmol/l        | Intralípido       |
| Índice hemolítico | H | 0-1000 mg/dl               | 0-620 $\mu$ mol/l  | Hemoglobina       |
| Índice ictérico   | I | 0-60 mg/dl                 | 0-1000 $\mu$ mol/l | Bilirrubina total |

**Tabla B-14**

# VALORES DE ÍNDICES SÉRICOS QUE AFECTAN A CADA TÉCNICA

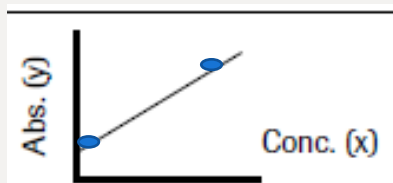
| COBAS C             | H    | I                             | L    |
|---------------------|------|-------------------------------|------|
| Albúmina            | 1000 | 60                            | 550  |
| ALT                 | 90   | 60                            | 150  |
| Aamilasa            | 500  | 60                            | 1500 |
| Amonio              | 100  | 60                            | 700  |
| AST                 | 40   | 60                            | 150  |
| Bilirrubina directa | 25   | No procede                    | 750  |
| Bilirrubina total   | 800  | No procede                    | 1000 |
| Calcio              | 1000 | 60                            | 1000 |
| CK                  | 200  | 60                            | 1000 |
| Colinesterasa       | 700  | 60                            | 1000 |
| Creatinina          | 1000 | 5(directa),<br>10(indirecta)  | 800  |
| Fósforo             | 300  | 40(directa),<br>60(indirecta) | 1250 |
| Glucosa             | 1000 | 60                            | 1000 |
| LDH                 | 15   | 60                            | 900  |
| Lactato             | 1000 | 28(directa),<br>60(indirecta) | 1500 |
| MAGNESIO            | 800  | 60                            | 2000 |
| Paracetamol         | 800  | 30                            | 400  |
| PCR                 | 1000 | 60                            | 1000 |
| Proteinas suero     | 500  | 20                            | 2000 |
| Urea                | 1000 | 60                            | 1000 |
| Urico               | 1000 | 40                            | 1500 |

The background is a light gray color with several decorative elements. In the top left, there is a light purple circle containing an orange flower-like shape with six petals and a crosshair. In the top right, there is a large pink circle with thin, radiating lines. In the bottom left, there is a light blue circle with wavy horizontal lines. In the bottom right, there is a light orange circle with a dense pattern of small, dark orange dashes. Scattered around these larger shapes are several smaller circles in various colors: light blue, orange, and dark blue.

# CALIBRACIÓN FOTOMÉTRICA

# TIPOS DE CALIBRACIÓN

## LINEAL



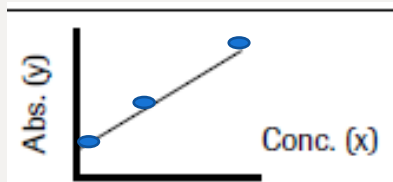
**2 CALIBRADORES:  
FORMAN UNA LÍNEA RECTA**

Std (1): agua

Std (2): CFAS

**LO MÁS COMÚN  
EN PRUEBAS  
BIOQUÍMICAS  
(CFAS + H<sub>2</sub>O)**

## LINEAL MULTIPUNTO



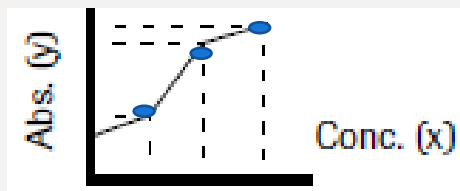
**MÁS DE 2 CALIBRADORES:  
FORMAN UNA LÍNEA RECTA**

Std (1): agua

Std (2): calibrador

Std (3): calibrador 2...

