

TRABAJO FINAL DE GRADO

EVALUACIÓN DE LAS CONDICIONES DE REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD EN LA PRODUCCIÓN DE DISCOS DE ANTIBIÓTICOS ELABORADOS POR LOS LABORATORIOS EMES C.A. Y MLAB C.A.

Presentado ante la Ilustre
Universidad Central de Venezuela
por los Bachilleres
Campos Varela Hiralay Coromoto y
Sande Cladera Carlos Daniel
Para optar al Título de
Ingeniero de Procesos Industriales.

Cagua, octubre de 2018.

TRABAJO FINAL DE GRADO

EVALUACIÓN DE LAS CONDICIONES DE REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD EN LA PRODUCCIÓN DE DISCOS DE ANTIBIÓTICOS ELABORADOS POR LOS LABORATORIOS EMES C.A. Y MLAB C.A.

Tutor Académico: Ing. M. Sc. Luis Alexander Díaz M.

Tutor Industrial: Lic. María Isabel Cladera N.

Autores:

-Campos Varela, Hiralay Coromoto

-Sande Cladera, Carlos Daniel

Cagua, octubre de 2018.

ACTA DE APROBACIÓN

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador designado por el Consejo de Escuela de Ingeniería de Procesos Industriales, Facultad de Ingeniería de la Universidad Central de Venezuela, para evaluar el Trabajo Final de Grado presentado por los bachilleres Hiraly Coromoto Campos Varela C.I.: 23.793.509 y Carlos Daniel Sande Cladera C.I.: 21.370.010, titulado **Evaluación de las condiciones de Repetibilidad y Reproducibilidad en la producción de discos de antibióticos elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.** consideran que el mismo cumple con los requisitos exigidos por el plan de estudio conducente al Título de Ingeniero de Procesos Industriales, sin que ello signifique que se hacen solidarios con las ideas expuestas por los autores, por lo que lo declaran dicho trabajo **APROBADO**.

Adicional a lo antes expuesto, el jurado evaluador de manera unánime concedió **Mención Honorífica** al Trabajo Final de Grado, dada la integralidad del conocimiento empleado en las áreas de Ingeniería de Procesos Industriales, biotecnologías, bioanálisis, control de calidad, control estadístico de procesos y metrología; además de la integridad y la forma en la cual se presentó la información en la investigación.

Acta firmada en Cagua, estado Aragua, a los dieciocho (18) días, del mes de octubre de 2018.

Prof^a. Isabel Elena Díaz M.
C.I.: 3.752.495
Jurado Principal

Prof^a. Bianca Mariell Díaz R.
C.I.: 16.850.688
Jurado Principal

Prof. Luis Alexander Díaz M.
C.I.: 14.730.037
Tutor Académico / Coordinador del Jurado

lad/oct. 2018

DEDICATORIA

A ti mi Dios, porque mi vida es para ti, que tu luz siempre me guíe y me acompañe en cada sueño y en cada batalla. Gracias infinitas por todo lo que me das.

Por ser mi base, por jamás soltar mi mano, por siempre creer en mí, porque mi mayor regalo es tenerlos. A mis padres Hipólito Campos y Doraima Varela, son mi motor y mi guía, mi ejemplo de esfuerzo y amor, con ustedes me siento invencible. Gracias por acompañarme cada día, cada madrugada, cada risa y cada lágrima, los amo con todo mi corazón, papitos ¡Soy Ingeniera!.

A mis hermanos Doraly y Rafael, porque soy millonaria al tenerlos, en la distancia o cerca, siempre estamos juntos, por su apoyo y sus risas, por cuidarme siempre. No me imagino la vida sin ustedes.

A mi princesa Dorianny, tú eres mis ganas de seguir, llegar cansada de la universidad se volvía nada cuando tú me recibías. Los amo, son mi vida.

A mi familia, porque no nos dejamos caer, porque siempre estamos juntos, porque con su apoyo todo se puede. Somos invencibles Familia Varela.

A mis abuelas Hilda y María, mi felicidad es verlas sonreír y a mis abuelos que me cuidan desde el cielo, Rafael y Doroteo, han estado conmigo en cada paso. Los amo.

A Carlos Daniel Sande, por acompañarme en cada paso y alegrar cada uno de ellos, por ser mí increíble compañero, porque hacer este trabajo sola hubiese genial, pero contigo ha sido extraordinario. Que sean más éxitos a tu lado.

A la familia Sande Cladera, por recibirme como una más de ustedes, la vida no me alcanzará para agradecerles.

Y a las personas que me acompañaron en cada paso, cada día, mi buen y también mal humor, por seguir a mi lado, por lograrlo juntos. Mis amigos Daniel, María, Verónica, Baldassare, Andrés, Javier y a todos, porque soy bendecida al tenerlos, gracias por cada risa en estos pasillos.

*Un día soñaba con estar sentada y escribir estas líneas, hoy lo logré. **Los Sueños sí se cumplen.***

Hiraly C. Campos V.

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi compañía en las buenas y las malas, por ofrecerme siempre su bendición y la oportunidad de poder recorrer un buen camino lleno de prosperidad y salud.

A mis padres Juan Carlos Sande y María Isabel Cladera, por su apoyo incondicional y su continuo empuje para poder ser la persona que hoy en día soy, infinitas gracias ¡Los amo!

A mi hermano José Rafael Sande, por ser mi compañero de aventuras, por todas las experiencias que día a día vivimos y todo el apoyo que me brindas.

A mis familiares, por ser parte fundamental de mi vida, cuidarme y acompañarme en mi crecimiento personal.

A mis compañeros y amigos que compartieron momentos memorables conmigo, estaré siempre agradecido por la oportunidad de convivir tantas experiencias junto a ustedes. En especial a Alfredo, Nicola y Pablo. ¡Los aprecio, muchos éxitos!.

Por supuesto a mi compañera de tesis y mi pareja Hiraly Campos, por su paciencia, su amor y sobre todo por ser parte de mi vida. *Gracias a ti soy mejor persona cada día.*

¡Infinitas gracias a todos por ser parte de mi vida!.

Carlos Daniel Sande C.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por bendecirnos, guiarnos en cada paso y en cada decisión en el desarrollo de este trabajo. Que este y todos los éxitos venideros sean para su gloria.

A nuestros padres Hipólito, Doraima, María Isabel y Juan Carlos, por su esfuerzo, amor y compromiso. Sin ustedes nada de esto sería posible, los amamos.

A la Universidad Central de Venezuela “La Casa que Vence La Sombra” donde día a día luchamos por un mejor futuro. Por la oportunidad de desarrollarnos como profesionales en sus aulas. El orgullo de ser UCVistas no cabe en el pecho, Gracias a nuestra amada ¡U, U, UCV!.

A los Laboratorios Clínicos EMES C.A. y MLAB C.A. por la oportunidad y la experiencia de desarrollar nuestro trabajo de grado en sus instalaciones y a su personal por tanto apoyo.

A Luis Alexander Díaz, nuestro tutor académico, compañero y amigo, el cual nos guió en el desarrollo de este trabajo. No existen límites para agradecer toda su dedicación, esfuerzo y compromiso. Por esos “*jalones de oreja*” que nos impulsaron siempre a seguir adelante sobre todos los obstáculos que se presentaron, siempre con mucho amor. ¿Verdad?. ¡Te Queremos!.

A nuestro jurado evaluador, Profesoras Isabel Elena Díaz y Bianca Mariell Díaz, por el compromiso, dedicación, el apoyo y la excelencia. También a la profesora Dhoryvel Cabrera, por sus excelentes aportes y sugerencias al trabajo. Tenerlas acompañándonos en este proceso final de formación académica fue todo un honor.

A los profesores del núcleo “Armando Mendoza”, por cada aporte a nuestra carrera profesional, por las lecciones, por los regaños y por el cariño. Por seguir en pie de lucha ante las adversidades y por mantener la excelencia bajo cualquier escenario. Hoy les damos gracias, su trabajo es memorable.

Dicen que la vida es más bonita con familia y amigos, a ustedes, porque nada de esto tendría sentido si no estuvieran para compartirlo, a todo el que aún sin saberlo aportó a lo largo de nuestro trabajo y nuestra carrera una sonrisa o una palabra de aliento. ¡Gracias!.

A ti, por acompañarme en este camino, lo logramos juntos **¡Somos ingenieros!**.

Hiraly Campos & Carlos Sande

Hiraly Coromoto Campos Varela, Carlos Daniel Sande Cladera
EVALUACIÓN DE LAS CONDICIONES DE REPETIBILIDAD Y
REPRODUCIBILIDAD EN LA PRODUCCIÓN DE DISCOS DE
ANTIBIÓTICOS ELABORADOS POR LOS LABORATORIOS EMES C.A. Y
MLAB C.A.

Tutor Académico: Ing. M. Sc. Luis Alexander Díaz. Tutor Industrial: Lic. María Cladera.
Trabajo Final de Grado. Cagua. U.C.V Facultad de Ingeniería. Escuela de Procesos
Industriales. Año 2018, 72 páginas.

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar las condiciones de repetibilidad y reproducibilidad en la producción de discos de antibióticos elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A. Dicho estudio se enmarcó en una investigación de tipo evaluativa y explicativa, desarrollada bajo la modalidad experimental. Para ello, se cuantificaron los resultados de las condiciones de repetibilidad y reproducibilidad, bajo un experimento colaborativo de evaluación, tal y como lo establece la norma COVENIN 2972-2:1997. Para ello, se identificó el método de elaboración de los discos de antibióticos, determinando seis fases significativas en su proceso, tanto para la producción de los discos como la elaboración de los antibiogramas fue preciso el cumplimiento de las normas de higiene y seguridad de los laboratorios clínicos. La unidad de análisis, estuvo dada por el proceso de elaboración de los discos, mientras que la población fue la cantidad de pruebas de antibiograma para el examen de los discos realizados en cada organización, siendo estos 48 antibiogramas. El procedimiento estadístico se realizó cabalmente como lo indica la norma COVENIN 2972-2:1997, para lo cual se aplicó el cuestionario de ensayo interlaboratorio, luego se midieron y tabularon los datos originales, se realizaron comparaciones de las medias y de la dispersión intracelda, se desarrolló la prueba de Grubb, los gráficos h y k de Mandel, también se realizó la prueba de Bisel Derek, y finalmente se calculó la repetibilidad y reproducibilidad como lo indicado en la norma y también por el método de medias y rango. De acuerdo con los resultados, se determinó la inexistencia de datos atípicos, mientras que la prueba Grubb permitió discernir que no hubo presencia de valores dudosos y atípicos individuales, ni en media de celda. Por su parte, los gráficos de h y k de Mandel, indicaron que los laboratorios no exhibieron patrones de resultados consistentes con el análisis de la varianza, en donde se logró determinar a un nivel de confianza del 95%, que no existen diferencias significativas entre operarios y laboratorios (p valor de 0,701 y 0,586, respectivamente). Finalmente, de acuerdo con la norma COVENIN 2972- 2: 1997, se puede indicar que el sistema de medición fue veraz y preciso, de acuerdo con el uso, aplicación, y el mantenimiento de los equipos empleados para el desarrollo de los análisis de laboratorio, en donde se obtuvo un valor de repetibilidad y reproducibilidad de 11,39% (por la norma) y de 27,03% (método de medias y rango), el cual puede ser considerado aceptable de acuerdo con el criterio establecido por la norma referencial y por las referencias bibliográficas especializadas.

