



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
MEDICINA

EFFECTO DE DIFERENTES MÉTODOS DE DESCONGELACIÓN
SOBRE DETERMINADOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS EN
MUESTRAS DE SUERO

EFFECT OF DIFFERENT THAWING METHODS ON CERTAIN
BIOCHEMICAL PARAMETERS IN SERUM SAMPLES

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

AUTORES

DANIEL DAVE LLALLIRE ALMEIDA

CARLA XIOMARA QUIROZ DIAZ

ASESOR

BILLY JOEL SANCHEZ JACINTO

LIMA - PERÚ

2024

JURADO

Presidente: Lic. TM. Lourdes Beatriz Ramos Cordova

Vocal: Lic. TM. Delia Margot Faustino Arias

Secretario: Lic. TM. Silvia Flores Toledo

Fecha de sustentación: 04/11/2024

Calificación: Aprobado

ASESORES DE TESIS

ASESOR

Lic. TM. Billy Joel Sanchez Jacinto

ORCID: 0000-0001-7106-4114

DEDICATORIA

Para nuestras madres y padres por su apoyo incondicional, y para nuestras familias por el apoyo en nuestro proceso de formación académica y profesional.

AGRADECIMIENTO

Al Lic. Billy Sanchez Jacinto y Lic. Allison Chavez Arestegui, por la guía y el apoyo en la realización de nuestra tesis. A nuestra alma mater la Universidad Peruana Cayetana Heredia y a nuestros docentes por impartirnos sus conocimientos en nuestra vida universitaria.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

El presente estudio ha sido financiado por los investigadores.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

RESULTADO DE INFORME DE SIMILITUD



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
MEDICINA

EFFECTO DE DIFERENTES MÉTODOS DE DESCONGELACIÓN
SOBRE DETERMINADOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS EN
MUESTRAS DE SUERO

EFFECT OF DIFFERENT THAWING METHODS ON CERTAIN
BIOCHEMICAL PARAMETERS IN SERUM SAMPLES

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

AUTORES

DANIEL DAVE LLALLIRE ALMEIDA
CARLA XIOMARA QUIROZ DIAZ

ASESOR

BILLY JOEL SANCHEZ JACINTO

LIMA - PERÚ

2024



11% Similitud estándar

Filtros

Fuentes

Mostrar las fuentes solapadas



1 Internet

repositorio.upch.edu.pe 3%

13 bloques de texto 195 palabra que coinciden

2 Internet

duict.upch.edu.pe 1%

7 bloques de texto 92 palabra que coinciden

3 Internet

repositorio.utmachala.edu.ec <1%

4 bloques de texto 59 palabra que coinciden

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN

ABSTRACT

1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS:	6
3. MATERIAL Y MÉTODO:	7
4. RESULTADOS:	15
5. DISCUSIÓN:	17
6. CONCLUSIÓN:	23
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:	25
8. TABLAS, GRÁFICOS Y FIGURAS:	30
9. ANEXOS:	

RESUMEN

Introducción: Actualmente se continúa estudiando la relación entre el suero y la temperatura de almacenamiento, sin embargo, hay poca información sobre los métodos de descongelación y su impacto en los resultados finales de cada analito.

Objetivos: Determinar el efecto de diferentes métodos de descongelación sobre determinados parámetros bioquímicos en muestras de suero. **Materiales y**

métodos: Estudio observacional, transversal, el tamaño de muestra fue de 75 muestras de suero obtenidas de 15 personas, obtuvimos 5 crioviales por cada una, uno de los crioviales fue procesado de forma inmediata, dos fueron almacenados de 4°C y los dos restantes se almacenaron a -20°C; dos días después se llevaron los crioviales, a 25°C y a baño maría (37°C). Los parámetros bioquímicos evaluados fueron glucosa, creatinina, aspartato aminotransferasa, ácido úrico y bilirrubina total. Se utilizó el análisis estadístico con el programa Medcalc v22.0.23 empleando Anova de pruebas repetidas, para así determinar si era estadísticamente significativo ($p < 0.05$) y si tenían una variación de sesgo porcentual descrita por Westgard. **Resultados:** La glucosa, ácido úrico y bilirrubina total (almacenadas a -20°C y 4°C) sometida a los diferentes métodos de descongelación sufrieron notables alteraciones en relación a su promedio basal, aunque, de igual manera se encontró una diferencia estadísticamente significativa en todos los analitos evaluados ($p < 0.001$); además, solo se encontró una diferencia de sesgo porcentual descrita por Westgard, en la glucosa y la bilirrubina total (almacenadas a -20°C y 4°C), cuando se llevaron a 25°C y baño maría (37°C); y de igual manera, en la creatinina (almacenada a -20°C) cuando se descongeló a baño maría (37°C). **Conclusiones:** Se apreció una variación tanto estadísticamente significativa como una diferencia en el sesgo porcentual descrita por Westgard, en la glucosa y bilirrubina total, cuando se llevaron a 25°C y baño maría (37°C).

Palabras claves: Suero, Bioquímica, Temperatura.

ABSTRACT

Introduction: Currently, the relationship between serum and storage temperature continues to be studied, however, there is little information on thawing methods and their impact on the final results of each analyte. **Objectives:** To determine the effect of different thawing methods on certain biochemical parameters in serum samples. **Materials and methods:** Observational, cross-sectional study, the sample size was 75 serum samples obtained from 15 persons, we obtained 5 cryovials for each one, one of the cryovials was processed immediately, two were stored at 4°C and the remaining two were stored at -20°C; two days later the cryovials were taken to 25°C and to a water bath (37°C). The biochemical parameters evaluated were glucose, creatinine, aspartate aminotransferase, uric acid and total bilirubin. Statistical analysis was used with the Medcalc v22.0.23 program using repeated test Anova, to determine if it was statistically significant ($p < 0.05$) and if they had a percentage bias variation described by Westgard. **Results:** Glucose, uric acid and total bilirubin (stored at -20°C and 4°C) subjected to the different thawing methods suffered notable alterations in relation to their basal average, although a statistically significant difference was also found in all the analytes evaluated ($p < 0.001$); furthermore, a percentage bias difference described by Westgard was only found in glucose and total bilirubin (stored at -20°C and 4°C), when brought to 25°C and water bath (37°C); and likewise, in creatinine (stored at -20°C) when thawed at water bath (37°C). **Conclusions:** Both statistically significant variation and a difference in percent bias described by Westgard were appreciated in glucose and total bilirubin when brought to 25°C and water bath (37°C).

Keywords: Serum, Biochemistry, Temperature.

1. Introducción

Los resultados de las pruebas de laboratorio brindan información esencial que influye en la toma de decisiones médicas en un 60-80%; convirtiéndose de esta manera en herramientas imprescindibles para conocer la condición del paciente (1-3). Debido a ello, se recomienda que las muestras sean procesadas lo antes posible, pero existen ocasiones donde las muestras no pueden ser analizadas o se requieran para análisis posteriores.

Por este motivo, se han realizado múltiples investigaciones en las cuales se sometió a los analitos bioquímicos del suero a distintas condiciones como; rangos de temperatura e intervalos de tiempo en el almacenamiento (4-8); ciclos de congelación y descongelación (9-11); y contacto prolongado con la retracción de coágulo en el tubo de recolección sanguínea (12,13). Estos fueron algunos de los factores que se consideraron para conocer la variación en su concentración y estabilidad de los analitos. En relación con la temperatura de almacenamiento del suero, se ha hallado que, si la muestra no es procesada, esta debe de ser almacenado en refrigeración a 4°C, teniendo como máximo 48 horas para su análisis, pero en casos donde el tiempo de almacenamiento sea mayor, lo ideal es congelar el suero a -20°C para que su viabilidad se prolongue alrededor de un mes (14-18).

Así mismo, con respecto a la temperatura de almacenamiento del suero, en la década de los 70 la Organización Mundial de la Salud (OMS) señaló que la refrigeración (4°C) o congelación (-20°C) rápida eran los métodos más seguros para almacenar estas muestras, debido a que evitaban los cambios bruscos producidos por las proteínas, las concentraciones de iones y el pH del suero tras descongelar

las muestras; además, se indicaba que la descongelación se tenía que realizar por baño maría a 37°C (19). En la actualidad se conoce que la mayoría de muestras biológicas que consisten en fluidos corporales humanos están constituidas por agua, sales y proteínas, por lo que al congelarse no se solidifican a una sola temperatura, sino en un rango de temperaturas ocasionando que ocurra una fase sólida y otra líquida; de no realizar un congelamiento total, esta fase líquida dará lugar a una menor estabilidad de la muestra (11).

Aunque actualmente se continúa estudiando la relación entre el suero y la temperatura de almacenamiento, la bibliografía actual revela una preponderancia de estudios sobre los métodos de congelación del suero, contrastando con la limitada información disponible acerca de los métodos de descongelación. Los diversos componentes que se encuentran presentes en el suero pueden experimentar modificaciones dispares durante la descongelación, influyendo en su concentración y en la cuantificación de algunos analitos. Es así que, algunos estudios donde se han explorado la estabilidad de ciertos analitos durante diferentes periodos de tiempo, se han podido observar que muestras de suero almacenadas en refrigeración a 2°C y llevada a temperatura ambiente (25°C) presentaron una inestabilidad en la creatinina y un impacto clínico potencial ($p < 0,001$) (21). De igual manera, en estudios donde se almacenó las muestras congeladas a -20°C y se descongelaron los sueros a temperatura ambiente (25°C), se encontró inestabilidad significativa en ácido úrico a lo largo del tiempo ($p < 0,001$) (22); así mismo, la creatinina también mostró cambios sustanciales en el transcurso del tiempo, con una variación de hasta el 20% (23), y la bilirrubina total presentó una diferencia significativa de -30,5% en su concentración ($p < 0,001$) (21). En contraposición, un estudio que realizó un

almacenamiento del suero por medio de la refrigeración a 4°C y llevo a temperatura ambiente por medio del baño maría (37°C) reveló una reducción en la concentración de aspartato aminotransferasa del 4% en los primeros 3 días y se fueron incrementando hasta el día 14; además, cuando se almacenó las muestras congeladas a -20°C, e igualmente se descongeló con baño maría (37°C), mostró una reducción en un 7% durante los primeros 4 días (5). Esto nos podría indicar que los métodos de descongelación, la descongelación por baño maría (37°C) y descongelación a temperatura ambiente (25°C), podrían ser uno de los factores por el cual los resultados de los analitos fueron diversos.

La exposición de los analitos séricos a los métodos de descongelación podría inducir cambios moleculares, afectando potencialmente su integridad, impactando significativamente en los resultados de los análisis clínicos. En los procedimientos de medición en el laboratorio existe un parámetro denominado la incertidumbre de la medición, que puede ser interpretado como un intervalo asociado a una determinada probabilidad en la que se encuentra el verdadero resultado, este concepto metrológico garantiza que los resultados se ajusten a su finalidad clínica, ayudando inclusive a la interpretación de los resultados (28). El sesgo es un componente importante que contribuye a la ampliación de la incertidumbre de medición, este concepto es interpretado como la estimación de un error de medición sistemático, y aunque en la actualidad con los nuevos avances en los sistemas de medición se continúa reduciendo el sesgo en los laboratorios de química clínica, es poco probable que se reduzca los problemas de sesgo más complejos, como los sesgos que son clínicamente importantes, debido a que los cambios mínimos en las concentraciones de los analitos tiene consecuencias clínicas importantes que se

reflejan a la hora del diagnóstico y en el control de enfermedades. Existen diversas causas que podrían ocasionar un sesgo en el laboratorio, como la mala toma de muestra, la inestabilidad de la muestra al momento de almacenarla o transportarla, el error al momento de preparar los calibradores, las interferencias propias de la muestra, entre otras. En consecuencia, analizar el sesgo permite asegurar que el error sistemático del método analítico sea lo suficientemente pequeño como para no afectar significativamente la interpretación clínica de los resultados (28,29).