## NO LINEAL



**MÍNIMO 3 Y MÁXIMO 6 CALIBRADORES  
NO FORMAN UNA LÍNEA RECTA**

Std (1): agua

Std (2): calibrador

Std (3): calibrador 2

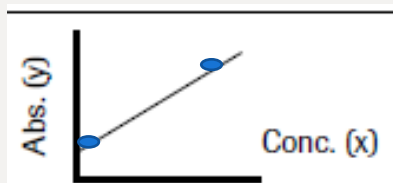
Std (4): calibrador 3

Std (5): calibrador 4

Std (6): calibrador 5

# TIPOS DE CALIBRACIÓN

## LINEAL



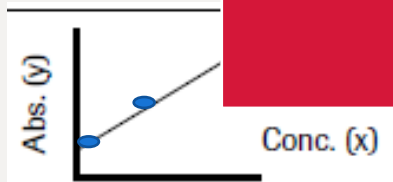
**2 CALIBRADORES:  
FORMAN UNA LÍNEA RECTA**

Std (1): agua

Std (2): CFAS

**LO MÁS COMÚN  
EN PRUEBAS  
BIOQUÍMICAS  
(CFAS + H<sub>2</sub>O)**

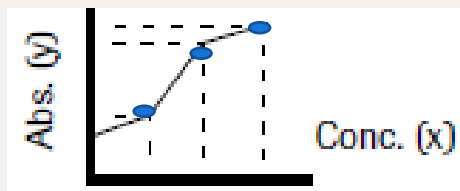
## LINEAL MULTIPUNTO



**NO ES NECESARIO UTILIZAR TODOS EN CADA  
ACTUALIZACIÓN DE CALIBRACIÓN**

Std (3): calibrador 2...

## NO LINEAL



**MÍNIMO 3 Y MÁXIMO 6 CALIBRADORES  
NO FORMAN UNA LÍNEA RECTA**

Std (1): agua

Std (2): calibrador

Std (3): calibrador 2

Std (4): calibrador 3

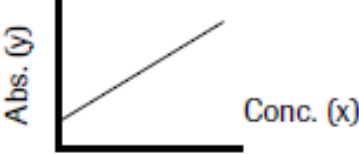
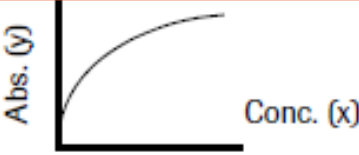
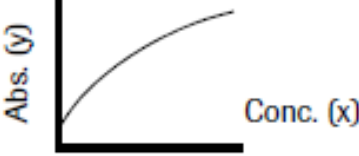
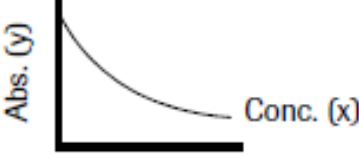
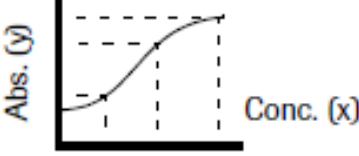
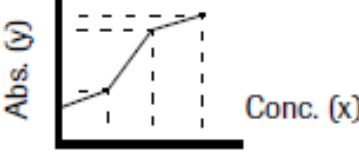
Std (5): calibrador 4

Std (6): calibrador 5

Los sistemas cobas 6000 ofrecen cuatro métodos para actualizar las calibraciones: blanco y span (ambos calibraciones de un punto), 2 puntos y completa. A continuación figura una lista de estos métodos de calibración junto con los calibradores correspondientes y los tipos de calibración.

| Método de calibración | Calibradores necesarios                                       |                                                                          | Tipo de calibración aplicable                              |
|-----------------------|---------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| Blanco                | Calibrador Std (1)                                            | En los sistemas cobas 6000, el agua se utiliza como calibrador blanco.   | Lineal, RCM, RCM2T1, RCM2T1, polinómica y gráfico de línea |
| Span                  | Std (N) con $N > 1$                                           | Para este método debe utilizarse un calibrador que no sea Std (1).       | Lineal, RCM, RCM2T1, RCM2T1                                |
| 2 Puntos              | Calibrador Std (1) y un calibrador adicional Std (N), $N > 1$ |                                                                          | Lineal, RCM, RCM2T1, RCM2T1                                |
| Completa              | Std (1), Std (2), Std (3)... Std (N)                          | Todos los calibradores especificados para la aplicación <sup>(a)</sup> . | RCM, RCM2T1, RCM2T1, polinómica, gráfico de línea          |