Palabras claves: antibiograma; norma COVENIN 2972-2:1997, laboratorio clínico, repetibilidad, reproducibilidad.

EVALUATION OF THE REPEATABILITY AND REPRODUCIBILITY CONDITIONS IN THE PRODUCTION OF ANTIBIOTIC DISCS MADE BY LABORATORIES EMES C.A. AND MLAB C.A.

ABSTRACT

The objective of the present investigation was to evaluate the conditions of repeatability and reproducibility in the production of antibiotic discs produced by EMES C.A. and MLAB C.A. This study was realized in a type of evaluative and exploratory research, developed under the experimental modality. For this, the results of the repeatability and reproducibility conditions were quantified, a collaborative evaluation experiment, as established by the norm COVENIN 2972-2: 1997. To do this, the method of elaborating the antibiotic discs was identified, determining six significant phases in their process, both for the production of the discs and the preparation of the antibiograms; it was necessary to comply with the hygiene and safety standards of the laboratories. The unit of analysis was given by the process of making the disks, while the population was the number of antibiogram tests for the examination of the discs made in the organizations, these 48 antibiograms being. The statistical procedure was carried out as indicated in the norm COVENIN 2972-2: 1997, was applied the interlaboratory test questionnaire, then the original data were measured and tabulated, comparisons of the means and the intracell dispersion were made, the Grubb test was developed, the graphics h y k of Mandel, the test Bisele Derek was also performed, and finally the repeatability and reproducibility were calculated as indicated in the norm and by the means and range method. According to the results, the non-existence of atypical data was determined, while the Grubb test allowed discerning that there was no presence of individual atypical and doubtful values, nor in the cell average. The graphs h y k of Mandel indicated that the laboratories did not exhibit patterns of results consistent with the test Bisele Derek, where it was possible to determine at a 95% confidence level, that there are no significant differences between operators and laboratories (p value of 0.701 and 0.586, respectively). Finally, according to the norm COVENIN 2972-2: 1997, it can be indicated that the measurement system was accurate and accurate, in accordance with the use, application, and maintenance of the equipment used for the development of laboratory analyzes. Where a repeatability and reproducibility value of 11.39% (by the norm) and 27.03% (method of means and range) was obtained, which can be considered acceptable according to the criterion established by the norm reference and specialized bibliographic references.

Key words: antibiogram, COVENIN norm 2972-2:1997, clinical laboratory, repeatability, reproducibility.

ÍNDICE

PORTADA	i
COPORTADA	ii
ACTA DE APROBACIÓN	iii
DEDICATORIA	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTOS	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
ÍNDICE GENERAL	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	3
1. EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.1. Planteamiento del problema	3
1.2. Objetivos de la investigación	7
1.2.1. General	7
1.2.2. Específicos	7
CAPÍTULO II	8
2. MARCO DE REFERENCIA	8
2.1. Antecedentes	8
2.2. Bases teóricas	10
CAPÍTULO III	30
3. MARCO METODOLÓGICO	30
3.1. Tipo de Investigación	30
3.2. Nivel de la investigación	31
3.3. Diseño de la Investigación	31
3.4. Unidad de análisis, población y muestra	31
3.5. Fases Metodológicas	32
3.5.1. Fase I. Identificar el método de preparación de los discos para antibiograma elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.	32
3.5.2. Fase II. Reconocer las condiciones de repetibilidad y reproducibilidad en la producción de discos de antibióticos elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.	33
3.5.3. Fase III. Comparar los resultados obtenidos de los ensayos de repetibilidad y reproducibilidad en la producción de discos de antibióticos de acuerdo a la norma venezolana COVENIN 2972-2:1997 elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.	35
3.6. Técnicas para la Recolección de la Información	35
3.7. Técnicas para el Análisis y Presentación de la Información	37

CAPÍTULO IV	38
4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	38
4.1. Fase I. Identificar el método de preparación de los discos para antibiograma elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.	38
4.2. Fase II. Reconocer las condiciones de repetibilidad y reproducibilidad en la producción de discos de antibióticos elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.	43
4.3. Fase III. Comparar los resultados obtenidos de los ensayos de repetibilidad y reproducibilidad en la producción de discos de antibióticos de acuerdo a la norma venezolana COVENIN 2972-2:1997 elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.	48
CONCLUSIONES	59
RECOMENDACIONES	61
BIBLIOGRAFÍA	62
ANEXOS	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.A. Diagrama de los pasos principales en el análisis estadístico (parte 1).	16
Figura 1.B. Diagrama de los pasos principales en el análisis estadístico (parte 2).....	17
Figura 2. Representación estadística de la repetibilidad.	19
Figura 3. Representación estadística de la reproducibilidad.	20
Figura 4. Simbología empleada para la elaboración de los diagramas de flujo.	29
Figura 5. Esquema de trabajo para el desarrollo de las fases de la investigación.....	32
Figura 6. Esquema general para la realización de los ensayos en el estudio de la repetibilidad y reproducibilidad en la producción de discos de antibióticos elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.	36
Figura 7. Diagrama de flujo de proceso para la elaboración de discos de antibiótico en los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.	39
Figura 8. Discos organizados en placa de Petri.	40
Figura 9. Cinta de comprobación de esterilidad (cinta testigo).	40
Figura 10. Incubadora de laboratorio para el secado de los discos de antibióticos elaborados.	42
Figura 11. Recipiente con tapa estéril para el almacenamiento de los discos de antibióticos elaborados.	42
Figura 12. Cepa bacteriana estafilococo dorado (<i>Staphylococcus aureus</i>) ATCC® 6538.	44
Figura 13. Antibiograma con discos comerciales.	45
Figura 14. Campana de gases y mechero de Bunsen.	46
Figura 15. Lote 1-M correspondiente al Operario A en el laboratorio MLAB C.A.	47
Figura 16. Antibiogramas luego del tiempo de incubación para lectura de los halos.	48
Figura 17. Gráfico del estadístico de consistencia interlaboratorio h.	51
Figura 18. Gráfico del estadístico de consistencia intralaboratorio k.	52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tabla de datos originales organizados según la forma A de la norma COVENIN 2972-2:1997.	49
Tabla 2. Estadísticos descriptivos para los laboratorios MLAB C.A. y EMES C.A.	50
Tabla 3. Tabla de medias de celdas para los laboratorios MLAB C.A. y EMES C.A.	50
Tabla 4. Tabla de la desviación estándar para los laboratorios MLAB C.A. y EMES C.A.	50
Tabla 5. Prueba estadística de Grubb para los laboratorios MLAB C.A. y EMES C.A.	51
Tabla 6. Análisis de la Varianza para determinar diferencias entre laboratorios y operarios en MLAB C.A. y EMES C.A.	53
Tabla 7. Desviaciones estándar de repetibilidad y reproducibilidad para los laboratorios MLAB C.A. y EMES C.A.	54
Tabla 8. Tabla de valores para cálculo de repetibilidad y reproducibilidad.	55
Tabla 9. Comparación de los valores de repetibilidad y reproducibilidad de acuerdo con los métodos empleados.	56

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la comercialización de los insumos y materiales han generado facilidades y garantías en los procesos productivos, incluyendo bienes y servicios, debido a la necesidad de adquirir estos con la alta variedad de marcas y calidades que existen en el mercado. Es allí, donde los discos de antibióticos comerciales no solo han ofrecido variedad y disponibilidad a sus consumidores, sino también ofrecen un alto índice de eficiencia y de calidad, permitiendo así, ofrecer un excelente servicio que genere la confianza necesaria para todos aquellos usuarios que requieran los servicios de un laboratorio clínico.

En Venezuela, en diferentes escenarios se ve en riesgo la disponibilidad de los materiales dentro de los laboratorios clínicos, por ende, es esencial la búsqueda de nuevas opciones que den solución a dicha situación, sin afectar el flujo de los procesos. Basado en esto, el entorno actual que se presenta en el país dado la inestabilidad de factores económicos, sociales y políticos, evidencia un panorama complicado para cumplir con la competitividad al momento de ofrecer un buen servicio en los laboratorios, especialmente por las organizaciones EMES C.A. y MLAB C.A. La poca disponibilidad de insumos en el mercado actual y los altos costos que representan todos aquellos productos importados, debido a la dificultad de adquisición de divisas, se ve reflejada en el abastecimiento de discos de antibióticos para desarrollar los antibiogramas en los laboratorios antes citados. De allí el interés y la iniciativa de aportar una solución que permita reducir los costos y que, a su vez, pueda ser un recurso sustentable que ofrezca un alto índice de eficiencia, calidad y disponibilidad para tales organizaciones, así como otras interesadas en los discos de antibióticos.

En la búsqueda de la solución a la problemática planteada, la formación impartida bajo un sistema de competencias y los conocimientos obtenidos durante la carrera de Ingeniería de Procesos Industriales, así como de los módulos de aseguramiento de la calidad, la creación de empresas y negocios, de la mano con seguridad, ambiente e higiene y cursos como estadística aplicada a los procesos de ingeniería y diseño de experimentos, dieron a los investigadores las herramientas para llevar a cabo el estudio de las condiciones de repetibilidad y reproducibilidad en el método de producción de discos de antibióticos elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A. Adicionalmente, fue necesario complementar conocimientos complejos de biotecnologías, bioanálisis, control estadísticos de procesos y bioestadística, logrando con ello los estándares

armónicos de calidad que dieron paso a sustituir los discos comerciales sin afectar ninguna variable en los resultados de los exámenes de antibiograma, y de esta manera además de solventar la problemática en los laboratorios donde se desarrollaron los ensayos, con el fin de asegurar la disponibilidad de los exámenes de una manera rentable a los pobladores de la Victoria, y zonas aledañas de esta región del estado Aragua.