En la Actualidad los métodos de congelación y descongelación mayormente son empleado en los biobancos, y la mayoría de sus procedimientos se han basado en la experiencia que han obtenido de grandes estudios comerciales y académicos, pero aún no se puede hablar de un procedimiento estandarizado (20), analizar este tema resulta novedoso debido a la información que se puede obtener sobre estos procedimientos. De igual manera, la información recolectada en la presente investigación es interesante, debido a que puede ser de utilidad para los laboratorios de rutina o biobancos que necesiten almacenar muestras por un periodo de tiempo, donde los métodos de descongelación, la descongelación por baño maría (37°C) y descongelación a temperatura ambiente (25°C), puede desempeñar un papel importante en la confiabilidad al momento de obtener los resultados. Así mismo, los marcadores bioquímicos elegidos para este estudio fueron: glucosa, creatinina, aspartato amino transferasa, ácido úrico y bilirrubina total, estos fueron seleccionados basándose en su susceptibilidad a alteraciones en investigaciones anteriores, donde fueron sometidos a efectos de descongelación.

Por todo lo anterior expuesto, debido a la escasa información sobre las formas de descongelación del suero y la influencia que puede ocasionar en los analitos

bioquímicos, este estudio constituye un modelo de investigación o piloto que buscó determinar el efecto de los métodos de descongelación en los analitos bioquímicos en las muestras de suero.

2. Objetivos:

2.1. Objetivo general:

- ❖ Determinar el efecto de los diferentes métodos de descongelación sobre determinados parámetros bioquímicos en las muestras de suero.

2.2. Objetivo específico:

- ❖ Comparar los resultados de la prueba de glucosa, según el método de descongelación.
- ❖ Comparar los resultados de la prueba de creatinina según el método de descongelación.
- ❖ Comparar los resultados de la prueba de aspartato aminotransferasa según el método de descongelación.
- ❖ Comparar los resultados de la prueba de ácido úrico según el método de descongelación.
- ❖ Comparar los resultados de la prueba de bilirrubina total según el método de descongelación.

3. Material y Método:

3.1. Diseño del estudio

El diseño de esta investigación fue observacional y de corte transversal (24).

3.2. Población y lugar de estudio

Este estudio fue realizado en un laboratorio privado ubicado en la provincia de Lima y la población estuvo conformada por las muestras sanguíneas obtenidas de los participantes que fueron “aparentemente sanos”. Para propósito de esta investigación se definió como “aparentemente sanos” a aquellas personas que reportaron no padecer de alguna enfermedad no transmisible (25), y que completaron satisfactoriamente el cuestionario de la CLSI C28-A2 (30) (Ver anexo 1). La recolección de las muestras fue realizada en un mismo día, el siete de septiembre del año 2023 y para la selección de la muestra se utilizaron los siguientes criterios de investigación.

3.2.1. Criterios de inclusión

- Muestras de suero de participantes que fueron catalogados como aparentemente sanos, para ello se siguió el cuestionario de la guía del CLSI (30), y que no padecieran de alguna enfermedad no transmisible.
- Muestras de suero de participantes que eran mayores de edad.

3.2.2. Criterios de exclusión

- Muestras de suero de participantes que no se encontraban en ayunas.
- Muestras de suero de participantes que se encontraban embarazadas.
- Aquellas muestras de suero que fueron lipémicas y hemolíticas.

3.3. Muestra

La muestra estuvo conformada por las muestras de suero de los jóvenes y adultos jóvenes aparentemente sanos que participaron en la investigación, el tipo de muestreo que se realizó fue de tipo no probabilístico por conveniencia.

El tamaño muestral fue establecido por un protocolo propuesto por la Comisión Extra-Analítica y Comisión de Calidad de la Sociedad Española de Medicina de Laboratorio (SEQCML, por sus siglas en inglés) donde evalúan la estabilidad de los analitos bioquímicos y sugieren un mínimo de 10 sujetos (10), para ello se recolectó un total de 15 personas, obteniendo así un total de 75 muestras de suero.

3.4. Definición de variables operacionales

Las variables fueron el “método de descongelación”, que para esta investigación se emplea como una variable Proxy, que hace alusión a “el procedimiento mediante el cual se llevan las muestras congeladas (-20°C) o refrigeradas (4°C) a 25°C, por medio de un baño maría (37°C) o por medio de atemperarlo (25°C)” (14-18,23); y los “analitos bioquímicos”, hacen alusión a los analitos comprendidos por “glucosa, creatinina, aspartato aminotransferasa, ácido úrico y bilirrubina total” (Ver anexo 2).

3.5. Procedimiento y técnicas

Para la realización de la presente investigación, primero fue evaluado y aprobado por la Unidad Integrada de Gestión en Investigación, Ciencia y Tecnología de la Facultad integrada de Medicina, Estomatología y Enfermería (UIGICT). Luego, se solicitó la valoración y aprobación del Comité Institucional de Ética de Investigación (CIEI) en Humanos de la Universidad Peruana Cayetana Heredia; posteriormente, el instrumento fue traducido por un Traductor Público Juramentado

(TPJ) para poder utilizarlo. Para fines de esta investigación solo se contó con la participación de personas que se encontraban en un estado de salud “aparentemente sanas”. Asimismo, la información que fue brindada por los participantes fue tratada con estricta confidencialidad y de manera anónima, para ello fue empleado una codificación en vez del nombre de los participantes.

Etapa preanalítica:

El estudio se llevó a cabo con la participación de 15 individuos aparentemente sanos, se hizo una invitación para que pudieran aceptar de manera voluntaria en nuestra investigación, se pidió un espacio durante una clase en la Universidad Peruana Cayetano Heredia, donde presentamos nuestros objetivos y la justificación de nuestra investigación a los estudiantes, además, les brindamos nuestro correo electrónico para que se pudieran contactar con nosotros de manera voluntaria. Luego, por medio del correo se explicó de forma general la naturaleza del estudio, así como el lugar, fecha, hora y las indicaciones previas relacionadas a la toma de muestra (las cuales eran que una noche anterior a la toma de muestra tendrían que realizar un ayuno de 12 horas y consumir una cena ligera), además de indicar donde tendría que apersonarse el participante; de la misma manera, se adjuntó el consentimiento informado para que lo pudieran leer con antelación y se anexó el número telefónico de uno de los investigadores para solventar alguna duda que se les presentará; los participantes que decidieron participar en la investigación nos enviaron un mensaje confirmatorio.

Luego de reunirnos con los participantes según la hora y día establecido, se les brindó el consentimiento informado en formato impreso (Ver anexo 3), de esta

manera pudieron expresar de forma voluntaria que estaban de acuerdo de participar en nuestra investigación.

Los participantes que aceptaron participar, se les brindó el cuestionario CLSI C28-A2 (30) para que lo puedan rellenar, de esta forma nos cercioramos que cumplieren con los criterios de inclusión, el cuestionario que se empleó en la presente investigación fue un cuestionario validado por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) - How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory C28-A2 (30), que nos ayudó a discernir si un participante era “aparentemente sano”. Este cuestionario fue traducido, por un Traductor Público Juramentado (TPJ) que garantizó el cumplimiento de la calidad, mediante estrictas normativas y altos estándares (Ver anexo 1). Este cuestionario contó con 21 preguntas, donde el participante brindó información de manera general sobre su “condición como persona saludable”. La gran mayoría de preguntas fueron de tipo cerrada, siendo algunas de opción múltiple y otras de tipo dicotómicas, la realización del cuestionario contó con una duración de entre 10 a 15 minutos. Posteriormente, los participantes fueron llevados al área de toma de muestra del laboratorio donde se procedió a recolectar la sangre en tubos de 5ml por cada participante, estos tubos están fabricados con una formula especial de tereftalato de polietileno (PET), además, tenían activadores de la coagulación y gel separador con sistema al vacío; rápidamente se procedió a asignar y rotular los códigos en sus muestras. Finalizado el proceso de extracción, se agradeció a los participantes y se les indicó que posteriormente se les enviará sus resultados obtenidos por correo electrónico.

Los tubos reposaron verticalmente por 30 minutos a temperatura ambiente con una exposición mínima e indirecta a la luz, con la finalidad de que la sangre coagule y de evitar la degradación de las moléculas por rayos UV, posteriormente fueron centrifugadas a 3500 rpm x 10 minutos. Luego, se procedió a examinar el suero de cada tubo para verificar si presentaban hemólisis y lipemia, de esta forma se evitó las muestras que presentaran dichas alteraciones y que pudiesen alterar los resultados de las futuras pruebas.

Etapas analíticas:

Inmediatamente después, se alicuotó 1.5ml de suero en los crioviales (IMEC Cryovial Tube) y continuaron con una exposición mínima e indirecta a la luz, cabe precisar que fueron 5 crioviales por participante. Estos 5 crioviales de cada participante fueron distribuidos de la siguiente forma, uno de ellos fue procesado de manera inmediata, debido a que fue utilizado como muestra basal; dos crioviales fueron refrigerados a 4°C y los últimos dos crioviales fueron congelados a -20 °C. El equipo empleado para almacenar las muestras de suero en congelación (-20°C) y refrigeración (4°C) fue por medio de un congelador/refrigerador de alta calidad (RI-478DN; Indurama, Perú) donde se confirmó la estabilidad de la temperatura a través de un monitorio externo mediante unos termómetros digitales (SH-144; BOECO, Alemania). Las muestras fueron almacenadas y se denominaron como:

- ✓ “Método 1”: muestras almacenadas a 4°C que fueron llevadas a la temperatura de 37°C por medio del baño maría.
- ✓ “Método 2”: muestras almacenadas a -20°C que fueron descongeladas por baño maría (37°C).

- ✓ “Método 3”: muestras almacenadas a 4°C que fueron llevadas a la temperatura de 25°C.
- ✓ “Método 4”: muestras almacenadas a -20°C que fueron llevadas a la temperatura de 25°C.

Tras pasar dos días, las dos muestras de suero de cada participante, que fueron almacenadas a 4°C se llevaron a temperatura ambiente (14-18), un criovial fue sometido por medio de baño maría (37°C), este equipo poseía una pantalla para visualizar y monitorizar la temperatura (WTB6; Memmert, Alemania), y el otro criovial fue expuesto a 25°C, donde fue supervisada por medio de un termómetro externo (SH-144; BOECO, Alemania), ambos fueron agitados periódicamente por inversión para lograr una correcta homogeneización del suero; el tiempo aproximado que se esperó para que el suero estuviese completamente descongelado fue de 1 minuto a baño maría (37°C) y a temperatura ambiente 5 minutos (25°C). El mismo procedimiento fue realizado con los dos crioviales que estaban congelados a -20°C; el tiempo que se esperó en este caso para que el suero se encuentre totalmente descongelado fue de 3 min a baño maría (37°C) y 15 minutos a temperatura ambiente (25°C). Se procesaron las muestras en un mismo día, empleando el analizador automatizado de química seca VITROS® 350, y por cada criovial (IMEC Cryovial Tube) se midió los siguientes analitos: glucosa (método enzimático colorimétrico glucosa oxidasa de punto final), creatinina (método Jaffé cinética de dos puntos), aspartato aminotransferasa (método cinético multipunto), bilirrubina total (método colorimétrico) y ácido úrico (método colorimétrico); dando un total de 25 mediciones por cada participante. Los presentes analitos fueron seleccionados debido a que son los que presentan alteraciones con mayor frecuencia

(5,21,22). Cabe precisar que antes de realizar el procesamiento de las muestras, el equipo fue calibrado y sometido a control de calidad, corriendo el control normal y patológico, determinando un coeficiente de variación aceptable en cada nivel según el procedimiento establecido por el laboratorio (Ver anexo 4). Tras el procesamiento de los analitos, los parámetros que se tuvieron en cuenta para validar los resultados fueron que el equipo se encontrara calibrado, que contara con su control de calidad interno y que los resultados se encontraran dentro de los intervalos de referencias establecidos por el laboratorio.