**Tabla C-5**      Métodos de calibración

| Tipo de calibración | Modelo matemático                                                                                               |                                                                                       | Referencia cruzada                                       |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| Lineal              | $y = a + b \cdot x$                                                                                             |    | <i>Calibración lineal</i> en la página C-23              |
| RCM                 | $y = \frac{a-d}{1 + \left(\frac{x}{b}\right)^c} + d$                                                            |    | <i>Calibración RCM</i> en la página C-24                 |
| RCM2T1              | $y = a + b \cdot \frac{\sinh z}{1 + z^2}$ con $z = c \cdot x + d$                                               |    | Véase <i>Calibración RCM2T1</i> en la página C-28        |
| RCM2T2              | $y = a + r \cdot (1 + s \cdot x)^{-2}$                                                                          |    | <i>Calibración RCM2T2</i> en la página C-30              |
| Polinómica          | Funciones polinómicas definidas a intervalos ascendentes para la interpolación entre los puntos del calibrador. |   | <i>Calibración polinómica</i> en la página C-32          |
| Gráfico de línea    | Polígono de interpolaciones lineales con pendientes de $(A_N - A_{N-1}) / (C_N - C_{N-1})$                      |  | <i>Calibración de gráfico de línea</i> en la página C-34 |

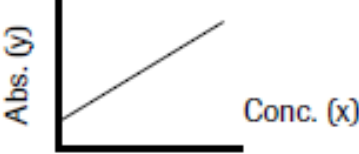
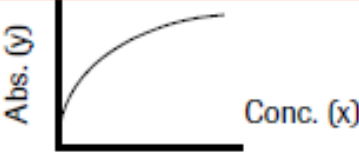
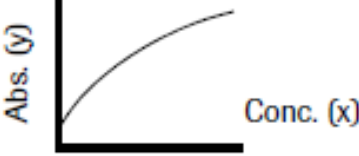
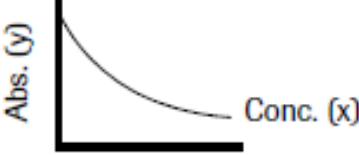
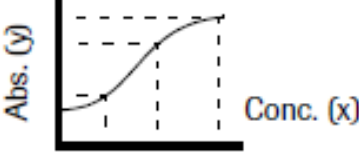
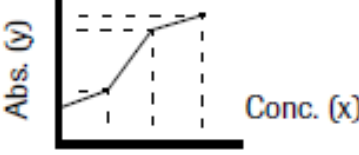
El que más utilizamos en módulo 501

Bioquímica

Solo medimos dos puntos (blanco + Span)