El trabajo se estructuró de manera que en el Capítulo I, se detalla la problemática de la investigación, considerando la información suministrada por la organización y revisión documental por parte de los autores, comprendiendo de igual manera los objetivos de la investigación. En el Capítulo II, se incluyen los antecedentes que permitieron la orientación de la investigación, esto de la mano de los fundamentos teóricos relacionados. El Capítulo III, abarca los aspectos metodológicos que estructuran el desarrollo de la investigación, incluyendo las fases metodológicas. En el Capítulo IV se presentan los resultados obtenidos, con base en los objetivos establecidos para dicho trabajo y finalmente se presentan las conclusiones y recomendaciones que permitieron dar solución a la problemática planteada por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A. en cuanto a la evaluación de la repetibilidad y reproducibilidad en el método de elaboración de discos de antibiótico de ciprofloxacina con una concentración conocida de 5µg.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del problema

En el ámbito mundial, las empresas de la salud juegan un papel protagónico para los individuos en términos de calidad de vida. La mayoría de estos servicios están representados por hospitales, clínicas, laboratorios bioanalíticos y farmacéuticos, centros de diagnóstico integrales, los cuales son manejados por entes gubernamentales o del sector privado, según sea el caso (Organización Panamericana de la Salud -OPS-, 1999). Tales organizaciones, deben brindar un servicio, que además de satisfacer y adaptarse a las necesidades de los pacientes, deben cumplir obligatoriamente con los estándares de calidad requeridos por los profesionales de la medicina, en cuanto a la veracidad de los resultados provenientes de sus ensayos (Seijas y Iglesias, 2009; León *et al.*, 2015).

Los diagnósticos y tratamientos de un paciente suelen ser muy complejos, y dependen de la sintomatología que éste presente en un momento determinado, desde su llegada a un establecimiento de salud hasta el momento del alta, los usuarios reciben atenciones de diversos profesionales desde el médico tratante hasta los bioanalistas de laboratorio especializados en hacer los estudios correspondientes y dar los resultados de los mismos (Instituto Nacional de Salud, 2002). Evidentemente, el hecho que una persona se encuentre en un centro de salud implica que se generen diferentes procesos para obtener un diagnóstico; es allí, donde el laboratorio clínico es uno de los más importantes debido al alcance de sus análisis y orientación que proporciona a los profesionales de la salud, para tomar una decisión y de esa manera indicar su diagnóstico y tratamiento.

Para que los resultados de laboratorio clínico sean veraces, se debe asegurar la confiabilidad y validez en términos de precisión y exactitud; por ello, es necesario certificar el cumplimiento adecuado de todos los pasos involucrados en las distintas fases, desde la solicitud del examen y

toma de la muestra, tomando en cuenta todos los factores para el análisis y la adecuada interpretación de los resultados, hasta la emisión del mismo (León *et al.*, 2015).

Los laboratorios de análisis clínico representan una herramienta primordial en el ámbito de la salud; los mismos, agrupan diferentes especialidades y áreas de conocimiento, tales como bioquímica clínica, hematología, serología, microbiología, inmunología, biología celular y molecular, y anatomía patológica, todas ellas aplicadas al análisis del material biológico objeto de estudio, con propósitos de establecer medidas de control, además de suministrar información para el diagnóstico, prevención y tratamiento de enfermedades (ISO 15189:2007; Moles *et al.*, 2012; León *et al.*, 2015).

Entre las pruebas microbiológicas que desarrollan los laboratorios de análisis clínico, se encuentra el antibiograma, este es utilizado para determinar la susceptibilidad, sensibilidad o resistencia, que pueda poseer una bacteria con respecto a uno o varios antibióticos (Cruz *et al.*, 1984; Roach, 2013). Dicho examen, es realizado para orientar las decisiones en los tratamientos requeridos sobre cada individuo, para eliminar el crecimiento de la cepa bacteriana, la cual se sospecha que es responsable de una patología. Este estudio, muestra un seguimiento detallado de las especies o cepas resistentes a un medicamento particular. Por ende, su interpretación permite tomar ciertas previsiones y adoptar las medidas médicas y farmacológicas correspondientes. Lo anterior, reviste de gran importancia epidemiológica, ya que al hacer seguimiento a la evolución de las especies patógenas resistentes a un fármaco en particular, se pueden tomar medidas preventivas a la escala que el servicio ocupe (prevención en hospitales locales, regionales, nacionales o internacionales) (Águila, 2016).

En el estudio de la sensibilidad a los antibióticos existen diversos métodos para su determinación, sin embargo, el método de difusión en agar, conocido también como método “Kirby Bauer”, es una de las técnicas más antiguas y continúa en vigencia, siendo una de las más utilizadas en la rutina de los laboratorios clínicos (Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas -SEMCEI-, 2012). Este, se basa en el análisis de la susceptibilidad por difusión en discos de antibióticos de 6 mm de diámetro, tal y como lo establece el Manual de Laboratorio para la Identificación y Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia para la Salud Pública en el Mundo en Desarrollo (Organización

Mundial de la Salud -OMS-, 2004); dicha norma establece no colocar más de 12 discos en una placa de petri de 150mm de diámetro, ni más de 6 en una placa de petri de 100mm de diámetro, para evitar la superposición de las zonas de inhibición. Las zonas de inhibición, también conocidas como halo, son el efecto del antibiótico sobre la cepa bacteriana, que es medida con instrumentos específicos e interpretada usando el indicador de Condiciones Inhibitorias Mínimas (CIM) (Malbrán, 2012).

En la Victoria, en el estado Aragua coexisten dos laboratorios: la unidad MLAB C.A. labora desde el año 2014, ubicado en la Calle Páez n° 53, el cual cuenta con una estructura de dos niveles; planta baja con acabados que garantizan las condiciones asépticas apropiadas y áreas de trabajo claramente definidas de acuerdo con las actividad a ejecutarse en la misma, linealidad de los procesos y requerimientos sanitarios. Por su parte, la unidad EMES C.A. presta servicios desde 1996, ubicado en la Calle Juan Vicente Bolívar, dentro de las instalaciones del Hospital de Clínicas Aragua en la misma ciudad. Ambos, cubren una amplia gama de exámenes clínicos y mantienen altos estándares de calidad, logrando así la confianza y lealtad en sus clientes.

A pesar de que una de las principales políticas de estas organizaciones es ofrecer un servicio de calidad, enfrentaban diversas situaciones que perjudicaban de manera directa su integridad y óptimo funcionamiento, en donde la disponibilidad de los insumos y la rentabilidad de los mismos juegan un papel fundamental para mantener servicios de calidad. La adquisición y compra de los discos de antibióticos importados para realizar los antibiogramas no comprendía un problema para las organizaciones en cuestión, pero debido a las circunstancias que se presentan en el país (económico, político y social), la adquisición de dichos discos dejó de ser factible por los elevados costos y la dificultad de obtención de divisas. Es por este motivo que los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A. se vieron en la necesidad de producir sus propios discos para antibiograma, mediante procesos que no perjudicaran la calidad del servicio y garantizaran la confiabilidad en los resultados.

Basados en dichos antecedentes, las organizaciones, decidieron producir sus propios discos de antibióticos y dejar de depender de los importados; para ello, se apegaron a los criterios de calidad establecidos por las normas, donde se cumplieron los requisitos fundamentales para que tales discos contaran con la suficiente confiabilidad al ser comparadas con los resultados de las

pruebas ejecutadas con los discos producidos por casas comerciales de renombre internacional. Dicho cambio no es aleatorio, el mismo debía estar sometido a rigurosos controles y exigencias de procesos y calidad, los cuales se basaron en herramientas estadísticas para determinar la correcta veracidad del cambio de discos.

El agente bacteriolítico, conocido como ciprofloxacina, es una de las opciones fácilmente disponibles en el mercado venezolano además de que actúa como bactericida en una amplia variedad de especies patógenas, es por ello que las organizaciones lo emplean frecuentemente en los estudios de antibiogramas. Un vial importado que contiene 50 discos de ciprofloxacina tiene un costo de US\$30 con un rendimiento de 50 unidades, para este caso los exámenes derivados del antibiograma tienen un costo de US\$2,5 por prueba (incluyendo otros costos que integran la prueba); por otra parte, producir 10.000 discos en la organización tuvo un costo de US\$5,75 con un monto en el estudio de antibiograma de US\$0,57 (incluyendo otros costos que integran la prueba). Pasar del método de antibiograma con discos importados al esquema de producción dentro de las organizaciones, representó un porcentaje de ahorro del 99,90% y un incremento significativo en el rendimiento de los discos, previendo así cualquier situación de escases.

El control de estos procesos, se conoce en el entorno ingenieril como programa de garantía de calidad. Para ello, fue necesario contar y conocer las normas que marcaron las pautas y ajustaron las técnicas entre los diferentes laboratorios, con el fin de garantizar la uniformidad y la confiabilidad de los ensayos a realizar (Instituto Nacional de Salud, 2002). Es allí donde la norma COVENIN 2972-2:1997 Exactitud “Veracidad y Precisión” de Métodos de Medición y Resultados. Parte 2: Método Básico para la Determinación de Repetibilidad y Reproducibilidad de un Método Estándar de Medición, expresó el método básico para la determinación de repetibilidad y reproducibilidad de una técnica estándar de medición, el cual garantizó la precisión del procedimiento de medición y de esta manera fueron establecidas las condiciones que garantizaron un proceso de calidad. Por otra parte, para laboratorios clínicos existen normas como la ISO 15189: 2007, que acredita y demuestra de manera objetiva e independiente el compromiso de un laboratorio con la calidad y con la competencia técnica para la realización de cualquier bioanalítico de precisión.

Cuando se hace referencia a la repetibilidad surgen ideas de la cercanía entre las derivaciones de mediciones consecutivas, donde los resultados independientes de ensayo son obtenidos con el mismo método de medición de ensayo, en el mismo laboratorio, por el mismo operador, usando el mismo equipo, en un intervalo de tiempo corto; por otra parte, la reproducibilidad hace referencia a las condiciones donde resultados independientes de ensayos son obtenidos con el mismo método, sobre ítems de ensayos idénticos, en laboratorios distintos y con operadores y equipos diferentes (Llamosa *et al.*, 2007).

Partiendo de las premisas antes descritas, tuvo lugar la siguiente interrogante, ¿Cuáles son las condiciones de repetibilidad y reproducibilidad que garantizarán el método adecuado de elaboración de los discos de antibióticos sin afectar la calidad de los resultados obtenidos en el tiempo posterior a su implementación en los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.?

1.2. Objetivos de la investigación

1.2.1. General

Evaluar las condiciones de repetibilidad y reproducibilidad en la producción de discos de antibióticos elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.

1.2.2. Específicos

1. Identificar el método de preparación de los discos para antibiograma elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.
2. Reconocer las condiciones de repetibilidad y reproducibilidad en la producción de discos de antibióticos elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.
3. Comparar los resultados obtenidos de los ensayos de repetibilidad y reproducibilidad en la producción de discos de antibióticos de acuerdo a la norma venezolana COVENIN 2972-2:1997 elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.

CAPÍTULO II

MARCO DE REFERENCIA

En el siguiente capítulo se muestran estudios, documentos y artículos que poseen relación con el tema de investigación, los cuales son considerados pertinentes para fundamentar el estudio, de la mano de las bases teóricas planteadas que fundamentan la investigación en cuestión.