Etapa post-analítica:

Finalmente, tras terminar con los análisis mencionados se envió los resultados de cada prueba a los participantes, para ello se envió la información por medio del correo electrónico y se reiteró el agradecimiento por su participación en la investigación.

3.6. Aspectos éticos

Esta investigación fue registrada, con el código 210883, en el Sistema Descentralizado de Información y Seguimiento a la Investigación (SIDISI) - Dirección Universitaria de Investigación, Ciencia y Tecnología (DUICT), y fue evaluado y aprobado, con la constancia CIEI-346-32-23, por el Comité de Ética de la UPCH (CIE-UPCH) (Ver anexo 6). Durante el desarrollo del estudio se respetó los principios éticos delineados en la Declaración de Helsinki, y se siguieron estrictamente las recomendaciones realizadas por el CIE-UPCH.

3.7. Plan de análisis

Se elaboró una base de datos con toda la información recolectada de la ficha de datos, en el programa Excel, luego se realizó un control de calidad de los datos y se

migró la información al paquete estadístico Medcalc versión 22.023. Posteriormente se etiquetaron las variables para el análisis exploratorio respectivo. Seguidamente se expresaron en promedio y desviación estándar las variables numéricas que presentaron una distribución normal. La distribución de las variables se determinó utilizando la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk.

De igual manera se evaluaron los supuestos de normalidad para aplicar la prueba paramétrica de Anova de pruebas repetidas, y en caso de encontrar significancia se aplicó la prueba de post hoc de BonFerroni, y se graficó mediante Bland Altman.

La determinación del sesgo se realizó mediante la formula: $O(A) - E(A)$, donde el $O(A)$ representó al valor observado medido y $E(A)$ representó al valor esperado, la determinación del sesgo porcentual se realizó mediante la fórmula: $[(Cx-C1) / C1] \times 100\%$, donde (Cx) representó la media de un analito basal y $(C1)$ la media de un analito sometido a un método de descongelación. Se evaluaron las diferencias entre los niveles de los analitos donde se determinó si eran estadísticamente significativas y si existía una diferencia de sesgo porcentual descrita por Wetsgard, en su tabla de “Especificaciones deseables para el error total, imprecisión y sesgo, derivadas de la variación biológica intra e interindividual” (31). Además, todas estas pruebas fueron realizadas definiendo un nivel de significancia menor a 0.05.

4. Resultados:

La mediana de edad en los participantes de esta investigación fue de 23 (22 – 30) años; en las mujeres fue de 24,7 (22 – 29) años y en los varones fue de 25 (23 -30) años. Además, el sexo femenino fue mayoritario, representando el 66,7% de los participantes. En relación a los analitos evaluados, la glucosa indicó un valor mínimo de 79 (mg/dL) y un valor máximo de 105 (mg/dL); la creatinina presentó un valor mínimo de 0.46 (mg/dL) y un valor máximo de 0.8 (mg/dL); el aspartato aminotransferasa presentó un valor mínimo de 18 (U/L) y un valor máximo de 28 (U/L); en cuanto al ácido úrico indicó un valor mínimo de 3 (mg/dL) y un valor máximo de 6.7 (mg/dL); finalmente, la bilirrubina total mostró un valor mínimo de 0.4 (mg/dL) y un valor máximo de 1.1 (mg/dL).

Efecto de los diferentes métodos de descongelación sobre determinados parámetros bioquímicos en las muestras de suero.

Se encontró una variación en el valor promedio de los analitos examinados, esta variación fue similar entre los valores promedios obtenidos de la creatinina basal y del aspartato amino transferasa basal luego de ser sometidos a los diferentes métodos de descongelación, la creatinina reveló una ligera disminución en promedio de 0.02 mg/dL; y en el caso del aspartato aminotransferasa, se reveló una ligera disminución en promedio de 0.67 U/L. Sin embargo, se observó que la glucosa basal, la bilirrubina basal y el ácido úrico basal sufrieron unos notables aumentos en sus valores promedios luego de ser sometidos a los métodos de descongelación, siendo de hasta 3.87 mg/dL en el caso de la glucosa, 0.11 mg/dL en el caso de la bilirrubina total y de hasta 0.14 mg/dL en el caso del ácido úrico. No obstante, se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre los

diferentes métodos de descongelación evaluados ($p < 0.001$), esta diferencia fue evidenciada en todos los analitos que fueron analizados (Ver tabla 1).

En relación al sesgo presentando por cada analito, en la glucosa el mayor sesgo se presentó en el Método 1 con un sesgo de -4.33 mg/dL; en la creatinina el sesgo fue similar en los Métodos evaluados, con un sesgo de 0.02 mg/dL; en el ácido úrico el mayor sesgo se presentó en el Método 3 con un sesgo de -0.14 mg/dL; en el AST el mayor sesgo se presentó en el Método 4 con un sesgo de 0.66 U/L; y en la bilirrubina total el sesgo fue similar en los Métodos evaluados, con un sesgo de -0.11 mg/dL (Ver tabla 1).

Por otro lado, en el análisis *Post Hoc* el sesgo obtenido de los parámetros bioquímicos analizados fueron estadísticamente significativos ($p < 0.001$) frente al basal en todos los analitos evaluados. Sin embargo, solo se encontró diferencia de sesgo porcentual descrita por Westgard en los siguientes analitos: glucosa, creatinina y bilirrubina total, debido a que los sesgos porcentuales de estos analitos fueron mayores a los niveles de sesgo deseables, según lo observado en la tabla de “Especificaciones deseables para el error total, imprecisión y sesgo, derivadas de la variación biológica intra e interindividual” de Westgard.

En la glucosa se apreció esta variación, con un sesgo porcentual de 5.04 % en el Método 1, un sesgo porcentual de 3.85 % en el Método 2, un sesgo porcentual de 4.53 % en el Método 3, un sesgo porcentual de 3.49 % en el Método 4; en la creatinina se observó esta variación en las muestras, presentando un sesgo porcentual de 5.11 % en el Método 2; finalmente, la bilirrubina total al igual que la glucosa, presento esta variación en todos los métodos de descongelación revelando un sesgo porcentual de 31.89 % en el Método 1, un sesgo porcentual de 31.08 % en

el Método 2, un sesgo porcentual de 27.21 % en el Método 3, y un sesgo porcentual de 33.95 % en el Método 4 (Ver tabla 2).

5. Discusión:

Esta investigación tuvo como objetivo determinar el efecto de los diferentes métodos de descongelación sobre determinados parámetros bioquímicos en las muestras de suero, encontrándose que el efecto fue manifestado mediante variaciones en sus valores promedios y determinando que el efecto de los diferentes métodos de descongelación se reflejó por medio de una diferencia estadísticamente significativa en el valor promedio de todos los analitos evaluados ($p < 0.001$).

En relación a ello, la glucosa analizada, presentó una variación de sesgo estadísticamente significativa ($p < 0.001$) y una diferencia de sesgo porcentual descrita por Westgard, sin embargo, los niveles de glucosa aumentaron en todos los métodos descongelación (Método 1, Método 2, Método 3, Método 4) con respecto a los niveles basales.

En el Método 4, se obtuvo un sesgo de -3mg/dL y un sesgo porcentual de 3.49 %; estos resultados fueron incompatible a los obtenidos por Cuhadar et al., que realizaron la descongelación de la misma forma que el Método 4, donde el sesgo que obtuvieron fue de 0.9 mg/dL y el sesgo porcentual fue de 0.84 %, indicando una estabilidad de este analito durante su experimento (22).

Por otro lado, en una investigación realizada por Yauli et al., igualmente realizó una descongelación de la misma forma que el Método 4, el sesgo que obtuvieron fue de 1.79 mg/dL y el sesgo porcentual de 2.04 %, además, cuando realizaron una descongelación igual al Método 3, el sesgo que obtuvieron fue de 6.48 mg/dL y sesgo porcentual de 7.40 %, estos resultados fueron similares a los obtenidos en

esta investigación debido a que presentaron una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.001$), pero no se observó una diferencia de sesgo porcentual descrita por Westgard (14).

La diferencia con los resultados obtenidos por Cuhadar et al., pueden ser atribuibles al coeficiente de variación del analizador, debido a que reportaron un CV% menor al presentado en esta investigación. Por otro lado, Yauli et al., mencionó que tanto la glucosa, el ácido úrico y la creatinina tiene una tendencia a aumentar su concentración en el tiempo, además, atribuyen a que probablemente el aumento de la concentración de sus analitos se deba a la evaporación de las muestras almacenadas (14).

Mientras tanto, la bilirrubina total analizada presentó igualmente una variación de sesgo significativa ($p < 0.001$) y una diferencia de sesgo porcentual superior al 27 %, en todos los métodos descongelación (Método 1, Método 2, Método 3, Método 4), además, se reportó un incremento en los niveles de este analito tras haber sido almacenada durante 2 días.

En el Método 1, se obtuvo un sesgo de -0.11 mg/dL y un sesgo porcentual de 31.89 %, y en el Método 2, se obtuvo un sesgo de -0.10 mg/dL y un sesgo porcentual de 31.08 %; estos resultados fueron similares a los obtenidos por Yoshihisa y Kiyoshi, que almacenaron sus muestras por 3 días y realizaron una descongelación de la misma forma que el Método 1, el sesgo porcentual que obtuvieron fue de 2.5 % y tras descongelar de igual manera al Método 2, el sesgo porcentual que obtuvieron fue de 2.30 %. Estos autores reportaron una estabilidad en la mayoría de temperaturas que evaluaron, sin embargo, hubo unos cambios notables durante los primeros días, donde la concentración de la bilirrubina total se incrementó

ligeramente de forma similar a nuestra investigación; a pesar de ello, no se reveló un nivel de significancia estadística ni una diferencia de sesgo porcentual descrita por Westgard (5).

Por otro lado, en una investigación llevada a cabo por Cuhadar et al., en donde realizaron una descongelación de la misma forma que el Método 4, el sesgo que obtuvieron fue de -0.0045 mg/dL y el sesgo porcentual de -3.52 %, estos resultados no fueron similares a los obtenidos en esta investigación (sesgo porcentual 33.95 % en el Método 4), pese a que reportaron un nivel de significancia estadística ($p < 0.001$), debido a que observaron una disminución en los niveles de bilirrubina total durante los primeros 3 días (22).

La diferencia con los resultados obtenidos por Cuhadar et al., pueden explicarse con lo reportado por Yoshihisa y Kiyoshi, donde tras realizar un proceso mucho más controlado por medio de equipos capaces de regular la temperatura con precisión, reportaron que la concentración de bilirrubina total se incrementó ligeramente durante los primeros días, estos autores al igual que nosotros tuvieron un especial cuidado para evitar la degradación de las moléculas por los rayos ultravioleta (UV), sin embargo, atribuyeron sus hallazgos reportados a que podía deberse al cambio molecular dependiente de la temperatura que sufre el analito (5).

Finalmente, la creatinina analizada presentó una variación de sesgo estadística significativa ($p < 0.001$) y una diferencia de sesgo porcentual, cuando fue almacenada a -20°C y descongelada por baño maría (Método 2).

En el Método 3, obtuvimos un sesgo de 0.02 mg/dL y un sesgo porcentual de 3.88%; y en el Método 4, obtuvimos un sesgo de 0.02 mg/dL y un sesgo porcentual de 3.88%; estos resultados no fueron similares a los obtenidos por Yauli et al., en

donde realizaron una descongelación de la misma forma que el Método 3, donde el sesgo que obtuvieron fue de 198.1 mg/dL y el sesgo porcentual de 17.20 %; además, tras descongelar de igual manera al Método 4, el sesgo que obtuvieron fue de 86.4 mg/dL y el sesgo porcentual fue de 2.30 %. Estos autores reportaron que la creatinina es mejor cuando se conserva a -20°C, además, tras almacenar las muestras durante un mes, se observó un ligero aumento en la concentración, pero solo se encontró significancia estadística ($p < 0.001$) más no una diferencia de sesgo porcentual (14).