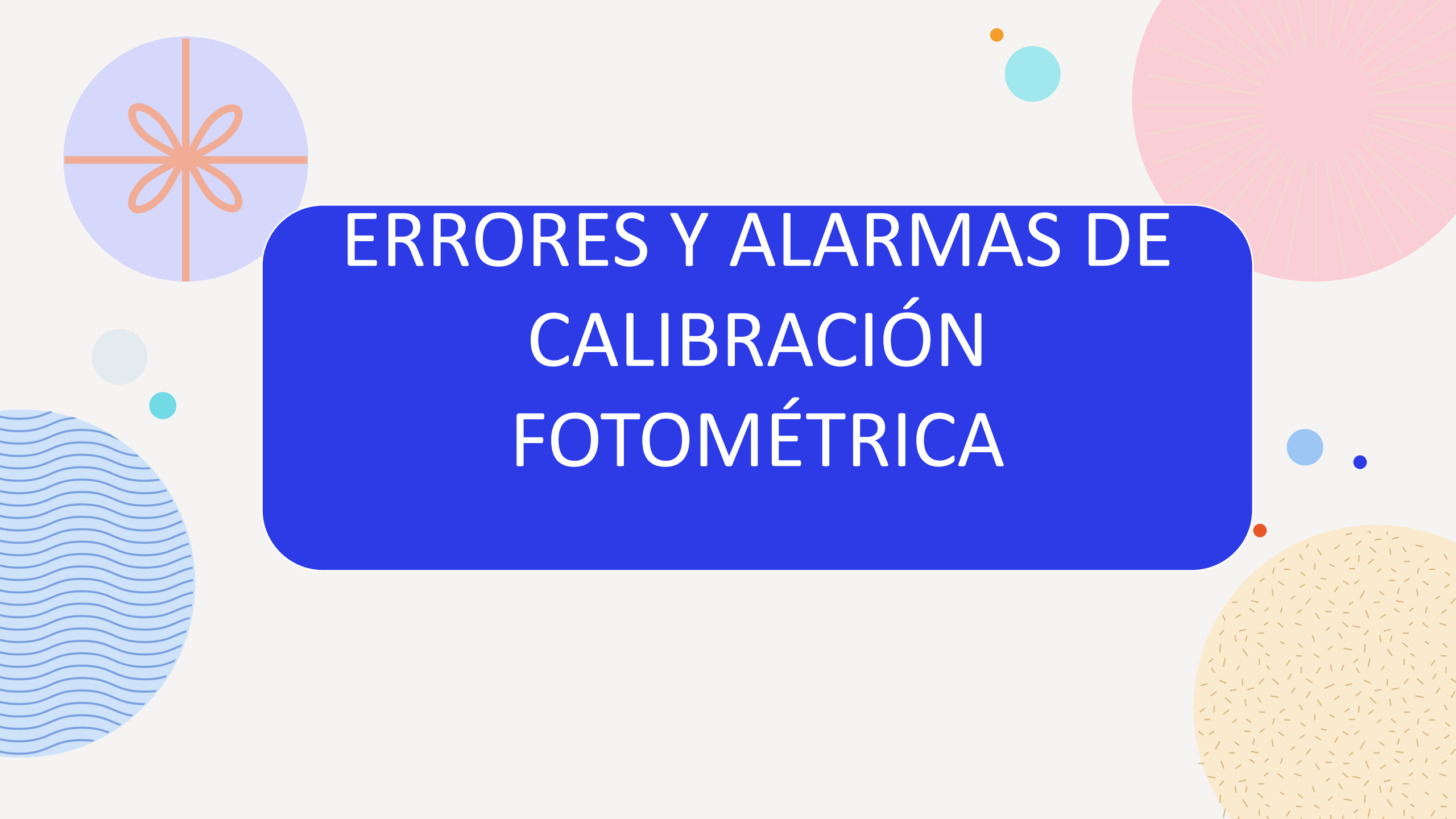
**Tabla C-4**

Introducción a los tipos de calibración

| Tipo de calibración | Modelo matemático                                                                                               |                                                                                       | Referencia cruzada                                       |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| Lineal              | $y = a + b \cdot x$                                                                                             |    | <i>Calibración lineal</i> en la página C-23              |
| RCM                 | $y = \frac{a-d}{1 + \left(\frac{x}{b}\right)^c} + d$                                                            |    | <i>Calibración RCM</i> en la página C-26                 |
| RCM2T1              | $y = a + b \cdot \frac{\sinh z}{1 + z^2}$ con $z = c \cdot x + d$                                               |    | Véase <i>Calibración RCM2T1</i> en la página C-28        |
| RCM2T2              | $y = a + r \cdot (1 + s \cdot x)^{-2}$                                                                          |    | <i>Calibración RCM2T2</i> en la página C-30              |
| Polinómica          | Funciones polinómicas definidas a intervalos ascendentes para la interpolación entre los puntos del calibrador. |   | <i>Calibración polinómica</i> en la página C-32          |
| Gráfico de línea    | Polígono de interpolaciones lineales con pendientes de $(A_N - A_{N-1}) / (C_N - C_{N-1})$                      |  | <i>Calibración de gráfico de línea</i> en la página C-34 |

**Se necesitan mínimo 3 calibradores  
Y máximo 6**

**Tabla C-4** Introducción a los tipos de calibración

The background is a light gray color. It features several decorative elements: a large light blue circle in the top left with an orange flower-like pattern; a large pink circle in the top right with a radial line pattern; a large light blue circle in the bottom left with a wavy line pattern; and a large orange circle in the bottom right with a dashed line pattern. There are also several smaller solid-colored circles in light blue, orange, and teal scattered around the central text box.

# ERRORES Y ALARMAS DE CALIBRACIÓN FOTOMÉTRICA

# LÍMITE SD

- Con la curva de calibración, a partir de una concentración se **calcula** una absorbancia
- Se compara con absorbancia **medida**
- Si la diferencia es mayor que el límite SD programado en Utilidades>Aplicación>Calibración → **S.D.E.** (SD error)

- Causa*
- El calibrador no está colocado en la posición correcta.
  - El valor de límite SD especificado es inadecuado.