2.1. Antecedentes

El trabajo de grado realizado por **Salazar *et al.*** (2017), que lleva por título “**Análisis del uso de antibióticos en antibiogramas de urocultivos realizados por un laboratorio clínico de la región centro-occidental de Colombia**” Dicho trabajo se desarrolló como un estudio descriptivo-retrospectivo, donde se recaudaron datos de urocultivos y antibiogramas que fueron realizados entre abril del 2014 y junio de 2015; dichos datos fueron recolectados de un laboratorio clínico de la región centro-occidente de Colombia. Posteriormente, fueron analizados 1815 reportes obtenidos de los urocultivos y antibiogramas donde se identificaron 18 especies bacterianas, que en el 22,3% de los casos se evaluaron y reportaron antibióticos sobre microorganismos naturalmente resistentes, en donde *Pseudomonas aeruginosa* presentó mayor resistencia. Por otra parte, el antibiótico con mayor resistencia fue el ácido nalidíxico con un 66,7%, se evidenció que existe un mal manejo en cuanto a la interpretación de los antibiogramas frente a los organismos naturalmente resistentes. Lo cual podría favorecer en el desarrollo de multiresistencia en microorganismos sensibles de la flora bacteriana. Dicho trabajo se utilizó en la presente investigación, para indagar sobre las resistencias a antibióticos y como esta respuesta microbiológica puede afectar las mediciones en ensayos de tipo microbiológico, con las consecuentes desviaciones en los resultados de una prueba.

En la investigación realizada por **Cabrera y Salas**, (2017), la cual llevó por título “**Estudio de Repetibilidad y Reproducibilidad: caso práctico**” establece las definiciones básicas de repetibilidad y reproducibilidad, por medio de la cual se calcula la variabilidad dentro de cualquier proceso y permite determinar si las mismas son aceptables o no. En dicho estudio se indica que existen varios métodos para calcular la repetibilidad y la reproducibilidad en distintos laboratorios.

El mismo sirvió de elemento teórico para conocer desde el punto de vista práctico los estudios de repetibilidad y reproducibilidad, además de evaluar las causas que originan las variaciones del sistema o del instrumento.

En el desarrollo del trabajo de grado de **Pedraza y Castellanos (2009)**, titulado “**Estudio comparativo de la actividad antimicrobiana de diferentes presentaciones comerciales de antibióticos de administración intravenosa a través de métodos *in vitro***” se realizaron ensayos para la valoración del antibiótico Cefoperazona-Sulbactam a partir del método de difusión en gel, en donde se implantó el microorganismo *Bacillus subtilis* ATCC 6633 como modelo experimental para la ejecución de los ensayos, teniendo en cuenta factores como el tiempo de incubación, crecimiento del inóculo, zona de inhibición como respuesta a determinadas concentración de un antibiótico, sirviendo esta información de referencia para el control de la cepa controlada utilizada en la presente investigación. Partiendo de la validez de la metodología y la realización de potencia relativa, realizaron un estudio de comparación de muestras de productos estándar USP, genéricos y de marca, que dio como resultado que presentan la misma actividad antimicrobiana mediante métodos *in vitro* y así mismo se confirmó que son bioequivalentes. Este trabajo se utilizó, ya que el mismo permitió conocer en más detalles los factores como el tiempo de incubación, crecimiento del patógeno, zonas de inhibición y otros elementos claves que se emplearon en los subsecuentes ensayos, en las organizaciones objeto de estudio.

Para finalizar este apartado, entre la literatura clásica se detalla el trabajo de **Cruz et al. (1984)**, titulado “**Sensibilidad a los antibióticos (Producción de discos para pruebas de sensibilidad a los antibióticos)**”, el cual se empleó en la presente investigación, pues profundiza en los aspectos relacionados con el tamaño del inóculo, tiempo de incubación, temperatura, constitución del medio, pH, atmósfera, estabilidad del antibiótico y pureza del inóculo. En este trabajo se presenta el logro de la estandarización del método, con lo cual obtuvieron buena reproducibilidad. Al igual que la situación actual, estos autores resaltaron la necesidad de desarrollar sus propios discos de antibióticos, debido a la difícil adquisición de tales materiales por la poca disponibilidad de divisas en la Costa Rica de 1983/1984.

2.2. Bases teóricas

Se entiende por **microbiología clínica**, la disciplina que se ocupa del diagnóstico y seguimiento de enfermedades infecciosas, y estudios epidemiológicos relativos a las mismas (Lopardo, 2016). Según Mühlhauser (2014), la microbiología clínica tiene como objetivo principal determinar de manera eficiente los posibles agentes etiológico de una infección y así poder descubrir su susceptibilidad a ciertos agentes antimicrobianos (antibióticos). De allí, la importancia de los laboratorios clínicos de ofrecer un servicio de calidad, lo más preciso posible; el proceso de determinación de una enfermedad inicia con un análisis previo, en donde el médico realiza su diagnóstico basado en los síntomas, para luego emitir la orden y proceder a realizar el estudio microbiológico adecuado.

En el manejo clínico de una enfermedad infecciosa es preciso identificar el agente causante y de esta manera proceder a un tratamiento; cuando se trata de organismos bacterianos el concepto se vuelve estricto y la determinación de ser posible debe ser específica (Bernal y Guzmán, 1984).

Una de las pruebas microbiológicas más demandadas dentro del área son los **antibiogramas**, estos son realizados específicamente para determinar la susceptibilidad que posee una bacteria a uno o un grupo de antibióticos (Águila, 2016). El objetivo principal del antibiograma es orientar decisiones terapéuticas a un individuo, sin embargo, también busca seguir la evolución de las resistencias bacterianas, visto desde la perspectiva epidemiológica, para poder adoptar las decisiones sanitarias requeridas. Es preciso considerar que se requiere el empleo de costosos materiales de trabajo para el desarrollo del estudio, basándose en el uso de cepas bacterianas controladas, el medio de incubación y los discos impregnados con el antibiótico (López y Boronat, 2011; Serra, 2017).

Los **antibióticos** son sustancias químicas de origen microbiano que a bajas concentraciones inhiben el crecimiento de otros microorganismos (López y Boronat, 2011), estas sustancias son producidas por el metabolismo de organismos vivos principalmente hongos y bacterias. Están constituidos por un grupo heterogéneo de sustancias que poseen actividad antibacteriana con diversos comportamientos farmacocinéticos y farmacodinámicos, lo que quiere decir que ejercen una función específica sobre una estructura o función de un microorganismo (Taroco *et al.*, 2006).

Por otra parte, los **agentes antimicrobianos** son aquellas moléculas bien sea de origen natural, sintética o semisintética (provenientes de un organismo vivo, bacteria o hongo) las cuales son capaces de producir la muerte o la parada del crecimiento bacteriano, hongos u virus presente en un organismo (Gimferrer, 2011).

Entre los distintos tipos de antibióticos se encuentra la **ciprofloxacina**, que proviene de la familia de las fluoroquinolonas, químicamente similar a otras drogas de la misma familia; entre ellas norfloxacin, ofloxacin, levofloxacin, moxifloxacin (Pinheiro, 2018). Posee, además, un amplio espectro de acción según su nivel de actividad y se utiliza para el tratamiento de diversas infecciones; urinarias, de la próstata, en la piel y tejidos blandos, gastrointestinales, respiratorias y diarreas bacterianas (Suarez y Vera, 2011).

La ciprofloxacina inhibe la síntesis del ADN bacteriano; posee un espectro antimicrobiano que incluye bacilos Gram negativos entéricos y presenta escasa actividad frente a patógenos Gram positivos y anaerobios (Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría - Pediamécum-, 2015). Estos antibióticos no funcionan para combatir resfriados, influenza u otras infecciones virales. Usar antibióticos cuando no son necesarios aumenta su riesgo de contraer una infección más adelante, que se resista al tratamiento con antibiótico.

Para realizar el estudio de antibiograma existen varios métodos, entre ellos y para los efectos de la presente investigación se desarrolla el **método en difusión en agar**, también conocido como método *Kirby-Bauer*, este es un estudio de susceptibilidad por difusión en disco, un procedimiento cualitativo utilizado por diversos laboratorios clínicos en la actualidad. Consiste en depositar el microorganismo, en una superficie de agar *Muller Hinton*, elegido por el procedimiento normalizado por el Subcomité sobre Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobianas del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI), el cual fue vertido dentro de una placa de Petri, para luego colocarse los discos de papel cargados con el antibiótico (Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas -SEMCEI-, 2012).

El antibiótico expulsado por los discos formará un gradiente de concentración y al transcurrir un período de tiempo entre 18 y 24 horas en estado de incubación, se presentarán los discos rodeados por una zona de inhibición; dicha concentración del antibiótico presente en la

interfase del agar entre las bacterias que se encuentran en crecimiento y las inhibidas, se denota como “concentración crítica” la cual se aproxima a las Condiciones Inhibitorias Mínimas (CIM) (Picazo, 2003).

Si bien este método es uno de los más utilizados en la actualidad para los estudios de antibiogramas, no permite una lectura directa para el valor de la condición inhibitoria mínima. Según Cercenado y Saavedra (2009), la **Condición Inhibitoria Mínima (CIM)**, es la dilución más baja de antimicrobiano en la que no se observa crecimiento bacteriano. Es un factor que hace referencia a la concentración más baja de un antibiótico capaz de inhibir el crecimiento de una determinada cepa bacteriana y siendo diferente para cada especie de bacteria. Es por ello, que para su cuantificación se realiza un contraste con otro método de sensibilidad previamente determinado con un gran número de cepas de CIM conocidas, para minimizar el margen de error (TP-Laboratorio Químico, 2018).

Existen diámetros de inhibición estandarizados para cada antimicrobiano, expresados en milímetros, con los cuales se realiza la lectura de los halos de inhibición, estos se interpretan con tres posibles opciones: Sensible (S), Intermedia (I) o Resistente (R) (Roach, 2013). Para la realización del método de “Kirby-Bauer” se deben tener en cuenta algunos insumos y materiales indispensables para el desarrollo de las pruebas de antibiogramas a través del método anteriormente explicado, entre ellos se encuentran:

Placa de Petri: es un recipiente con forma circular elaborado en vidrio o en plástico, que puede poseer diversos diámetros con un fondo bajo y tapa de un diámetro un poco más grande que la placa para ser colocada encima (TP-Laboratorio Químico, 2018). Pueden ser utilizadas con un medio de cultivo agar o para alojar una cepa pura.

Medio de cultivo (agar): es una sustancia gelatinosa, polisacárido sin ramificaciones obtenido de la pared celular de varias especies de algas de los géneros *Gelidium* sp, *Euchema* sp y *Gracilaria* sp, entre otros. Es un elemento solidificante el cual es empleado para la preparación de cultivos, se licua en su totalidad a la temperatura del agua hirviendo (100°C) y se solidifica aproximadamente a unos 40°C. Algunos medios poseen diferentes materiales de enriquecimiento

como pueden ser hidratos de carbono, sangre completa, suero, bilis, entre otros (Cruz *et al.*, 1984; Casado *et al.*, 2012).