Tampoco se comparte similitud con los resultados de Cuhadar et al, quienes descongelaron sus muestras de la misma forma que el Método 4, debido a que este analito presentó estabilidad en estas condiciones (22). Estos hallazgos revelan que, aunque la congelación es la condición óptima de almacenamiento, la descongelación también puede tener una repercusión significativa cuando las muestras se almacenan a ciertas temperaturas.

Al analizar las posibles explicaciones de las discrepancias encontradas en los diferentes parámetros estudiados, es importante considerar diversos factores que podrían influir en los resultados obtenidos. En relación con la glucosa, la disparidad observada puede atribuirse al coeficiente de variación del analizador, además, un estudio previo menciona que las concentraciones de glucosa, ácido úrico y creatinina muestran una propensión a aumentar con el tiempo; lo cual sugiere que este aumento en las concentraciones del analito probablemente sea atribuible a la evaporación de las muestras conservadas (14). En lo que respecta a la bilirrubina total, y la divergencia con los resultados reportados previamente, uno de los posibles factores puede ser relacionado con el CV% (22), asimismo, una

investigación anterior ha documentado un ligero aumento en la concentración total de bilirrubina durante los primeros días, pese a que utilizaron aparatos capaces de regular la temperatura con precisión (5). Estos investigadores, al igual que nuestro enfoque, actuaron con considerable cautela para evitar la degradación de las moléculas a causa de los rayos ultravioleta (UV), debido a una posible fotosensibilidad, pero atribuyeron sus hallazgos a las alteraciones moleculares dependientes de la temperatura que experimenta el analito (5). Estos resultados subrayan que, si bien la congelación representa la condición óptima de almacenamiento, el proceso de descongelación también puede ejercer un efecto significativo desde el punto de vista estadístico cuando las muestras se conservan a temperaturas específicas.

Nuestro presente estudio dispone de limitaciones. En primer lugar, los resultados obtenidos en esta investigación no son extrapolables a la población en general, debido a que estuvo enfocado en una población “aparentemente sana”, con la finalidad de evitar posibles alteraciones en los analitos que se evaluaron; además, las personas que participaron en esta investigación eran adultos jóvenes. En segundo lugar, los resultados obtenidos mediante el cuestionario pudieron verse alterados por el sesgo del recuerdo (26) o los participantes pudieron llegar a omitir información. En tercer lugar, la determinación de los analitos fue evaluada mediante el analizador VITROS® 350, cuyo principio es la reflectancia, por lo que es probable que estos resultados no sean reproducibles de manera exacta con otros sistemas analíticos; sin embargo, podrían determinar la tendencia de incremento o distribución. En cuarto lugar, el equipo empleado para almacenar las muestras de suero en congelación (-20°C) y refrigeración (4°C) fue por medio de un

congelador/refrigerador de alta calidad, donde se confirmó la estabilidad de la temperatura a través de un monitorio externo mediante unos termómetros digitales; sin embargo, también se pueden emplear equipos más sofisticados para controlar la temperatura de forma más precisa, equipos que posean pantallas visuales con sensores para el monitoreo detallado de las temperaturas. En quinto lugar, en esta investigación emplea una variable Proxy, donde se almacenaron las muestras a -20°C y 4°C , y se descongelaron por baño maría (37°C) y por atemperarlo (25°C), además, el tiempo de almacenamiento de las muestras fue de 48 horas, debido a las investigaciones que plantean que, si las muestras no son procesadas en un corto periodo de tiempo, estas deben de ser almacenadas en refrigeración a 4°C por este periodo de tiempo (14-18).

A pesar de las limitaciones expuestas, es crucial subrayar que estas no invalidan la contribución científica del presente estudio. En su lugar, estas consideraciones ofrecen un marco orientativo para el diseño y ejecución de investigaciones complementarias que profundicen en los aspectos aquí abordados.

Cabe precisar que, el tema a investigar constituye a un piloto o modelo de investigación debido a las limitaciones, pero se sugiere hacer futuros estudios que tengan en consideración diferentes condiciones de descongelamiento de las muestras, periodos más largos de congelación y considerar las muestras de pacientes no sanos, de esta manera se permitirá desarrollar estudios con más robustez, con resultados extrapolables y susceptibles a discusión de resultados en diversos contextos.

6. Conclusión:

- En relación al objetivo general propuesto en esta investigación, se encontró que el efecto de los diferentes métodos de descongelación fue manifestado mediante variaciones en sus valores promedios; además de reflejarse por medio de una diferencia estadísticamente significativa en el valor promedio de todos los analitos evaluados.
- En relación a la glucosa, se encontró una diferencia de sesgo porcentual descrita por Westgard, en todos los métodos descongelación (Método 1, Método 2, Método 3, Método 4) frente al basal.
- En relación a la creatinina, tras comparar los resultados obtenidos, se encontró una diferencia de sesgo porcentual descrita por Westgard, en las muestras que fueron almacenadas a -20°C y fueron descongeladas por el baño maría (Método 2).
- En relación al aspartato aminotransferasa, tras comparar los resultados obtenidos, no se encontró una diferencia de sesgo porcentual descrita por Westgard en los diferentes métodos de descongelación, pero se encontró que las muestras almacenadas a -20°C y descongeladas a temperatura ambiente (Método 4) mostraron un sesgo estadísticamente significativo.
- En relación al ácido úrico, tras comparar los resultados obtenidos, no se encontró una diferencia de sesgo porcentual descrita por Westgard, sin embargo, en todos los métodos descongelación (Método 1, Método 2, Método 3, Método 4) revelaron un sesgo estadísticamente significativo.

- En relación a la bilirrubina total, tras comparar los resultados obtenidos, se encontró una diferencia de sesgo porcentual descrita por Westgard, en todos los métodos descongelación (Método 1, Método 2, Método 3, Método 4).

7. Referencias Bibliográficas:

1. Nikolac N, Šupak Smolčić V, Šimundić A, Čelap I. Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine: national recommendations for venous blood sampling. *Biochem Med (Zagreb)*. 2013; 23(3):242–54. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24266294/>
2. Green S. The cost of poor blood specimen quality and errors in preanalytical processes. *Clin Biochem*. 2013; 46(13–14):1175–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.06.001>
3. Heins M, Heil W, Withold W. Storage of serum or whole blood samples? Effects of time and temperature on 22 serum analytes. *Clin Chem Lab Med*. 1995; 33(4):231–8. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7626695/>
4. Kachhawa K, et al. Study of the stability of various biochemical analytes in samples stored at different predefined storage conditions at an accredited laboratory of India. *J Lab Physicians*. 2017; 9(01):011–5. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28042210/>
5. Shimizu Y, Ichihara K. Elucidation of stability profiles of common chemistry analytes in serum stored at six graded temperatures. *Clin Chem Lab Med*. 2019; 57(9):1388–96. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30860975/>
6. Pawlik L, et al. The influence of serum sample storage conditions on selected laboratory parameters related to oxidative stress: A preliminary study. *Diagnostics (Basel)*. 2020; 10(1):51. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/diagnostics10010051>

7. Hedayati M, Razavi S, Boroomand S, Kheradmand K. The impact of pre-analytical variations on biochemical analytes stability: A systematic review. *J Clin Lab Anal.* 2020; 34(12). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32869910/>
8. Henriksen L, Faber N, Moller M, Nexø E, Hansen A. Stability of 35 biochemical and immunological routine tests after 10 hours storage and transport of human whole blood at 21°C. *Scand J Clin Lab Invest.* 2014; 74(7):603–10. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24988314/>
9. Gislefoss R, Lauritzen M, Langseth H, Mørkrid L. Effect of multiple freeze-thaw cycles on selected biochemical serum components. *Clin Chem Lab Med.* 2017; 55(7). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27987362/>
10. Gómez R, et al. A protocol for testing the stability of biochemical analytes. Technical document. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM).* 2019;57(12): 1829-1836.
11. Hubel A, Spindler R, Skubitz A. Storage of human biospecimens: Selection of the optimal storage temperature. *Biopreserv Biobank.* 2014; 12(3):165–75. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24918763/>
12. Rehak N, Chiang B. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem.* 1988; 34(10). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3168225/>
13. Ono T, Kitaguchi K, Takehara M, Shiiba M, Hayami K. Serum-constituents analyses: effect of duration and temperature of storage of clotted blood. *Clin*

- Chem. 1981; 27(1). Disponible en:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7449120/>
14. Yauli C, Hurtado M, Cevallos V, Saenz K. Sample management: stability of plasma and serum on different storage conditions. *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2020; 31 (1): 46-55.
15. Ministerio de Salud. Hospital Nacional Víctor Larco Herrera - Documento Técnico Manual de Toma de Muestra. Disponible en:
<https://larcoherrera.gob.pe/wp-content/uploads/2022/06/RD-086-2022-DG-HVLH-MINSA.pdf>
16. Ministerio de Salud (MINSA). Instituto Nacional de Salud - Manual de Procedimiento de Laboratorio para la Obtención y Envío de Muestras. Disponible en: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/2627.pdf>
17. Angeles M. Los biobancos en la era “Ómica”: Derivados hemáticos. 2014; 20 (1): 20-33. Disponible en:
https://www.biobancovasco.org/upload/LIBRO%20DERIVADOS%20HEMATICOS_CAP3.pdf
18. Elliott P, Peakman T. The UK Biobank sample handling and storage protocol for the collection, processing and archiving of human blood and urine. *Int J Epidemiol*. 2008; 37(2):234–44. Disponible en:
<https://academic.oup.com/ije/article/37/2/234/789028?login=false>
19. Head A, et al. Encuesta serológicas múltiples y bancos de la OMS para sueros de referencia. Ginebra: Organización Mundial de la Salud (OMS); 1969. Report No 454.

20. Vaught J, Lockhart N. The evolution of biobanking best practices. *Clin Chim Acta*. 2012; 413(19–20):1569–75. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2012.04.030>
21. Flores C, Hurtado A, Bonilla V, Sáenz F. Sample management: Stability of plasma and serum on different storage conditions. *EJIFCC*. 2020;31(1):46.
22. Cuhadar S, Koseoglu M, Atay A, Dirican A. The effect of storage time and freeze-thaw cycles on the stability of serum samples. *Biochem Med (Zagreb)*. 2013; 23(1):70–7. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23457767/>
23. Zander J, et al. Effect of biobanking conditions on short-term stability of biomarkers in human serum and plasma. *Clin Chem Lab Med*. 2014; 52(5). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1515/cclm-2013-0705>
24. Manterola C, Quiroz G, Salazar P, Garcia N. Metodología de los tipos y diseños de estudio más frecuentemente utilizados en investigación clínica. *Revista médica clínica las condes*. 2019;30(1):36-49.
25. Organización Mundial de la Salud. Ginebra; 1969-2023. Enfermedades no transmisibles. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>
26. Coughlin SS. Recall bias in epidemiologic studies. *J Clin Epidemiol*. 1990 Jan 1;43(1):87–91
27. Flood A, Pfeiffer R, Mai V, Remaley A, Lanza E, Schatzkin A, et al. The effects of freeze-thaw cycles on serum measurement of insulin and glucose in epidemiologic studies. *Ann Epidemiol*. 2002;12(7):528. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/s1047-2797\(02\)00391-5](http://dx.doi.org/10.1016/s1047-2797(02)00391-5)

28. Theodorsson E, Magnusson B, Leito I. Bias in clinical chemistry. *Bioanalysis* [Internet]. 2014 [citado el 9 de agosto de 2024];6(21):2855–75. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25486232/>
29. Coskun A. Bias in laboratory medicine: The dark side of the moon. *Ann Lab Med* [Internet]. 2024 [citado el 9 de agosto de 2024];44(1):6–20. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37665281/>
30. NCCLS. How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline - Second Edition. [Internet]. 2024 [citado el 5 de noviembre de 2024];20(1):5–32. Disponible en: <https://webstore.ansi.org/standards/clsi/c28a2>
31. Ricos C. Desirable Biological Variation Database specifications - Westgard [Internet]. Westgard.com. 2023 [citado el 5 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://westgard.com/clia-a-quality/quality-requirements/biodatabase1.html>