- Remedio*
1. Compruebe las posiciones de los calibradores en **Calibración > Calibrador**.
  2. Seleccione **Utilidades > Aplicación > Calib.** para comprobar el límite SD.
  3. Compruebe el almacenamiento y la manipulación del reactivo y la preparación del calibrador. Recalibre los tests afectados.
  4. Compruebe las concentraciones de estándar en **Calibración > Instalar**. En las calibraciones con dilución automática del estándar, compruebe que es correcta la relación entre concentración, muestra, volumen de diluyente y muestra diluida en **Utilidades > Aplicación > Otros**.
  5. Reanude la operación. Si se repite la alarma, póngase en contacto con su representante del servicio técnico de Roche.

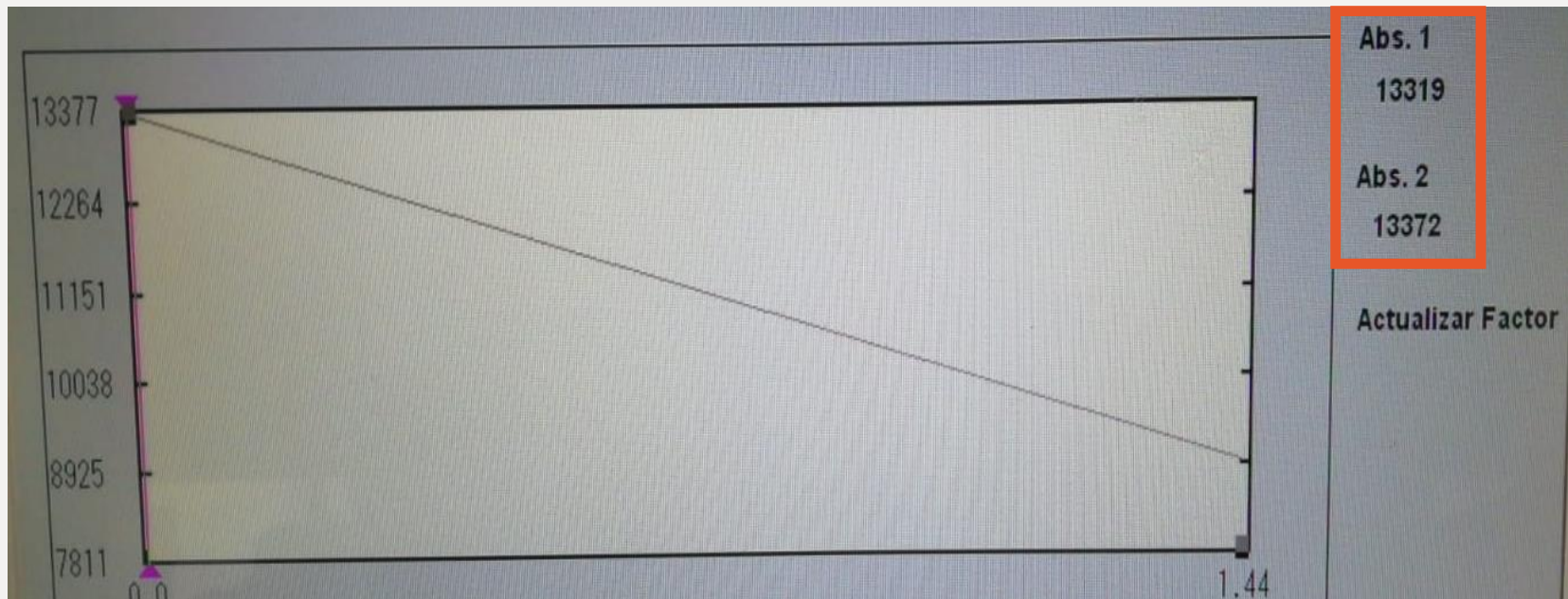
# LÍMITE DUPLICADO

- El calibrador se procesa por duplicado y se calcula una DE% y DE Abs con los dos valores

$$DE_{\%} = \frac{|Abs2 - Abs1|}{(Abs2 + Abs1)/2} \cdot 100 \text{ y } DE_{Abs.} = |Abs2 - Abs1|,$$

donde  $Abs1$  y  $Abs2$  representan las dos lecturas de absorbancia tomadas de cada calibrador (lecturas duplicadas).