Para efectos del antibiograma se utiliza específicamente el medio de cultivo Agar **Mueller Hinton**, el cual posee una baja concentración de iones divalentes. Es recomendado para este tipo de estudios porque en él se reproducen la mayor parte de las bacterias patógenas; para su uso y estandarización entre laboratorios es utilizado debido a que las diferencias entre los distintos lotes comercializados son muy pocas (Picazo, 2003).

Discos de antibióticos: son discos de papel filtro, los cuales están impregnados con una concentración definida de algún agente antimicrobiano. Dichos discos son utilizados para la evaluación semicuantitativa de la susceptibilidad *in vitro* de alguna bacteria a dichos agentes antimicrobianos (Bio-Rad, 2011). Estos deben estar estériles al momento de la impregnación del antibiótico, la **esterilización**, no es más que el proceso en el cual se consiguen eliminar todas las formas de vida microbianas (bacterias y hongos, entre otros) dentro de un ambiente u objeto. Debido a que este proceso representa un papel importante en los laboratorios por la necesidad de evitar contaminación en los espacios y materiales e insumos de estas organizaciones, existen diversos métodos para poder llevar a cabo la esterilización, de tipo físico (calor húmedo, seco o radiación) y los de tipo químico por uso de sustancias y soluciones (gases, ácidos, otros) (Vignoli, 2004).

Los **halos de inhibición** son aquella zona ubicada alrededor de un disco de antibiótico presente en una placa inoculada, en la cual no se presenta crecimiento bacteriano (IQUIMICAS, 2014). La medición de los halos se realiza por la parte trasera de la placa de Petri, previamente incubada, donde se procede a determinar el tamaño de la circunferencia que se encuentra alrededor del disco de antibiótico a través de un instrumento de medición (García, 2014).

La **inoculación** se refiere a la incorporación de una sustancia en un organismo; es un proceso mediante el cual se introduce un agente infeccioso en un organismo, o lugar, que carece del agente patógeno (Cerra *et al.*, 2013). Cultivar un microorganismo significa promover intencionalmente su desarrollo en un medio de cultivo predeterminado y condiciones establecidas.

La formación de colonias visibles en los medios de cultivo permite diferenciar a los microorganismos y detectar contaminantes en los cultivos puros (Correa y Torres, 2015).

Una **cepa**, es un conjunto de células homogéneas o clones que nacen de la reproducción de una célula única seleccionada y aislada; o células que descienden de un único aislamiento de un cultivo puro, por lo general a partir de una colonia, no necesariamente un clon (Rojas, 2016). En términos coloquiales son aquellas colonias puras de bacterias; mientras que las **cepas ATCC** son materiales de referencia con certificado biológico, microorganismos utilizados para el control de calidad en microbiología, obtenidos de una colección de referencia (Rojas, 2016). Sus características genotípicas y fenotípicas garantizan la identidad de la bacteria y al tener esta documentación, el laboratorio evitará realizar pruebas adicionales para la identificación de las cepas, lo que se traduce en ahorro de tiempo y recursos (MDM-Científica, 2017).

Para efectos de la investigación se trabajó con una cepa estandarizada de **estafilococo dorado** (*Staphylococcus aureus*) la misma pertenece a la familia de bacterias *Staphylococcaceae*. Es inmóvil, posee forma esférica y puede aparecer en parejas, cadenas o racimos, posee un tamaño entre los 0.8 y 1.5 micro diámetro (Sociedad Venezolana de Microbiología, 2002). Se hospeda en humanos y animales de sangre caliente y puede sobrevivir durante semanas en cadáveres, tejidos y órganos de animales; y durante días, en la piel, suelos y superficies de objetos metálicos y vidrios. La transmisión puede producirse principalmente por ingesta de alimentos contaminados con la bacteria o por contacto con superficies infectadas (heridas); obteniendo como resultado infecciones locales de la piel e infecciones internas como meningitis, neumonía, osteomielitis o artritis séptica, estas pueden llegar a ser mortales (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo – INSHT-, 2012).

Para el desarrollo técnico se deben recalcar los términos destacados por La norma COVENIN 2972-2:1997 “Exactitud (Veracidad y Precisión) de Métodos de medición y resultados”.

Veracidad y precisión de métodos de medición

Partiendo del motivo de estudio, es importante tener en cuenta que existen condiciones necesarias para garantizar la calidad en el proceso de producción, siendo estos la repetibilidad y la reproducibilidad. Ambos, son principios básicos del método científico, donde se busca verificar

experimentos y de esa manera establecer estándares de medición. Es por ello que ambos métodos se consideran importantes para la comprobación de hipótesis en diversas disciplinas (Matos, 2018).

La norma COVENIN 2972-2:1997, utiliza los términos veracidad y precisión para describir la exactitud de un método de medición, dentro de ella se considera a la estimación de la precisión mediante la desviación estándar de repetibilidad y la desviación estándar de reproducibilidad. Los datos obtenidos en los experimentos para estimar la precisión se utilizan, para estimar la veracidad. Esta norma, amplifica los principios generales que son considerados en el diseño de experimento para la estimación numérica de la precisión de métodos de medición, por medio de ensayos colaborativos interlaboratorios. En la estimación de la precisión del método de medición, se provee una descripción detallada para el método de uso rutinario, orientando a todo el personal involucrado con los ensayos. En la Figura 1 (partes 1 y 2), se describe de forma esquemática los pasos principales para desarrollar el análisis estadístico.

Los estudios deben realizarse solo en variables de tipo continua, que dan un solo valor como el resultado del ensayo, aun cuando este único valor puede resultar del cálculo de un conjunto de observaciones. Para ello, se debe garantizar que la veracidad y precisión del método de medición, se tomaron en cuenta oportunamente. El método debe ser aplicado a procedimientos normalizados que son empleados con regularidad en los laboratorios. Las condiciones para la aplicación del método básico en cuanto a la estimación de la precisión, se fundamenta en: a) el requerimiento de determinar la desviación estándar de repetibilidad y reproducibilidad, b) los materiales a ensayar son homogéneos, c) los efectos de su heterogeneidad pueden ser incluidos dentro de los valores de precisión, d) cuando es aceptable el uso de un ensayo balanceado de nivel uniforme.

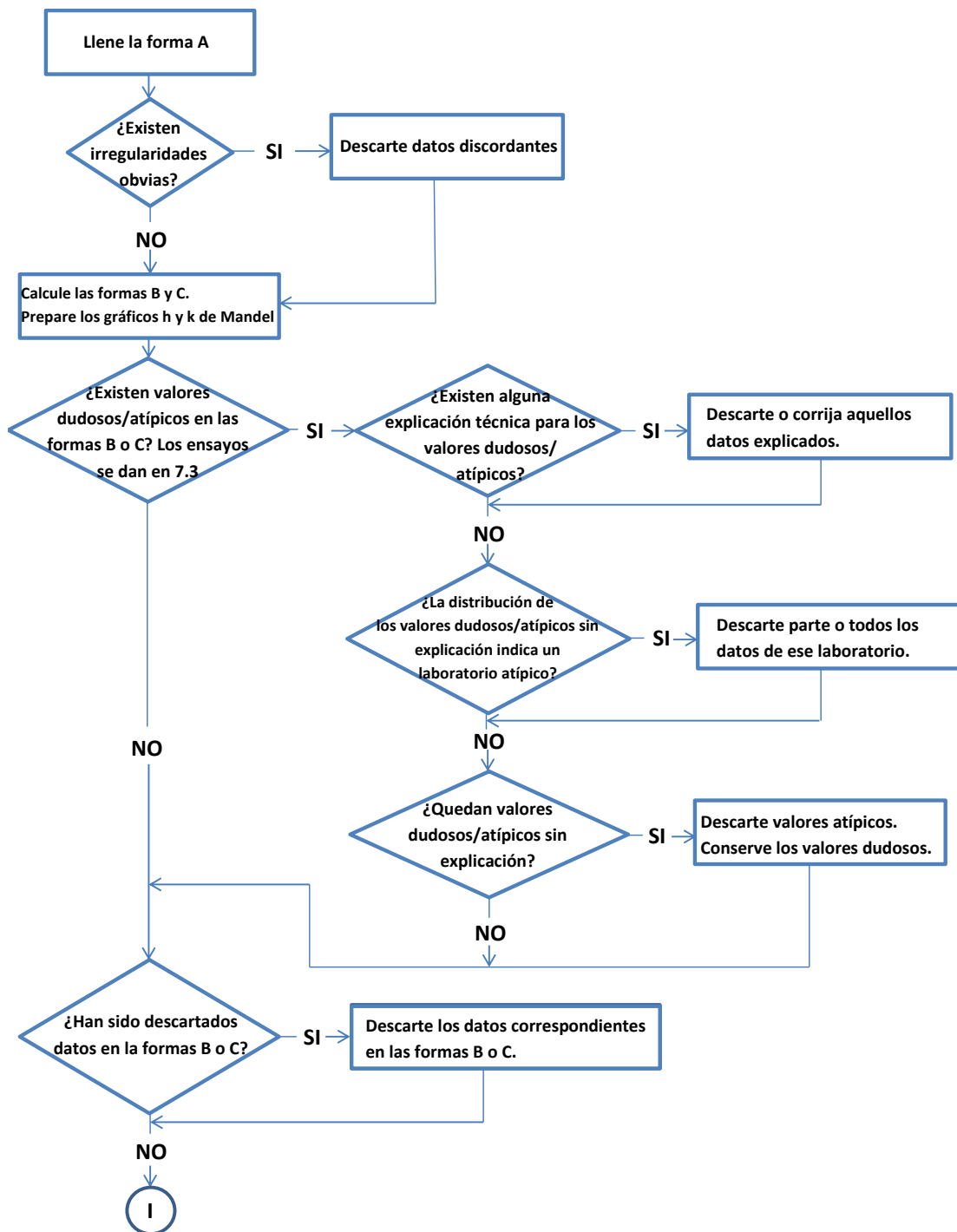


Figura 1. Diagrama de los pasos principales en el análisis estadístico (Parte 1).
Fuente: Norma COVENIN 2972-2: 1997.