8. Tablas, gráficos y figuras:

Tabla 1. Análisis de los métodos de descongelación

Parámetros bioquímicos	Basal	Descongelamiento				p value
		Baño maría		Temperatura ambiente		
		4 °C	-20°C	4 °C	-20 °C	
Glucosa (mg/dL)	87.13 ± 7.47	91.46 ± 7.08	90.46 ± 7.48	91 ± 6.78	90.13 ± 7.30	<0.001
Creatinina (mg/dL)	0.64 ± 0.11	0.62 ± 0.10	0.61 ± 0.11	0.62 ± 0.11	0.62 ± 0.11	<0.001
Ácido úrico (mg/dL)	4.12 ± 0.97	4.21 ± 0.98	4.23 ± 0.99	4.26 ± 1	4.2 ± 0.97	<0.001
Aspartato aminotransferasa (UL)	25.13 ± 10.09	24.86 ± 10.43	24.93 ± 10.1	24.93 ± 10.38	24.46 ± 9.99	0.017
Bilirrubina total (mg/dl)	0.52 ± 0.25	0.63 ± 0.23	0.62 ± 0.22	0.62 ± 0.25	0.63 ± 0.21	<0.001

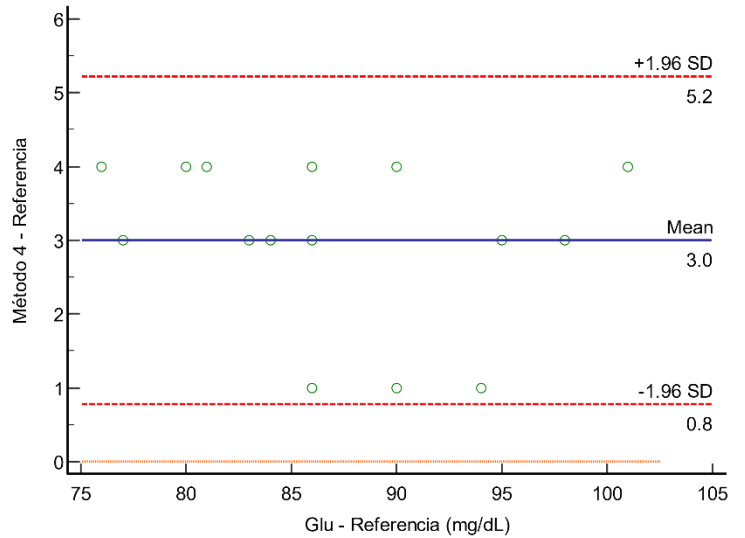
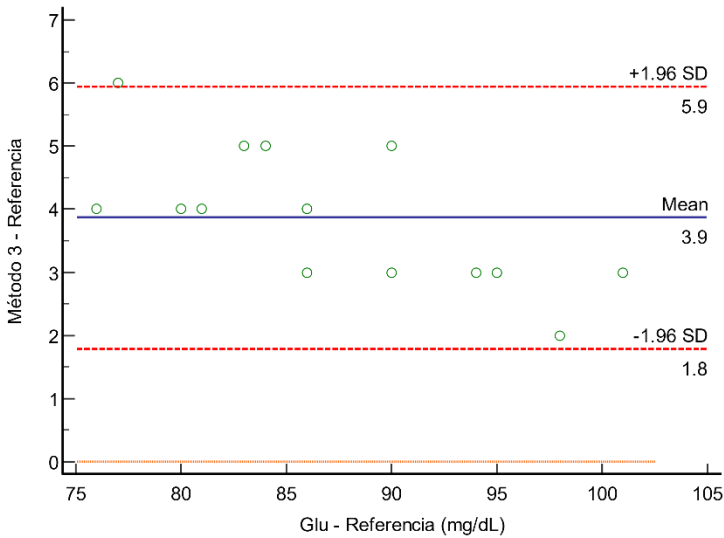
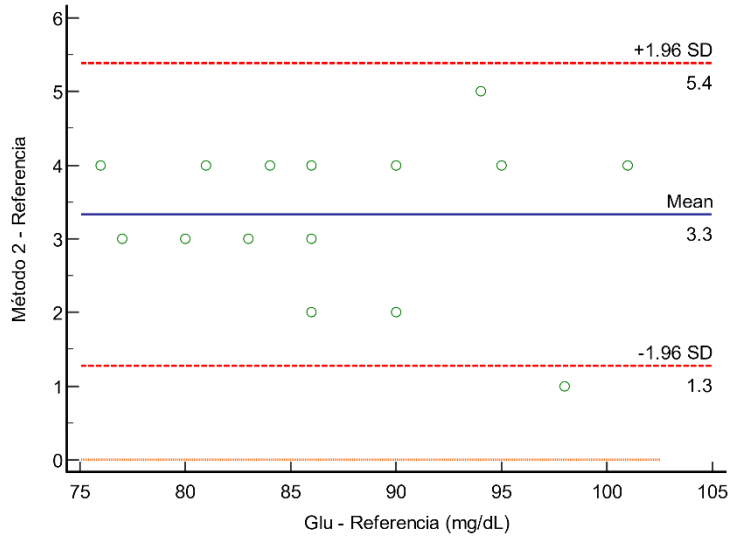
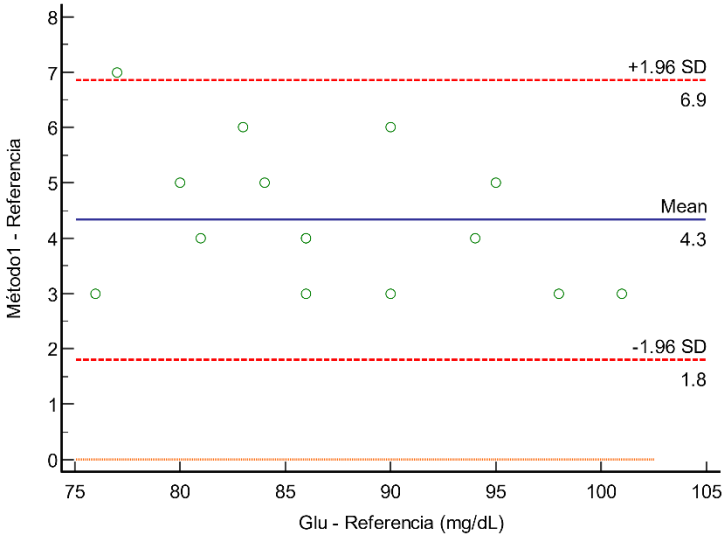
Tabla 2. Sesgo de los analitos evaluados

Parámetros bioquímicos	Método de descongelación	Temperatura	Sesgo	P value	Sesgo porcentual	B (%) Westgard
Glucosa (mg/dL)	Baño maría	4 °C	-4.33	<0.0001	5.04	2.34
		-20 °C	-3.33	<0.0001	3.85	
	Temperatura ambiente	4 °C	-3.86	<0.0001	4.53	
		-20 °C	-3	<0.0001	3.49	
Creatinina (mg/dL)	Baño maría	4 °C	0.02	0.004	3.57	3.96
		-20 °C	0.03	<0.001	5.11	
	Temperatura ambiente	4 °C	0.02	0.016	3.15	
		-20 °C	0.02	0.006	3.88	
Ácido úrico (mg/dL)	Baño maría	4 °C	-0.08	0.0001	2.15	4.9
		-20 °C	-0.10	0.0001	2.63	
	Temperatura ambiente	4 °C	-0.14	0.0004	3.41	
		-20 °C	-0.07	0.012	1.88	
AST (U/L)	Baño maría	4 °C	0.26	1.00	1.36	6.54
		-20 °C	0.20	1.00	0.79	
	Temperatura ambiente	4 °C	0.20	1.00	0.95	
		-20 °C	0.66	0.009	2.79	
Bilirrubina total (mg/dL)	Baño maría	4 °C	-0.11	<0.0001	31.89	8.95
		-20 °C	-0.10	0.0004	31.08	
	Temperatura ambiente	4 °C	-0.10	<0.0001	27.21	
		-20 °C	-0.11	0.0004	33.95	

* Se utilizó Anova de pruebas repetidas para grupo de variables dependientes

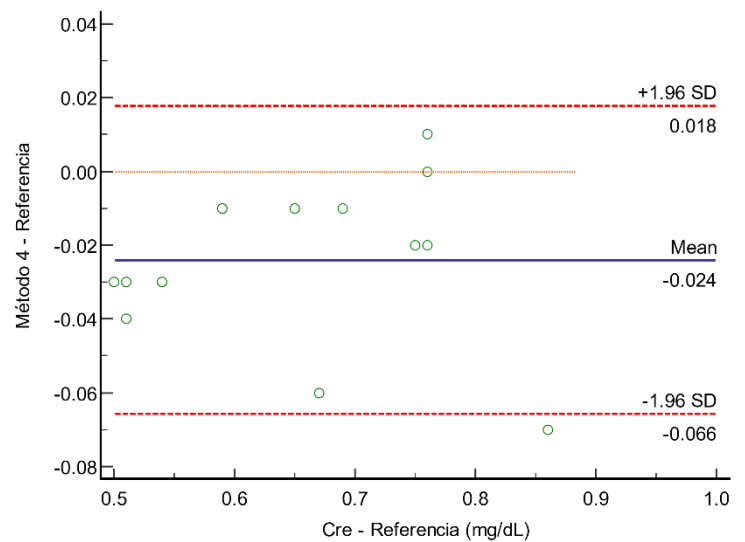
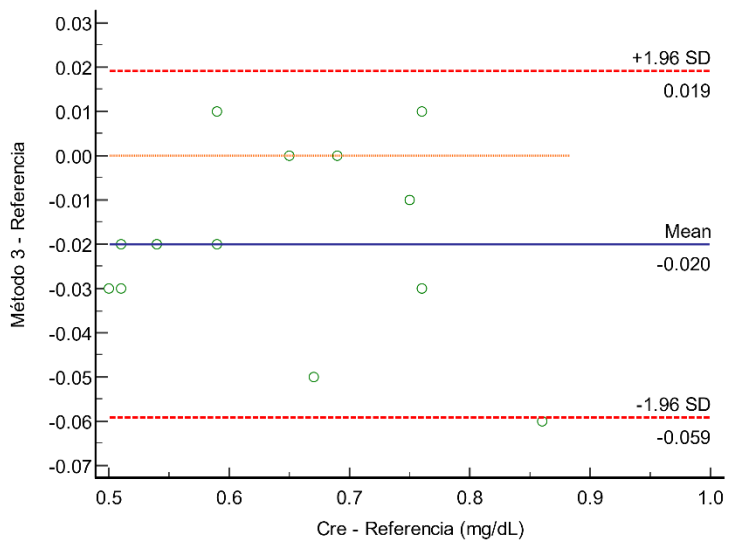
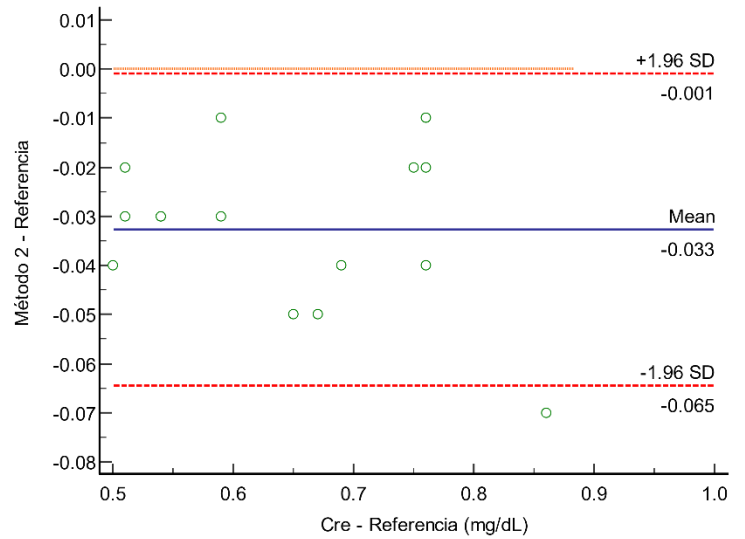
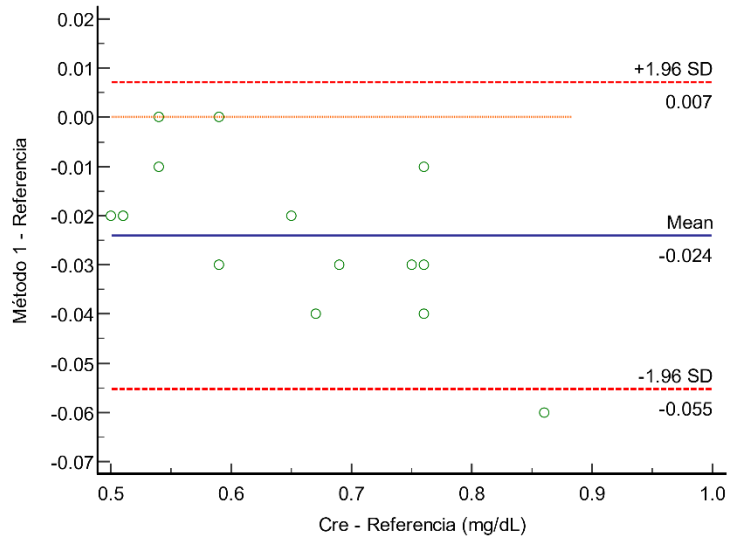
Figura 1. Gráficos de Bland-Altman de los analitos bioquímicos