- Si los valores están fuera del intervalo de referencia → **Dup. E** (Error de duplicidad)



*Causa* La diferencia entre la primera y la segunda medición (absorbancia) de un calibrador es mayor que el límite de duplicado de Abs. y que el % de error de duplicado.

*Remedio*

1. Recalibre.
2. Compruebe el almacenamiento de los reactivos, la manipulación y la fecha de caducidad. Si fuese necesario, sustituya el reactivo y recalibre.
3. Si se repite la alarma, póngase en contacto con su representante del servicio técnico de Roche.

# LÍMITE DE SENSIBILIDAD

- Diferencia de Abs y concentración

$$|Abs(S_N) - Abs(S_1)| / |Conc(S_N) - Conc(S_1)|$$

Tiene que estar en unos límites , si se sale: **Sens. E** (error de sensibilidad)

S1: Calibrador blanco

Sn: Calibrador span

*Causa*

- El calibrador no está colocado en una posición adecuada.
  - El reactivo ha sido preparado incorrectamente o se ha deteriorado.
- El límite de sensibilidad especificado es inadecuado.

*Remedio*

1. Compruebe las fechas de preparación y caducidad de los calibradores y los reactivos. Recalibre los tests afectados.
2. Compruebe que no hay fugas en el pipeteador de muestras y recalibre el test afectado.
3. Seleccione **Utilidades > Aplicación > Calib.** para comprobar el límite de sensibilidad y recalibre el test afectado.
4. Reanude la operación. Si se repite la alarma, póngase en contacto con su representante del servicio técnico de Roche.

# LÍMITE ABS. S1

- Existe un límite superior e inferior para calibrador blanco
- Si se sale de ese límite → **S1A.E** (error de absorbancia de calibrador blanco)

*En el caso de las calibraciones lineales, el blanco de reactivo es simplemente la intersección Y de la curva de calibración. En cuanto a los tipos de calibración no lineales, el blanco de reactivo es la absorbancia prevista para una concentración cero del analito.*

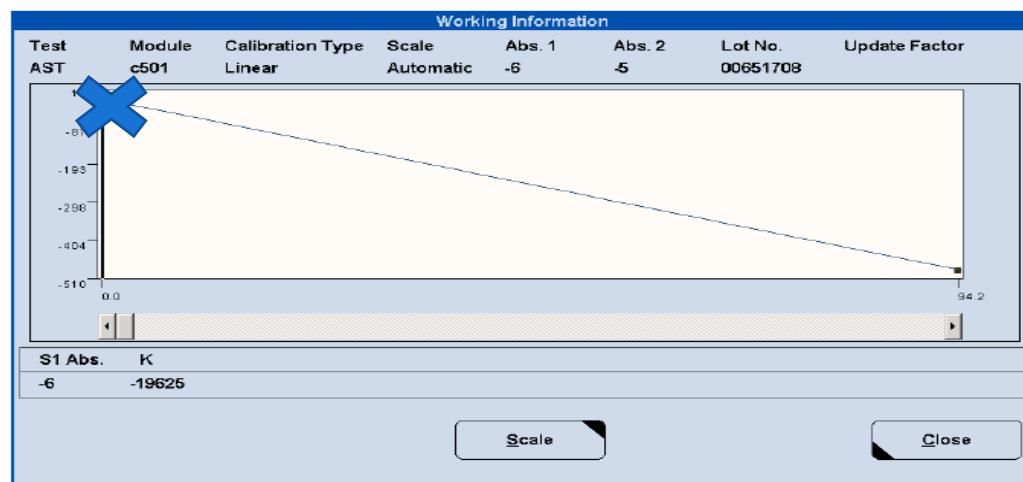


Figura B-12

Ventana Curva Calibración

- Causa*
- El reactivo ha sido almacenado y manipulado incorrectamente o se ha deteriorado.
  - El rango de absorbancia especificado para el calibrador 1 es inadecuado.

- Remedio*
1. Compruebe el almacenamiento y la manipulación del reactivo y la preparación del calibrador, si es aplicable.
  2. Recalibre.
  3. Compruebe la Abs. S1. Los valores de límite se especifican en **Utilidades > Aplicación > Calib.**
  4. Reanude la operación. Si se repite la alarma, póngase en contacto con su representante del servicio técnico de Roche.