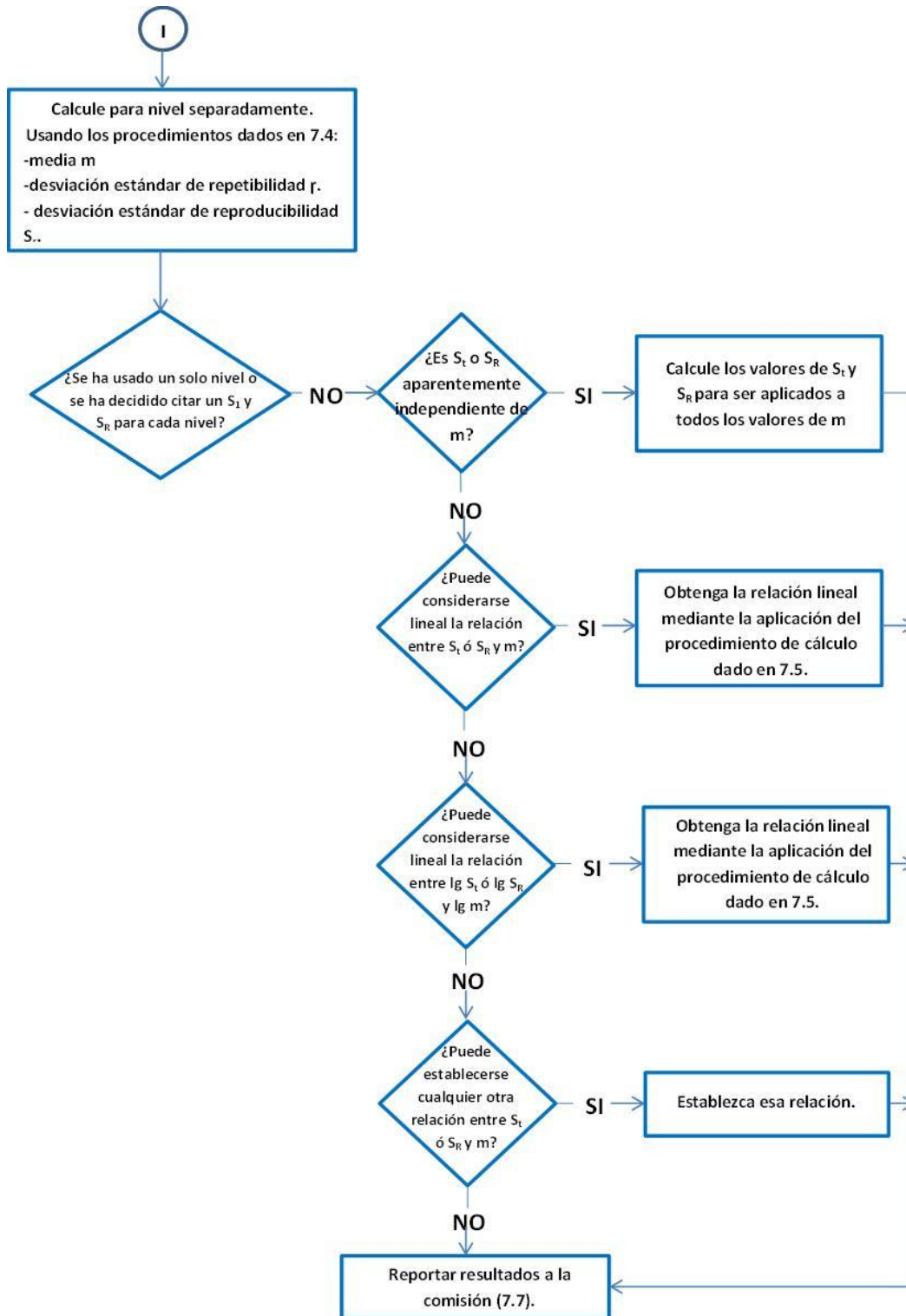


Figura 1. Diagrama de los pasos principales en el análisis estadístico (Parte 2).
Fuente: Norma COVENIN 2972-2: 1997.

Estimación de los parámetros del modelo básico.

Para la estimación de la exactitud de un método de medición, es útil asumir que el resultado Y de cada ensayo, es la suma de tres componentes: la media general (μ), el componente de sesgo del laboratorio bajo condiciones de repetibilidad (β) y del error aleatorio que ocurre en cada medición (ε). En la práctica, los valores exactos de la desviación estándar no son conocidos, la estimación de valores de precisión se hacen basados en una muestra pequeña de todos los laboratorios, y dentro de cada uno de los laboratorios seleccionados, solo se toma una muestra pequeña de los posibles resultados. En la práctica estadística el verdadero valor de la desviación estándar (σ) no es conocido y debe ser estimado con un valor basado en una muestra.

Requisitos para un ensayo de precisión.

El método básico, establece que se deben realizar q lotes de materiales, representando q niveles diferentes de ensayos, los cuales son enviados a p laboratorios que tienen exactamente n réplicas de resultados, este tipo de ensayos se denominan balanceado de nivel uniforme.

Para el desarrollo de los ensayos de precisión se deben cumplir obligatoriamente las siguientes instrucciones: a) revisión preliminar de los equipos, b) intervalos de tiempo, c) operadores, d) los n ensayos deben ser ejecutados de manera independiente, e) los q grupos de n mediciones deben ser ejecutados en períodos de tiempo cortos, f) las mediciones de los q niveles deben realizarse por el mismo operador, g) establecer los límites de tiempo para todas las mediciones y h) todas las muestras deben estar marcadas claramente con el nombre del experimento y la identificación correspondiente.

Selección de los laboratorios

Para los propósitos de la norma, se denomina **laboratorio** a la combinación de operador, equipo y lugar de ensayo. Un lugar de ensayo (lo que comúnmente se señalaría como un “laboratorio”), puede dar lugar a varios laboratorios si se puede proveer a varios operadores, conjuntos independientes de equipos y sitios de trabajo. Las labores dentro de cada laboratorio deben ser desarrolladas por operarios, quienes deben ejecutar las mediciones de acuerdo al método estándar de medición. Para ello, es necesaria la correcta selección del método que permita analizar adecuadamente los datos.

Evidentemente el escenario anterior, establece que los datos deben ser considerados como un problema estadístico, y por tanto deben ser tratados por un experto en el área, para desarrollar los métodos y así llegar a las conclusiones derivadas de los ensayos de precisión. Es por ello, pertinente contextualizar una serie de definiciones que faciliten las labores correspondientes al ejercicio estadístico.

La **repetibilidad**, se define como la precisión bajo condiciones de repetibilidad, lo que conlleva a la definición de **condición de repetibilidad**, siendo la proximidad de concordancia que existe entre diversos resultados obtenidos en mediciones sucesivas con el mismo método de medición, las mismas condiciones y el mismo observador; en términos cuantitativos la repetibilidad es vista como la dispersión característica de los resultados (Portuondo y Portuondo, 2010). Desde el punto de vista estadístico, es denotada como **r** y su valor es expresado como una proporción (Figura 2).

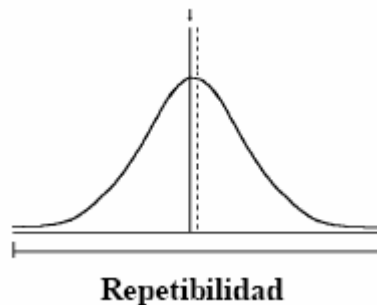


Figura 2. Representación estadística de la repetibilidad.
Fuente: Portuondo y Portuondo (2010).

Cuando un valor de repetibilidad es uno, quiere decir que la medida es perfectamente consistente y repetible, y que el operador encargado de la medición no cometió ningún error en el proceso (Senar, 1999). De lo anterior deriva, la **desviación estándar de repetibilidad**, que es una medida de dispersión de la distribución de los datos resultantes de ensayo bajo condiciones de repetibilidad. De esta misma manera se pueden definir a la **varianza de repetibilidad o de intralaboratorio** y al **coeficiente de variación de repetibilidad**. Finalmente, el **límite de repetibilidad** es el valor máximo, con una probabilidad de 95%, de la diferencia absoluta entre dos resultados de ensayo obtenidos bajo condiciones de repetibilidad.

Por su parte, la **reproducibilidad** es la precisión bajo condiciones de reproducibilidad, lo cual hace referencia a la **condición de reproducibilidad** siendo esta la proximidad de concordancia que existe entre los resultados de mediciones realizados sucesivamente, pero bajo condiciones de medición diferentes; entre las condiciones que cambian se encuentran, el principio y el método de medición, el observador, instrumento de medición, patrón de referencia, lugar, tiempo, entre otros (Portuondo y Portuondo, 2010). De lo anterior deriva la **desviación estándar de reproducibilidad** la cual es la desviación estándar de los resultados de ensayos obtenidos bajo condiciones de reproducibilidad. Finalmente, el límite de reproducibilidad es el valor máximo, con 95% de probabilidad, de la diferencia absoluta entre dos resultados de ensayos obtenidos bajo condiciones de reproducibilidad (Figura 3).

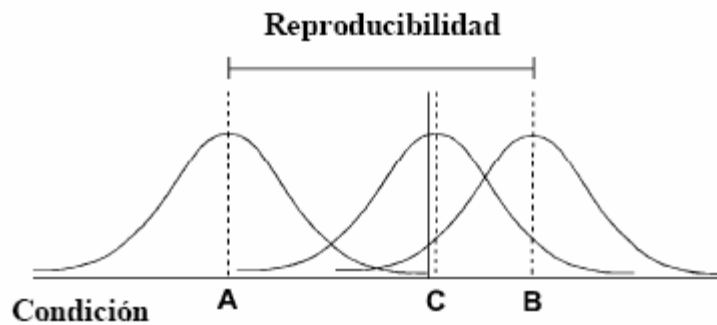


Figura 3. Representación estadística de la reproducibilidad.
Fuente: Portuondo y Portuondo (2010).

Los estudios de repetibilidad y reproducibilidad encuentran aplicación en los procesos de evaluación, validación y análisis de las mediciones, estas aplicaciones son entre otras:

- Evaluación de ensayos de aptitud,
- Validación de métodos de calibración,
- Análisis de comparaciones inter-laboratorio,
- Evaluación de la incertidumbre de medición,
- Evaluación de cartas de control,
- Conocer la variabilidad de mediciones e instrumentos,
- Evaluación de la deriva (estabilidad) de instrumentos.

Siguiendo con los enunciados básicos, es necesario definir al **sesgo**, dicho término posee tres categorías dentro de la investigación. El primero se refiere a la diferencia entre el promedio de

los resultados de un ensayo y el valor de referencia aceptado, considerado como un error sistemático total con respecto al valor de referencia aceptado. El segundo es el **sesgo de un laboratorio**, siendo la diferencia entre el promedio de los resultados de ensayos de un laboratorio en particular y un valor de referencia aceptado. Y el tercero, es el **sesgo de un método de medición** definido como la diferencia entre el promedio de los **resultados de un ensayo** obtenido de todos los laboratorios usando dicho método y un valor de referencia aceptado, estos resultados comprenden el valor de una característica obtenida al ejecutar un método de ensayo específico.

Por otra parte, se tienen los **resultados de ensayos independientes**, estos son los resultados obtenidos en una forma no influenciada por cualquier resultado previo sobre el mismo objeto de ensayo. Teniendo en cuenta el **nivel de ensayo en un experimento de precisión**, el cual se define como el promedio general de los resultados de los ensayos de todos los laboratorios para un material en particular.