Glucosa



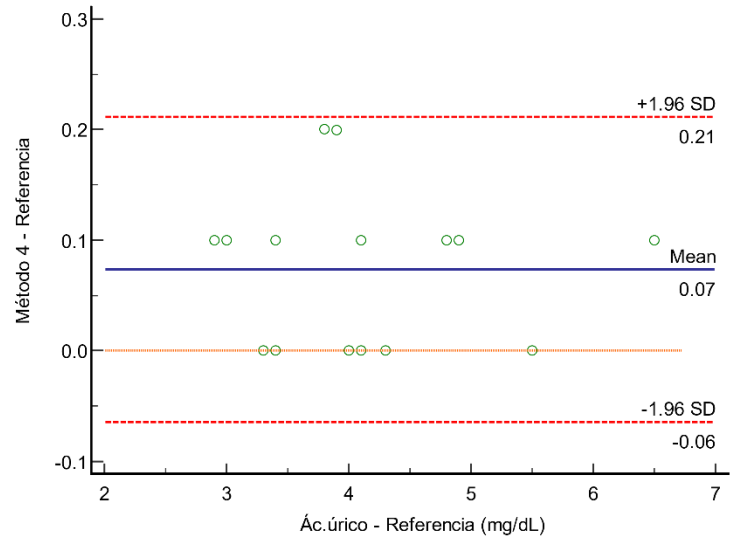
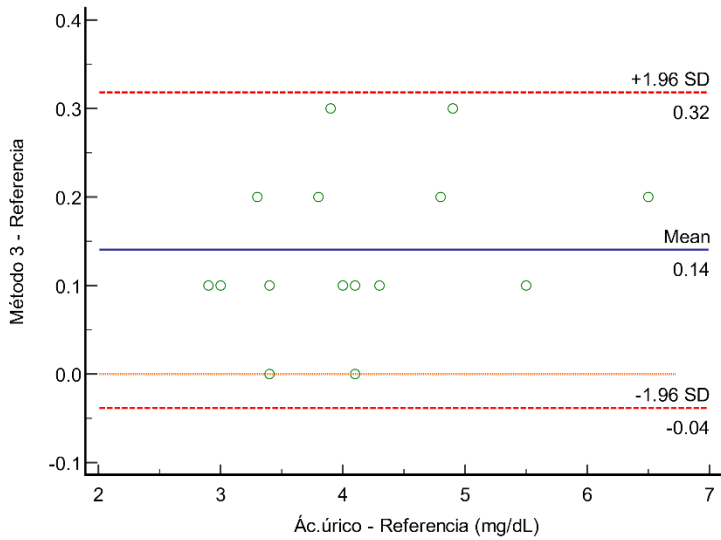
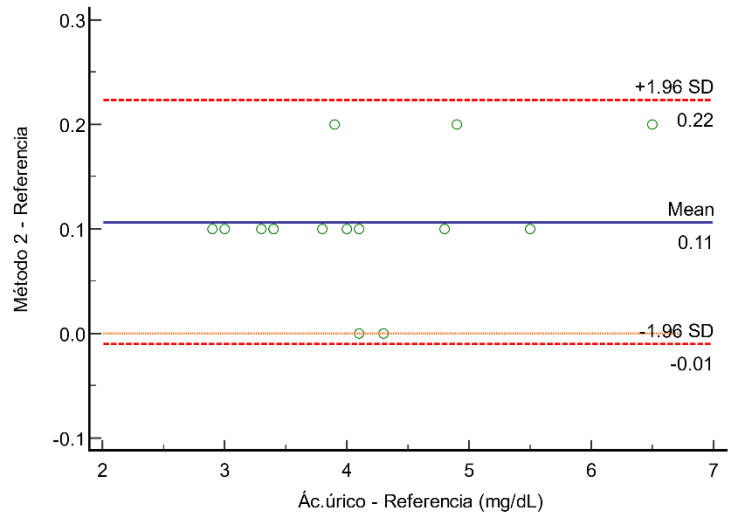
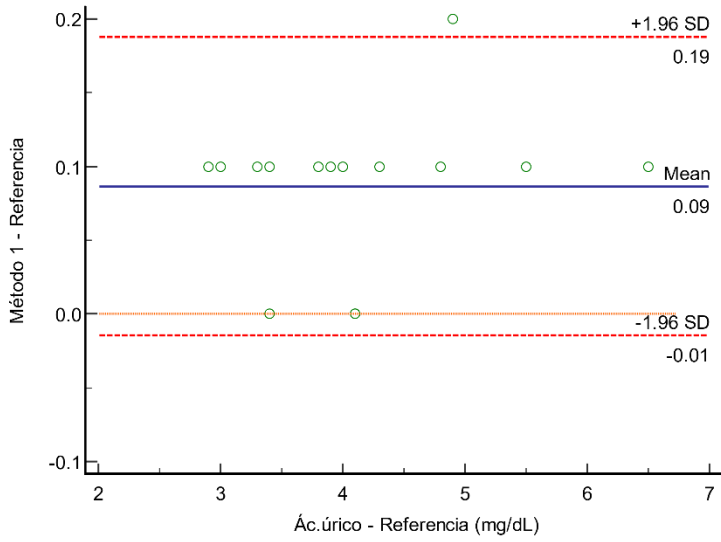
*“Método 1”: muestras almacenadas a 4°C que fueron llevadas a la temperatura de 37°C por medio del baño maría. “Método 2”: muestras almacenadas a -20°C que fueron descongeladas por baño maría (37°C). “Método 3”: muestras almacenadas a 4°C que fueron llevadas a la temperatura de 25°C. “Método 4”: muestras almacenadas a -20°C que fueron llevadas a la temperatura de 25°C.

Creatinina



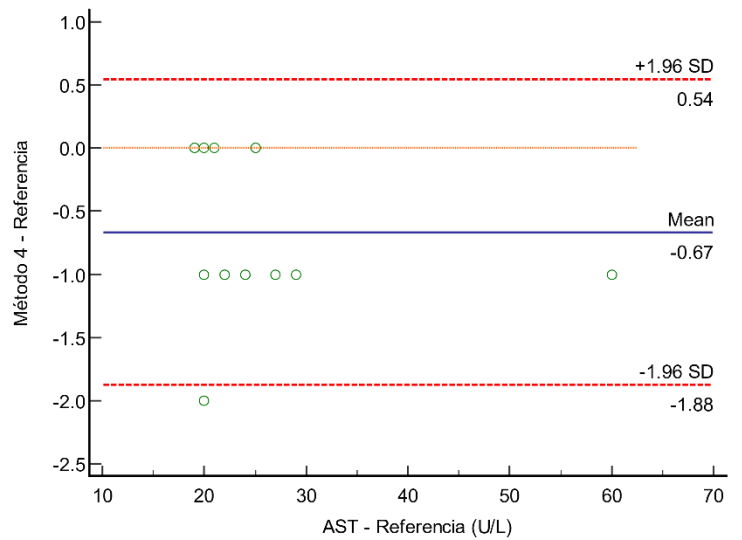
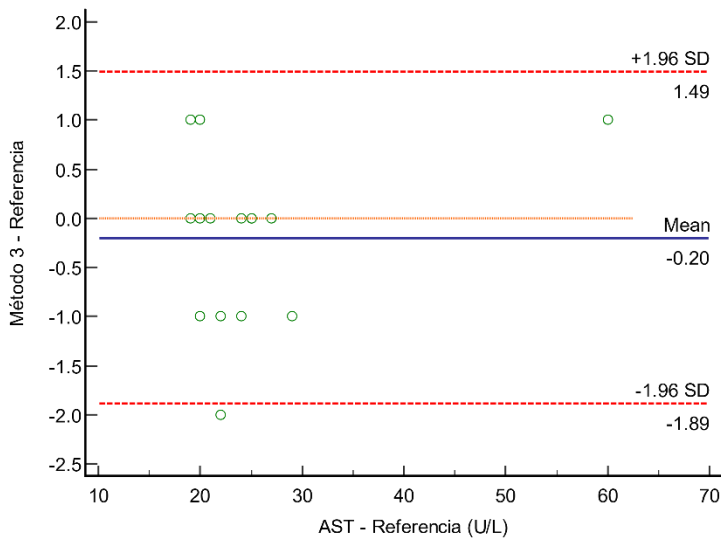
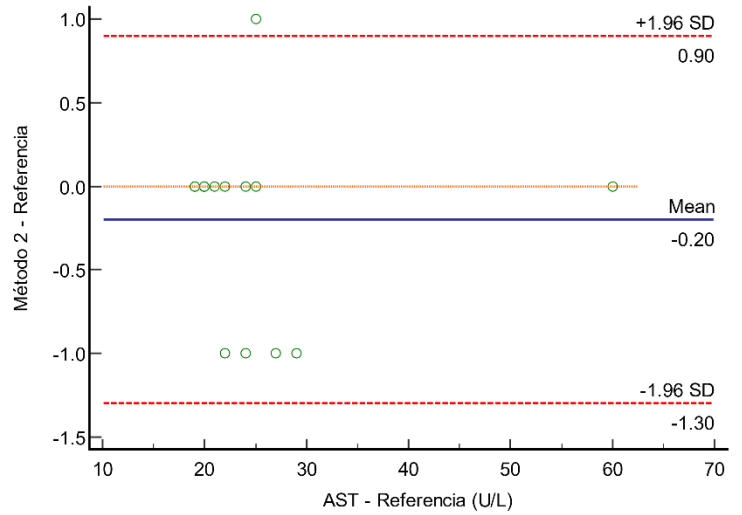
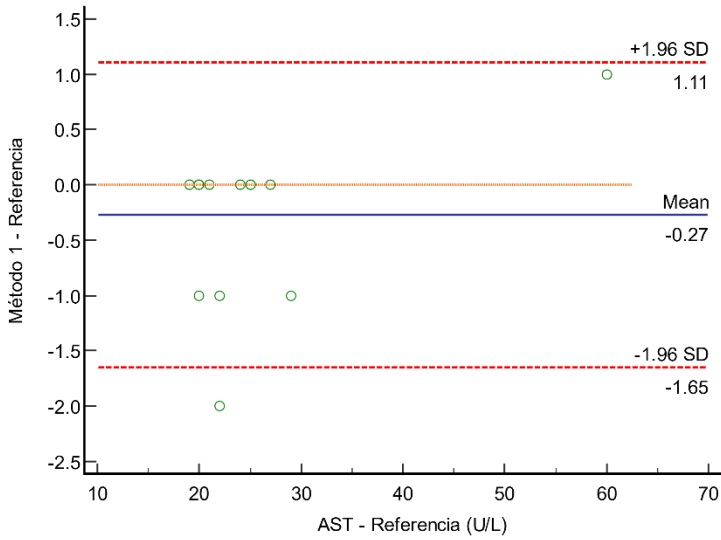
“Método 1”: muestras almacenadas a 4°C que fueron llevadas a la temperatura de 37°C por medio del baño maría. “Método 2”*: muestras almacenadas a -20°C que fueron descongeladas por baño maría (37°C). “Método 3”*: muestras almacenadas a 4°C que fueron llevadas a la temperatura de 25°C. “Método 4”*: muestras almacenadas a -20°C que fueron llevadas a la temperatura de 25°C.