# COMPROBACIÓN ESTÁNDAR

- Si durante la calibración se emite alguna de las siguientes alarmas → **Std.E**

| Alarma de datos                          | Alarma de datos |
|------------------------------------------|-----------------|
| ADC anómalo                              | ADC.E           |
| Blanco de cubetas anómalo                | >Cubeta         |
| Muestra insuficiente                     | Samp.S          |
| Reactivo insuficiente                    | Reag.S          |
| Absorbancia excesiva                     | AbsL            |
| Límite Abs.                              | >React          |
| Linealidad anómala                       | >Lin            |
| Error de prozona                         | >Proz, >Kin     |
| Cálculo desactivado                      | Calc.?          |
| Error de duplicado                       | Dup.E           |
| Solución estándar 1, absorbancia anómala | S1A.E           |

**Tabla C-2**

Alarmas que originan una alarma Std.E cuando se emiten durante la calibración

- Causa*
- El reactivo no se ha almacenado o manipulado correctamente o está vacío y debe sustituirse.
  - La concentración del calibrador es incorrecta o el calibrador no está en una posición correcta.
  - El valor de chequeo especificado es inadecuado.

- Remedio*
1. Corrija todas las demás alarmas del instrumento y/o de resultados.
  2. Prepare calibrador nuevo; colóquelo en el rack y recalibre.
  3. Sustituya el reactivo y recalibre.
  4. Seleccione **Utilidades > Aplicación** para comprobar los parámetros de calibración.
  5. Reanude la operación. Si se repite la alarma, póngase en contacto con su representante del servicio técnico de Roche.

| Alarma de datos | Curva de reacción | Guardado en disco duro | Presentación en pantalla de alarmas |
|-----------------|-------------------|------------------------|-------------------------------------|
| SD.E            | Actualizada       | Sí                     | Mostrada                            |
| Dup.E           | No actualizada    | No                     | No mostrada                         |
| Sens.E          | No actualizada    | No                     | Mostrada                            |
| S1A.E           | No actualizada    | No                     | No mostrada                         |
| Cal.E           | Actualizada       | Sí                     | Mostrada                            |
| Std.E           | No actualizada    | No                     | Mostrada                            |

**Tabla C-3** Resultado de los datos cuando se emite una alarma de datos durante la calibración

- Si no se actualiza la curva de reacción → tomar medidas y volver a calibrar
- A veces, aunque se haya actualizado la curva, debería recalibrarse (según la causa que haya provocado la alarma)

| Indicador | Alarma                                                  | c 501(ISE) | c 501(P) | e 601 |
|-----------|---------------------------------------------------------|------------|----------|-------|
| Cal.E     | Error de calibración (indicador de calib., c 501 (ISE)) | ✓          | –        | –     |
| Cond.E    | Preparación (ISE) anómala                               | ✓          | –        | –     |
| Diff.E    | Diferencia mínima aceptable                             | –          | –        | ✓     |
| Dup.E     | Error de duplicado (c 501)                              | –          | ✓        | –     |
| Dupl.     | Error de duplicado (e 601)                              | –          | –        | ✓     |
| IStd.E    | Concentración anómala de estándar interno               | ✓          | –        | –     |
| Mono.E    | Monotonía de curva                                      | –          | –        | ✓     |
| Prep.E    | Preparación anómala                                     | ✓          | –        | –     |
| Rsp1.E    | Respuesta (ISE) anómala 1                               | ✓          | –        | –     |
| Rsp2.E    | Respuesta (ISE) anómala 2                               | ✓          | –        | –     |
| S1A.E     | ABS S1 anómala                                          | –          | ✓        | –     |
| SD.E      | Error de límite SD                                      | –          | ✓        | –     |
| Sens.E    | Error de sensibilidad                                   | –          | ✓        | –     |
| >Sig      | Señal máxima                                            | –          | –        | ✓     |
| <Sig      | Señal mínima                                            | –          | –        | ✓     |
| Sig.E     | Señal mínima/máxima                                     | –          | –        | ✓     |
| Slop.E    | Pendiente del ISE anómala                               | ✓          | –        | –     |
| Std.E     | Error de estándar                                       | ✓          | ✓        | –     |
| Sys.E     | Error del sistema                                       | –          | –        | ✓     |

**Tabla D-2**

Lista Alarma Resultados

**¡¡¡FIN!!!**  
**GRACIAS**