La norma COVENIN 2972-2:1997 también hace referencia exclusivamente a los métodos de medición que proporcionan resultados únicos dentro de una escala continua de valores, pero dicho valor puede provenir de un cálculo realizado partiendo de un grupo de observaciones. La norma en cuestión expresa la **exactitud** de los métodos de medición de resultados, siendo este término la proximidad de la concordancia entre un resultado de ensayo y el valor de referencia aceptado. Dicho término al ser aplicado a un grupo de resultados de ensayos, involucra una combinación de componentes aleatorios y de un error sistemático común o de un componente sesgado.

La exactitud comprende los términos veracidad y precisión, siendo la **veracidad** la proximidad de concordancia entre el valor promedio obtenido a partir de una larga serie de resultados de ensayos y un valor de referencia aceptado. La medida de veracidad es usualmente expresada en términos de sesgo. La **precisión** se define como la proximidad de la concordancia entre resultados de ensayos independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas. La precisión depende solamente de la distribución aleatoria de los errores y no guarda relación con el verdadero valor o el valor especificado. La medida de precisión es usualmente expresada en términos de imprecisión y es calculada como una desviación estándar de los resultados de un ensayo. Una menor precisión es reflejada por una mayor desviación estándar.

Los **experimentos colaborativos de evaluación**, comprenden experimentos interlaboratorios en los que se evalúan el desempeño de cada laboratorio usando el mismo método estándar de medición sobre muestras idénticas, la norma (COVENIN 2972-2:1997) denota herramientas estadísticas y pruebas para el análisis de los datos, entre ellos el **examen crítico** el cual consiste en un análisis sistemático del método por el cual se ponen de manifiesto las deficiencias existentes y las posibles mejoras de este. El objetivo del examen es identificar valores atípicos u otras irregularidades de sus resultados que sean independientes de la actitud y nivel del analista de métodos. Un **valor atípico** es un dato dentro de un conjunto de observaciones que no es consistente con los demás valores del conjunto.

Estos datos atípicos existen sobre los **valores observados**, los cuales conllevan el valor de una característica, obtenidos como resultados de una única observación. Luego de aplicado el examen crítico, e identificada o no la presencia de valores atípicos, se proceden a aplicar pruebas estadísticas que involucra la norma COVENIN 2972-2:1997, se realizan las comparaciones pertinentes. Para ello existe un **valor de referencia aceptado**, el cual no es más que el valor que sirve como una referencia de comparación previamente acordada, y que es determinado como un: a) valor teórico basado en principios científicos, b) basado en el trabajo experimental de una organización nacional o internacional, c) un valor consenso o certificado, basado en un trabajo experimental en colaboración de varios laboratorios o d) la media de la cantidad medible en los literales a, b o c.

Los valores obtenidos de estos ensayos (Tabla 1), se analizaron mediante distintas pruebas y herramientas estadísticas entre ellas encontramos la prueba de **normalidad**. La distribución normal (también conocida como distribución gaussiana), es aquel modelo continuo utilizado en el ámbito estadístico, ya que muchas variables de interés general pueden describirse mediante esta distribución (Pértegas y Pita, 2001). Con esta herramienta se puede realizar el cálculo de la probabilidad que existe para varios valores de ocurrir en un rango determinado. Resulta ser el modelo continuo más importante en estadística por su aplicación directa y por sus propiedades, que han permitido el desarrollo de numerosas técnicas de inferencia estadística (Díaz y Fernández, 2001).

Dicha distribución está determinada por dos parámetros, los cuales son su media y su desviación estándar (μ y σ); expresada en la norma por la Ecuación I.

$$f(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} \exp\left[-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}\right] \quad \text{donde } -\infty < x < +\infty \quad (\text{Ecuación I})$$

Entre las pruebas de normalidad encontramos la prueba de **Shapiro-Wilk**, es un contraste de normalidad utilizado para demostrar si ciertos datos determinados (X_1, X_2, \dots, X_n), fueron recolectados de una población normal, donde dichos parámetros de distribución no tienen por qué ser conocidos). El objetivo principal de esta prueba es determinar con base en la información suministrada por la muestra, si se puede decir que la población de origen sigue una distribución normal. El método consiste en ordenar la muestra de menor a mayor, obteniendo el nuevo vector muestral (X_1, X_2, \dots, X_n), siendo x_j el j -ésimo valor muestral tras haber ordenado los datos, posteriormente se procede a calcular el estadístico de contraste. Luego de determinar el estadístico W , se procede a tomar la decisión entre la hipótesis nula, la cual es: “la muestra proviene de una población normal” versus la hipótesis alternativa “la muestra no proviene de una población normal” (Jiménez, 2006).

La prueba de normalidad de **Ryan-Joiner** (similar a Shapiro-Wilk, según MINITAB® v. 17) evalúa la normalidad calculando la correlación entre los datos y las puntuaciones normales de los mismos. Si el coeficiente de correlación se encuentra cerca de 1, es probable que la población sea normal. Este estadístico evalúa la fuerza de esta correlación; si se encuentra por debajo del valor crítico apropiado, se rechaza la hipótesis nula de normalidad de la población (MINITAB® INC., 2017). Esta prueba es similar a la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, la cual fue descrita anteriormente.

De igual manera se realizó una prueba de homogeneidad de la varianza utilizando la **prueba de Bartlett**, la cual es la más común para probar la homogeneidad de la varianza. Cuando la hipótesis nula es cierta, el estadístico tiene distribución chi cuadrado χ^2 con $k - 1$ grados de libertad; cuando se realiza un muestreo en poblaciones normales la aproximación suele ser buena para muestras pequeñas. No requiere tamaño de muestras iguales y presenta sensibilidad a alejamientos del supuesto de normalidad. Cuando se tiene fuerte evidencia de que los datos

pertencen a una distribución normal la prueba de Bartlett tiene un buen desempeño (Correa *et al*, 2006).

Cálculo de la media general y varianzas

El método de análisis adoptado en la norma, en las secciones 7.2; 7.3 y 7.4, involucran la estimación de la media m y la precisión para cada nivel por separado. Los resultados de los cálculos son expresados en una tabla para cada valor de j .

Cálculo de la media general m_j

Para el nivel j , la media general se calcula como lo indica la Ecuación II.

$$m_j = \bar{y}_j = \frac{\sum_{i=1}^p n_{ij} \bar{y}_{ij}}{\sum_{i=1}^p n_{ij}} \quad (\text{Ecuación II})$$

Donde n_{ij} es el número de resultados de ensayos en la celda del laboratorio i al nivel j . \bar{y}_{ij} es la media de celda (calculada como lo indica la sección 7.2.9 de la norma COVENIN 2972-2: 1997).

Cálculo de varianzas

La varianza de repetibilidad (s_{rj}^2) se calcula como lo indica la Ecuación III.

$$s_{rj}^2 = \frac{\sum_{i=1}^p (n_{ij}-1) s_{ij}^2}{\sum_{i=1}^p (n_{ij}-1)} \quad (\text{Ecuación III})$$

Donde: s_{ij}^2 es la varianza entre celdas

La varianza entre laboratorios (s_{Lj}^2) se calcula como lo indica la Ecuación IV.

$$s_{Lj}^2 = \frac{s_{dj}^2 - s_{rj}^2}{\bar{n}_j} \quad (\text{Ecuación IV})$$

Donde: $s_{dj}^2 = \frac{1}{p-1} \sum_{i=1}^p n_{ij} (\bar{y}_{ij} - \bar{y}_j)^2$ (Ecuación V);

donde: $\bar{n}_{ij} = \frac{1}{p-1} \left[\sum_{i=1}^p n_{ij} - \frac{\sum_{i=1}^p n_{ij}^2}{\sum_{i=1}^p n_{ij}} \right]$ (Ecuación VI)

Nota: si, debido a efectos aleatorios, un valor negativo para esta varianza es obtenido de estos cálculos, el valor debe asumirse igual a cero.

La varianza de reproducibilidad (s_{Rj}^2) es: $s_{Rj}^2 = s_{rj}^2 + s_{Lj}^2$ (Ecuación VII)

Donde: s_{rj}^2 es la varianza de repetibilidad y s_{Lj}^2 es la varianza de interlaboratorio

Pruebas estadísticas para datos atípicos

Basados en las Normas COVENIN 2972-2:1997 se deben realizar una serie de pruebas para verificar la calidad de los datos suministrados por los laboratorios. A continuación, se colocan las secciones a las que esta norma hace mención a dichas pruebas. En este sentido, se llevó a cabo la **prueba de Cochran** en el laboratorio clínico que obtuvo mayor variabilidad, esta es utilizada para comprobar la igualdad de varias muestras en relación a una variable dicotómica. Dicha prueba es considerada equivalente a la prueba de Mc Nemar, pero en este caso para más de dos poblaciones; el contraste de la hipótesis posee como hipótesis nula la igualdad de proporciones (Correa *et al*, 2006).

El estadístico de prueba de Cochran (g), viene dado por:

$$g = \frac{\max\{s_i^2\}}{\sum_{i=1}^k s_i^2} \quad (\text{Ecuación VIII})$$

Donde: $\max\{s_i^2\}$, es la desviación estándar más alta en el conjunto.

Existen diversas pruebas estadísticas capaces de confirmar la sospecha de valor atípicos en una población, estas parten en el ordenamiento de los datos y la verificación de los valores extremos. Entre ellas se encuentra la **prueba de Grubb**, esta es útil para la toma de decisiones estadísticas en términos de aceptación y rechazo de valores atípicos. Verifica la desviación estándar de todas las medias, eliminando de todo el rango de distribución de valores las medias más altas y más bajas (Monrroy, 2005). Para poder llevar a cabo la prueba se procede principalmente a ordenar los datos de manera creciente para luego definir si el valor más pequeño o el más grande son sospechosos de ser atípicos, posteriormente se calcula la desviación estándar de todos los datos; se selecciona el riesgo a tomar para un falso rechazo. Se calcula el valor correspondiente para poder

compararlo luego con el valor tabulado y así verificar si el valor calculado con el riesgo definido es mayor que el valor tabulado.

De igual manera se utilizaron técnicas graficas de consistencia como los **estadísticos *h* y *k* de Mandel**, donde el estadístico *h* representa la consistencia interlaboratorio y el estadístico *k* representa la consistencia intralaboratorio. El análisis de los gráficos *h* y *k* pueden indicar que laboratorios específicos exhiben patrones de resultados que son diferentes de los otros en el estudio (COVENIN 2972-2:1997).