Ácido úrico



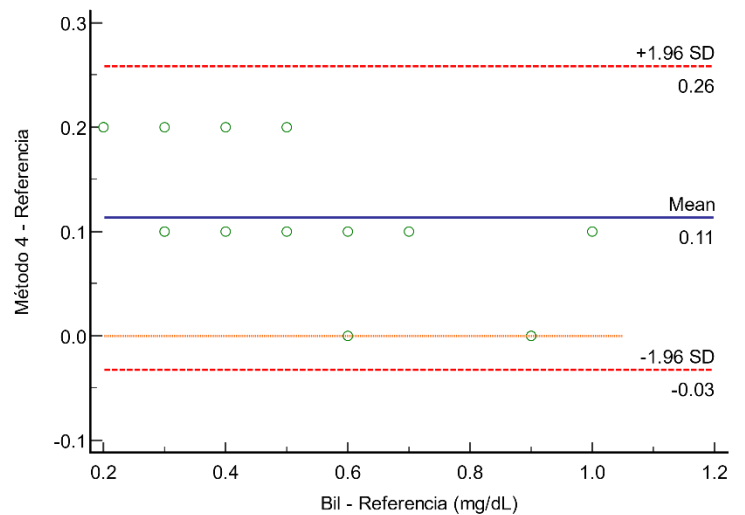
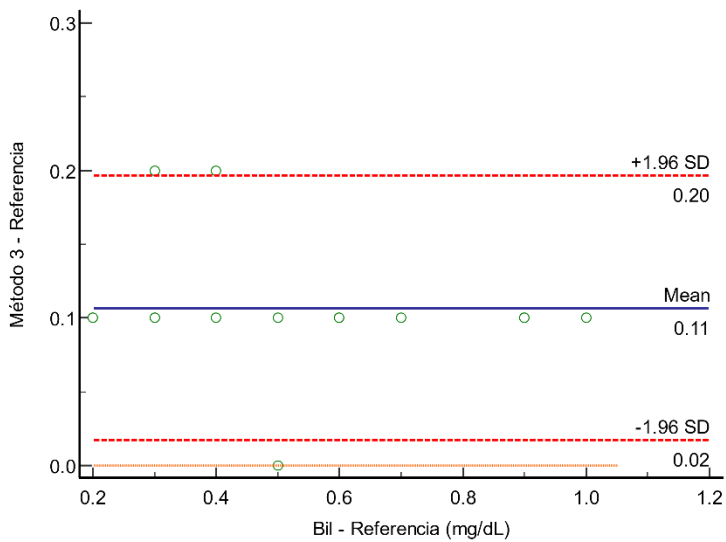
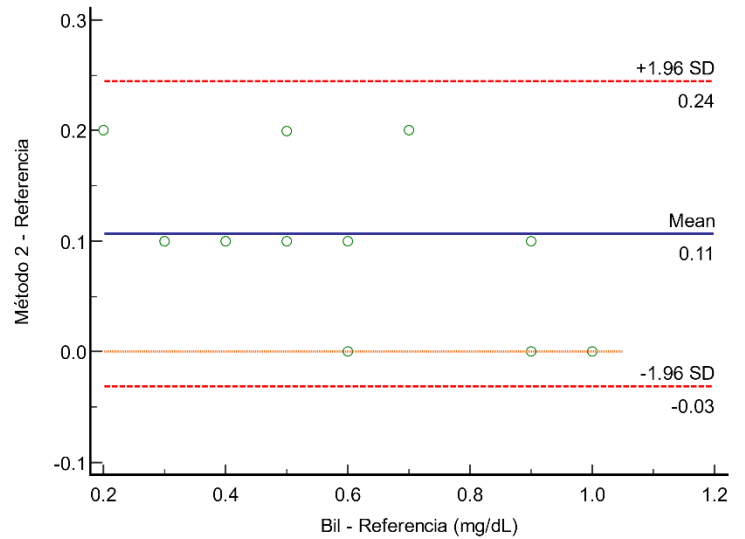
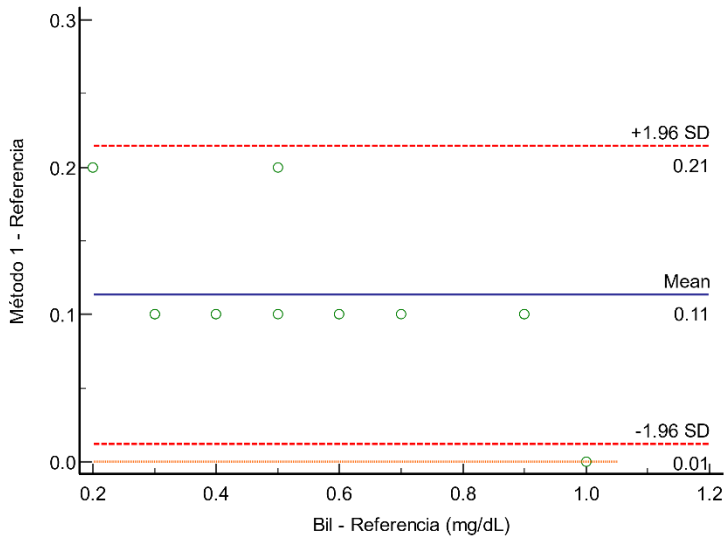
“Método 1”: muestras almacenadas a 4°C que fueron llevadas a la temperatura de 37°C por medio del baño maría. “Método 2”*: muestras almacenadas a -20°C que fueron descongeladas por baño maría (37°C). “Método 3”*: muestras almacenadas a 4°C que fueron llevadas a la temperatura de 25°C. “Método 4”*: muestras almacenadas a -20°C que fueron llevadas a la temperatura de 25°C.

Aspartato aminotransferasa



“Método 1”: muestras almacenadas a 4°C que fueron llevadas a la temperatura de 37°C por medio del baño maría. “Método 2”*: muestras almacenadas a -20°C que fueron descongeladas por baño maría (37°C). “Método 3”*: muestras almacenadas a 4°C que fueron llevadas a la temperatura de 25°C. “Método 4”*: muestras almacenadas a -20°C que fueron llevadas a la temperatura de 25°C.

Bilirrubina



“Método 1”: muestras almacenadas a 4°C que fueron llevadas a la temperatura de 37°C por medio del baño maría. “Método 2”*: muestras almacenadas a -20°C que fueron descongeladas por baño maría (37°C). “Método 3”*: muestras almacenadas a 4°C que fueron llevadas a la temperatura de 25°C. “Método 4”*: muestras almacenadas a -20°C que fueron llevadas a la temperatura de 25°C.

9. Anexos:

9.1. Anexo 1: Instrumento de verificación

Versión (1.0), (20/02/2023)



JENNY CRISTINA AYALA TORRES
CTP N.º 0436

Traductora Colegiada Certificada

TRADUCCIÓN CERTIFICADA N.º 0197-2021

Volumen 20

C28-A3

TODA LA INFORMACIÓN ES ESTRICTAMENTE CONFIDENCIAL. Y SE UTILIZA CUANDO SE DIAGNOSTICA UNA ENFERMEDAD ENTRE LOS MIEMBROS DE SU COMUNIDAD.

CÓDIGO: _____ TELÉFONO: _____

DIRECCIÓN: _____ DISTRITO: _____

CORREO ELECTRÓNICO: _____

EDAD: _____ (AÑOS) SEXO: (M) (F)

OCCUPACIÓN: _____

¿CONSIDERA USTED QUE ES UNA PERSONA SANA? (SI) (NO)

¿HACE USTED EJERCICIOS CON REGULARIDAD? (SI) (NO)
SI LA RESPUESTA ES "SI", ¿CON QUÉ FRECUENCIA? (HORAS POR SEMANA) _____
¿QUÉ NIVEL DE ACTIVIDAD? (LIGERA) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 (ENERGICA)

¿SE HA ENFERMADO USTED RECIENTEMENTE? (SI) (NO)
SI LA RESPUESTA ES "SI", ¿CUÁNDO? _____ ¿DE QUÉ SE ENFERMÓ? _____

¿ESTÁ TOMANDO USTED ALGÚN MEDICAMENTO CON RECETA? (SI) (NO)
SI LA RESPUESTA ES "SI", ¿CUÁL? _____

¿TIENE USTED PRESION ARTERIAL ALTA? (SI) (NO)

¿TOMA USTED SUPLEMENTOS VITAMÍNICOS? (SI) (NO)
SI LA RESPUESTA ES "SI", ¿CUÁL? _____

¿ESTA EXPUESTO USTED A ALGUNA SUSTANCIA QUÍMICA EN SU TRABAJO? (SI) (NO)
SI LA RESPUESTA ES "SI", ¿CUÁL? _____

¿CONSUME USTED TABACO? (SI) (NO)
SI LA RESPUESTA ES "SI", ¿DE QUÉ FORMA? _____ ¿CON QUÉ FRECUENCIA? _____

¿TIENE USTED UNA DIETA ESPECIAL? (SI) (NO)
SI LA RESPUESTA ES "SI", POR FAVOR DESCRIBALA: _____

Jenny Cristina Ayala Torres
CTP N.º 0436

¿CONSUME USTED BEBIDAS ALCOHÓLICAS?	(SÍ)	(NO)
SI LA RESPUESTA ES "SÍ", ¿DE QUÉ TIPO? _____		¿CON QUÉ FRECUENCIA?
¿ESTÁ USTED ACTUALMENTE RECIBIENDO ATENCIÓN MÉDICA?	(SÍ)	(NO)
SI LA RESPUESTA ES "SÍ", ¿POR QUÉ? _____		
¿HA ESTADO USTED HOSPITALIZADO RECIENTEMENTE?	(SÍ)	(NO)
SI LA RESPUESTA ES "SÍ", ¿POR QUÉ? _____		¿CUÁNDO? _____
¿HAY ALGÚN TRASTORNO HEREDITARIO EN SU FAMILIA?	(SÍ)	(NO)
SI LA RESPUESTA ES "SÍ", POR FAVOR DESCRIBALA: _____		
¿HA TOMADO USTED RECIENTEMENTE ASPIRINA O ALGÚN ANALGÉSICO?	(SÍ)	(NO)
SI LA RESPUESTA ES "SÍ", ¿CUÁL? _____		¿CUÁNDO? _____
¿HA TOMADO USTED RECIENTEMENTE ALGÚN MEDICAMENTO PARA EL RESFRÍADO O ALERGIAS?	(SÍ)	(NO)
SI LA RESPUESTA ES "SÍ", ¿CUÁL? _____		¿CUÁNDO? _____
¿HA TOMADO USTED RECIENTEMENTE ALGÚN ANTIÁCIDO O ALGÚN MEDICAMENTO PARA EL ESTÓMAGO?	(SÍ)	(NO)
SI LA RESPUESTA ES "SÍ", ¿CUÁL? _____		¿CUÁNDO? _____
¿ESTÁ TOMANDO USTED ALGUNA PASTILLA PARA BAJAR DE PESO?	(SÍ)	(NO)
PARA MUJERES:		
¿SIGUE USTED MENSTRUANDO?	(SÍ)	(NO)
SI LA RESPUESTA ES "SÍ", ¿CUÁNDO FUE SU ÚLTIMO PERIODO? _____		
SI LA RESPUESTA ES "NO", ¿ESTÁ RECIBIENDO USTED ALGUNA TERAPIA DE REEMPLAZO HORMONAL?	(SÍ)	(NO)
¿ESTÁ USTED DANDO DE LACTAR?	(SÍ)	(NO)
¿ESTÁ USTED EMBARAZADA?	(SÍ)	(NO)
SI LA RESPUESTA ES "SÍ", ¿CUÁNDO ES LA FECHA PROBABLE DE PARTO? _____		
¿ESTÁ USANDO USTED ANTICONCEPTIVOS ORALES O IMPLANTES ANTICONCEPTIVOS?	(SÍ)	(NO)

9.2. Anexo 2: Operacionalización de variables

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensión	Tipo de variable
Método de descongelación	Procedimiento mediante el cual se llevan las muestras congeladas (-20°C) o refrigeradas (4°C) a temperatura ambiente (25°C)	Proceso de transición térmica de muestras séricas que se encontraban congeladas (-20°C) y refrigeradas (4°C) hasta que alcanzaran el equilibrio térmico (25°C)	Descongelación por baño maría (37°C). Descongelación a temperatura ambiente (25°C)	Catórica en escala nominal
Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador	Tipo de variable
Glucosa	Principal carbohidrato	Nivel de glucosa en	Concentración de	Numérica en

	<p>circulante y fuente energética celular, esencial en procesos metabólicos</p>	<p>suero cuantificada mediante VITROS® 350 Chemistry Products GLU Slides</p>	<p>glucosa (mg/dL)</p>	<p>escala de razón</p>
<p>Creatinina</p>	<p>Compuesto nitrogenado cíclico resultante del catabolismo proteico muscular</p>	<p>Nivel de creatinina en suero cuantificada mediante VITROS® 350 Chemistry Products CREA Slides</p>	<p>Concentración de creatinina (mg/dL)</p>	<p>Numérica en escala de razón</p>
<p>Aspartato aminotransferasa</p>	<p>Enzima intracelular, que cataliza la transaminación entre aspartato y α-cetoglutarato, sirviendo como biomarcador de daño hepatocelular</p>	<p>Nivel de Aspartato aminotransferasa en suero cuantificada mediante VITROS® 350 Chemistry Products AST Slides</p>	<p>Concentración de aspartato aminotransferasa (U/L)</p>	<p>Numérica en escala de razón</p>
<p>Ácido úrico</p>	<p>Compuesto heterocíclico nitrogenado, resultado</p>	<p>Nivel de ácido úrico en suero cuantificada</p>	<p>Concentración de ácido úrico (mg/dL)</p>	<p>Numérica en escala de razón</p>

	del metabolismo de nucleótidos púricos, siendo biomarcador de función metabólica y renal	mediante VITROS® 350 Chemistry Products URIC Slides		
Bilirrubina total	Metabolito endógeno resultante de la descomposición de hemoproteínas, presente en circulación en estados libre y conjugado	Nivel de bilirrubina en suero cuantificada mediante VITROS® 350 Chemistry Products TBIL Slides	Concentración de bilirrubina total (mg/dL)	Numérica en escala de razón

9.3. Anexo 3: Consentimiento informado, asentimiento informado y/u hoja
informática

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN Versión (3.5), (07/09/2023)	
<i>Título del estudio:</i>	Efecto de la variación de analitos bioquímicos según el método de descongelación en muestras de suero
<i>Investigadores:</i>	Carla Xiomara Quiroz Diaz y Daniel Dave Llallire Almeida
<i>Instituciones:</i>	Universidad Peruana Cayetano Heredia

Propósito del estudio

Los estamos invitando a participar en este estudio para saber cuál es el efecto de la variación de analitos bioquímicos según el método de descongelación en muestras de suero. Este estudio ha sido desarrollado por investigadores de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

El objetivo de este estudio es conocer cuál es el efecto de la variación de algunas pruebas bioquímicas como la glucosa (niveles de azúcar en sangre), creatinina (sustancia producida por los músculos), aspartato amino transferasa (sustancia producida por el hígado), ácido úrico (sustancia de desecho producida por algunos órganos), bilirrubina total (sustancia producida por la destrucción de los glóbulos rojos) en base a la forma de descongelación utilizada, ya que no se tiene información al respecto sobre la variación, esta información podrá ser de utilidad para los laboratorios convencionales y para aquellos laboratorios que cuenten con una seroteca (laboratorios donde se almacena el suero obtenido de la sangre).

La información que le estamos proporcionando le permitirá decidir de manera informada si desea participar o no.

Procedimientos:

Luego de leer detenidamente el consentimiento informado y si usted decide participar en este estudio, se realizará lo siguiente:

1. Se realizará un cuestionario que contiene entre 21 a 39 preguntas, en donde se le preguntará sobre su estado actual de salud.
2. Este cuestionario tiene una duración de 10-15 minutos y tras determinar que es una persona aparentemente sana, se le indicará qué día tiene que aproximarse al laboratorio.
3. El día de su cita, 12 horas antes no debe ingerir alimentos, en el área de toma de muestra se le tomará dos tubos amarillos de 5 ml.
4. Estos tubos serán rotulados con códigos en vez de su nombre.
5. Terminado el proceso se le agradecerá por su participación y sus resultados serán enviados por mensaje.

Riesgos

El proceso de extracción de muestra es ligeramente doloroso y existen algunos riesgos mínimos que pueden ser: Abscesos (exposición de gérmenes debido a una mala higiene en la zona de la extracción); flebitis (inflamación de la vena a causa de un golpe) o hematoma (la formación de un pequeño moretón). De presentarse alguna complicación en la zona de toma de muestra, se le brindará una atención médica, orientación y seguimiento en caso necesite algún tratamiento. En caso de que algún resultado de una prueba presente valores anormales se le comunicará al momento del envío de sus resultados por medio del correo electrónico.

Beneficios

Se les hará envío del resultado de sus pruebas realizadas por correo electrónico.

Costos y compensación

Los costos de todos los exámenes serán cubiertos por el estudio y no ocasionarán gasto alguno. No deberá pagar nada por participar en el estudio.

Confidencialidad

Le podemos garantizar que la información que usted brinde es absolutamente confidencial y anónima, debido a que se utilizarán códigos en vez de su nombre.

Teniendo en cuenta que sólo nosotros tendremos acceso a la información de los participantes. Si los resultados de este seguimiento son publicados, no se mostrará ninguna información que identifique y perjudique a los participantes del estudio.

Uso futuro de información

No se almacenarán los datos obtenidos en esta investigación.

Uso futuro de muestras

No se almacenará ninguna muestra obtenida de este estudio y terminado el estudio las muestras sanguíneas serán descartadas mediante los procesos estándares del laboratorio.

Derechos del participante:

Si decide participar en el estudio, puede retirarse de este en cualquier momento, sin daño o repercusión alguna. Si tiene alguna duda adicional, por favor pregunte al personal del estudio o llame a *Quiroz Diaz Carla Xiomara*, a los teléfonos correspondientes: [REDACTED] o [REDACTED].

Si tiene preguntas sobre los aspectos éticos del estudio, o cree que ha sido tratado injustamente puede contactar al Dr. Manuel Pérez Martinot, presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación de la Universidad Peruana Cayetano Heredia al teléfono 01-3190000 anexo 201355 o al correo electrónico: orvei.ciei@oficinas-upch.pe

Asimismo, puede ingresar a este enlace para comunicarse con el Comité Institucional de Ética en Investigación UPCH: <https://investigacion.cayetano.edu.pe/etica/ciei/consultasquejas>

Una copia de este consentimiento informado le será entregada.

Cordialmente,

Carla Xiomara Quiroz Diaz

Daniel Dave Llallire Almeida

DECLARACIÓN Y/O CONSENTIMIENTO

Acepto voluntariamente participar en este estudio, comprendo las actividades en las que participaré si decido ingresar al estudio, también entiendo que puedo decidir no participar y que puedo retirarme del estudio en cualquier momento.

_____	_____	_____
Nombres y Apellidos	Firma	Fecha y
Participante		Hora

_____	_____	_____
Nombres y Apellidos	Firma	Fecha y
Investigador	a	Hora

9.4. Anexo 4: Control de calidad del laboratorio

Coefficiente de variación del 21/08 al 17/09

Parámetros	Nivel 1	Nivel 2
Glucosa (n =24)	2.5%	2.18%
Ácido úrico (n =23)	2.58%	2.72%
Aspartato aminotransferasa (n =23)	2.76%	2.64%
Bilirrubina total (n =23)	4.03%	4.05%
Creatinina (n =23)	4.04%	2.73%

Intervalos de referencia del laboratorio

Analito	Intervalo
Glucosa	70 – 110 mg/dL
Ácido úrico	0.70 – 1.20 mg/dL
Aspartato aminotransferasa	17 - 59 U/L
Bilirrubina total	2.5 – 7.0 mg/dL
Creatinina	0.2 – 1.3 mg/dL



9.5. Anexo 5: Permiso del laboratorio

**Declaración del Jefe del Área Operativa
en la que se llevará a cabo el estudio**

Certifico que mi unidad operativa ha tomado conocimiento de este proyecto según nuestros procedimientos internos, y nos comprometemos a canalizarlo y apoyar las gestiones que fueran necesarias dentro de las normas vigentes, dentro de la ley y de las normas nacionales e internacionales para la realización de proyectos de investigación.

Certifico además, que el investigador principal y sus colaboradores tienen la competencia necesaria para su realización

(Podrá incluirse tantas unidades operativas como fuera necesario, un formulario por cada una)

Nombre del Jefe de la Unidad Operativa:	Marco A. Gallardo Raymundo
Nombre de la Unidad Operativa:	Laboratorio Solulab
Firma y sello:   Marco Antonio Gallardo Raymundo Asesor Comercial	Fecha: 10/05/2023

9.6. Anexo 6: Constancia de Comité de Ética



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

CONSTANCIA-CIEI-346-32-23

El Presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación (CIEI) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia hace constar que el proyecto de investigación señalado a continuación fue **APROBADO** por el Comité Institucional de Ética en Investigación, bajo la categoría de revisión **EXPEDITA**.

Título del Proyecto : "Efecto de diferentes métodos de descongelación sobre determinados parámetros bioquímicos en muestras de suero"

Código de inscripción : 210883

Investigador(a) principal(es) : Quiroz Díaz, Carla Xiomara
Llallire Almeida, Daniel Dave

La aprobación incluyó los documentos finales descritos a continuación:

1. Protocolo de investigación, versión 4.5 de fecha 10 de agosto del 2023.
2. Consentimiento informado, versión 3.5 de fecha 10 de agosto del 2023.

La **APROBACIÓN** considera el cumplimiento de los estándares de la Universidad, los lineamientos Científicos y éticos, el balance riesgo/beneficio, la calificación del equipo investigador y la confidencialidad de los datos, entre otros.

Cualquier enmienda, desviaciones, eventualidad deberá ser reportada de acuerdo a los plazos y normas establecidas. El investigador reportará cada seis meses el progreso del estudio y alcanzará un informe al término de éste. La aprobación tiene vigencia desde la emisión del presente documento hasta el 13 de agosto del 2024.

El presente proyecto de investigación sólo podrá iniciarse después de haber obtenido la(s) autorización(es) de la(s) institución(es) donde se ejecutará.

Si aplica, los trámites para su renovación deberán iniciarse por lo menos 30 días previos a su vencimiento.

Lima, 14 de agosto de 2023.



Dr. Manuel Raúl Pérez Martínot
Presidente
Comité Institucional de Ética en Investigación

/m

Av. Honorio Delgado 430
San Martín de Porres
Apartado Postal 4314
219 0000 Anexo 201265
ciei@cieh.upch.pe
cayetano.edu.pe

Comité Institucional de
Ética en Investigación