Dichos estadísticos vienen dados por las siguientes ecuaciones:

$$h_{ij} = \frac{\bar{y}_{ij} - \bar{\bar{y}}_i}{\sqrt{\frac{1}{p_j - 1} \sum_{i=1}^{p_j} (\bar{y}_{ij} - \bar{\bar{y}}_j)^2}} \quad (\text{Ecuación IX}) \quad k_{ij} = \frac{s_{ij} \sqrt{p_j}}{\sqrt{\sum s_{ij}^2}} \quad (\text{Ecuación X})$$

Métodos para la determinación de la repetibilidad y reproducibilidad

Los métodos aceptables para la determinación de estudios de repetibilidad y reproducibilidad se basan en la evaluación estadística de las dispersiones de los resultados, ya sea en forma de rango estadístico (máximo - mínimo) o su representación como varianzas o desviaciones estándar, estos métodos son:

Rango

Este método permite una rápida aproximación a la variabilidad de las mediciones, no descompone la variabilidad en repetibilidad y reproducibilidad, su aplicación típica es como el método rápido para verificar si la relación de repetibilidad y reproducibilidad no ha cambiado. Measurement Systems Analysis –MSA- (2010), indica que es capaz de detectar sistemas de medición no aceptables el 80 % de las veces con una muestra de solo 5 mediciones y el 90 % de las veces con una muestra de apenas 10 mediciones.

Promedio y Rango

Este método permite una estimación tanto de repetibilidad como reproducibilidad, sin embargo, no permite conocer su interacción, esta interacción entre la repetibilidad y la reproducibilidad o

entre el instrumento y el operador puede conocerse en caso de que exista con el método del análisis de la varianza.

En cuanto a la **interpretación de los resultados** obtenidos de la repetibilidad y reproducibilidad mediante este método, se toman en cuenta ciertos criterios, los cuales se encuentran descritos en la investigación de Llamosa *et al.*, 2007, siendo los que se describen a continuación:

- Si $\% R$ y $R < 10\%$ el sistema de medición es considerado como aceptable.
- Si $10\% \leq \% R$ y $R < 30\%$ el sistema de medición puede ser considerado aceptable según su uso, aplicación, costo del instrumento de medición, costo de reparación.
- Si $\% R$ y $R > 30\%$ el sistema de medición es considerado como no aceptable, es decir que se requiere de mejoras en cuanto a los operadores, equipos, métodos, condiciones, entre otros factores.

Posterior a realizar el análisis de la información que resulta del estudio de repetibilidad y reproducibilidad, es posible evaluar los factores que generan la variación del sistema o del instrumento, de allí los siguientes criterios (Llamosa *et al.*, 2007):

- Si la repetibilidad es mayor a la reproducibilidad, existen las siguientes posibles causas:
 - (a) Es posible que el instrumento necesita mantenimiento.
 - (b) El equipo requiere ser rediseñado para ser más rígido.
 - (c) El montaje o ubicación donde se realizan las mediciones necesita ser mejorado y/o, existe una variabilidad excesiva entre las partes.
- Si la reproducibilidad es mayor que la repetibilidad, existen las siguientes posibles causas:
 - (a) El operador necesita adiestramiento en la utilización y manejo para leer el instrumento.
 - (b) Los datos arrojados por el instrumento no son claros.
 - (c) No se han mantenido condiciones de reproducibilidad (ambientales, montaje, ruidos, etc.)
 - (d) El instrumento de medición presenta deriva.

Análisis de la varianza (ANAVAR) (prueba de Bisel Derek)

Según Portuondo y Portuondo (2010), las ventajas de la técnica de ANAVAR comparada con el método de Promedio y Rango son:

Es posible manejar cualquier arreglo o estructura experimental,
Es posible estimar las varianzas más exactamente,
Se obtiene mayor información de los datos experimentales,
Permite conocer la interacción entre la repetibilidad y la reproducibilidad.

Las desventajas son que su computación numérica es más compleja, sin embargo, puede ser resuelta mediante el uso de herramientas de análisis de datos.

Análisis Numérico

El análisis numérico se realiza mediante el cálculo de las componentes individuales de repetibilidad y reproducibilidad, para posteriormente obtener la combinación de repetibilidad y reproducibilidad como la raíz cuadrada de la suma de varianzas de repetibilidad (variabilidad interna promedio) y reproducibilidad (variabilidad entre condiciones). Al analizar la información que arroja el estudio de repetibilidad y reproducibilidad es posible evaluar las causas que originan la variación del sistema, o sus componentes.

La norma ISO 15189:2007

Esta norma, es dedicada directamente a los laboratorios de análisis clínicos en la cual se especifican los requisitos generales para su competencia técnica. Este documento establece que los laboratorios clínicos son esenciales para el cuidado de los pacientes, por lo tanto, deben estar disponibles para cubrir las necesidades de todos los pacientes y del personal clínico responsable del cuidado de dichos pacientes. Entre los servicios dispuestos por estas organizaciones, se incluyen las solicitudes de evaluación, preparación e identificación del paciente, recolección y transporte de muestras para su posterior almacenamiento y análisis. Adicionalmente, se debe garantizar la correcta interpretación, validación, reporte y notificaciones subsecuentes, guardando las consideraciones de seguridad y ética en el trabajo del laboratorio clínico.

Para finalizar con el apartado teórico, es importante definir **diagrama de flujo**, el cual es una de las herramientas fundamentales para la identificación de las etapas claves del proceso, este representa gráficamente un proceso determinado. Cada etapa es representada mediante un símbolo específico, el cual posee una breve descripción de dicha etapa. Dichos símbolos están unidos por flechas las cuales indican el sentido o dirección del proceso, esta herramienta busca facilitar la

rápida comprensión de cada etapa y su relación con las demás, teniendo en cuenta que existen casos en donde pueden desarrollarse dos etapas al mismo tiempo, es decir gráficamente se colocan las figuras correspondientes una dentro de la otra y de esta manera generar una operación combinada (Martínez, 2005) (Figura 4).

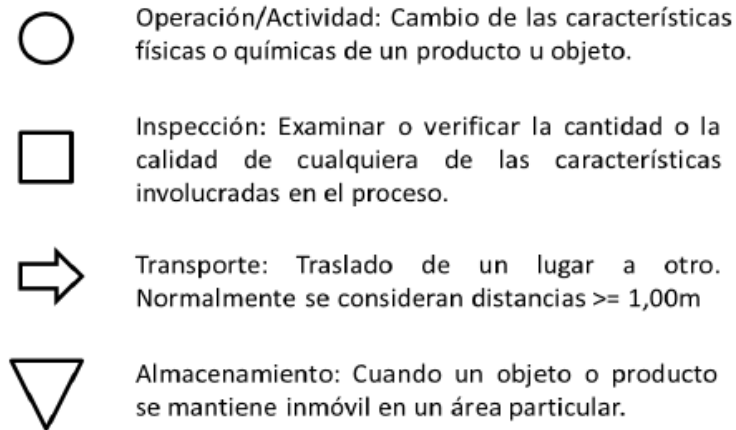


Figura 4. Simbología empleada para la elaboración de los diagramas de flujo.
Fuente: Martínez, 2005.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Luego de identificar el problema, se debió conocer la metodología que permitió a los investigadores alcanzar los objetivos de la investigación, para esto, se recurrió al desarrollo del marco metodológico, el cual integra el conjunto de pasos, técnicas y procedimientos empleados para formular y dar soluciones al problema planteado (Arias, 2006). En la presente sección, se determina el tipo y diseño de la investigación, la unidad de análisis, la muestra, la población, las técnicas e instrumentos utilizados para la recolección de datos, las técnicas de procesamiento y el análisis de la información y por último las fases metodológicas que permitieron lograr el cumplimiento del objetivo de la investigación.

3.1. Tipo de Investigación

El presente estudio, se enmarcó bajo la modalidad evaluativa, en donde se buscó ajustar los resultados de uno o más programas que se utilizan, o estén siendo utilizados, en un contexto determinado (Hurtado, 2012). En este sentido, el presente trabajo, tuvo como finalidad evaluar las condiciones de repetibilidad y reproducibilidad para la producción de discos de antibióticos elaborados por los laboratorios MLAB C.A. y EMES C.A., basados en la norma venezolana COVENIN 2972-2:1997, mediante la implementación de métodos y procesos para la recolección de datos, a través de la aplicación de un experimento colaborativo de evaluación. El desarrollo de los ensayos anteriores, permitieron obtener los datos para la comparación y evaluación de los resultados, con los valores referenciales indicados en las normas relacionadas con la materia. Lo antes explicado se realizó, con la finalidad de obtener un proceso de elaboración de discos de antibióticos, que no perjudiquen la calidad de las pruebas y garanticen la debida confiabilidad en los resultados, representando un porcentaje de ahorro considerable para la organización y flexibilidad frente a cambios en el contexto del mercado venezolano.

3.2. Nivel de la investigación

La misma, estuvo respaldada en un nivel explicativo, en donde su fin giró en torno a recolectar una serie de datos, para luego analizarlos e interpretarlos mediante antecedentes teóricos que fundamentaron dicho proceso investigativo (Arias, 2006). En el presente trabajo, se evaluaron los efectos que poseen las condiciones establecidas para el proceso de elaboración de discos de antibióticos, por lo cual se desarrolló un experimento colaborativo de evaluación, en un estudio de las condiciones de repetibilidad y reproducibilidad, tal y como lo establece la norma venezolana COVENIN 2972-2: 1997.

3.3. Diseño de la Investigación

Este estudio fue de tipo experimental, dado que se basó en la recolección de información directamente del proceso de elaboración de discos de antibióticos y su posterior aplicación en los respectivos antibiogramas, por parte de los investigadores, controlando las condiciones del estudio, tal y como lo establece la norma COVENIN 2972-2: 1997 (Arias, 2006). Para la determinación de la repetibilidad y la reproducibilidad en la elaboración de los discos de antibiótico, mediante experimento colaborativo de evaluación, se realizaron ensayos que tuvieron como fin medir y obtener datos, los cuales se compararon con los factores asociados a los operarios encargados de aplicar las pruebas y las condiciones donde se desarrollaron las mismas. De esta manera, se procedió a comparar con la norma, las condiciones de repetibilidad y reproducibilidad, que mejor se ajustaron en los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.

3.4. Unidad de análisis, población y muestra

La unidad de análisis, estuvo dada por el proceso de elaboración de los discos producidos en los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A., donde se evaluaron las condiciones de repetibilidad y reproducibilidad según la norma venezolana COVENIN 2972-2:1997. La población de estudio estuvo definida por la cantidad de pruebas de antibiograma para el control de los discos realizados en cada organización, siendo estas 24 pruebas por cada organización, de las cuales 20 son antibiogramas y 4 son placas de control, para un total de 48 pruebas. Se realizó un estudio censal debido a que con este fue posible estudiar todos los elementos de la población (antibiogramas), ya que la población es pequeña, el tiempo requerido para evaluar la variable respuesta es corto, no se

incurrió en grandes costos de evaluación y finalmente las características apreciadas tuvieron un comportamiento homogéneo, por el hecho de que se desarrollaron laboratorios, donde se controlan al máximo las condiciones que interfieren sobre la respuesta (Martínez, 2012).

3.5. Fases Metodológicas

Para el desarrollo esta investigación, se llevaron a cabo una serie de fases, que se realizaron de manera consecutiva, tal y como lo indican los objetivos establecidos para el estudio. Las mismas, se describen en la Figura 5.

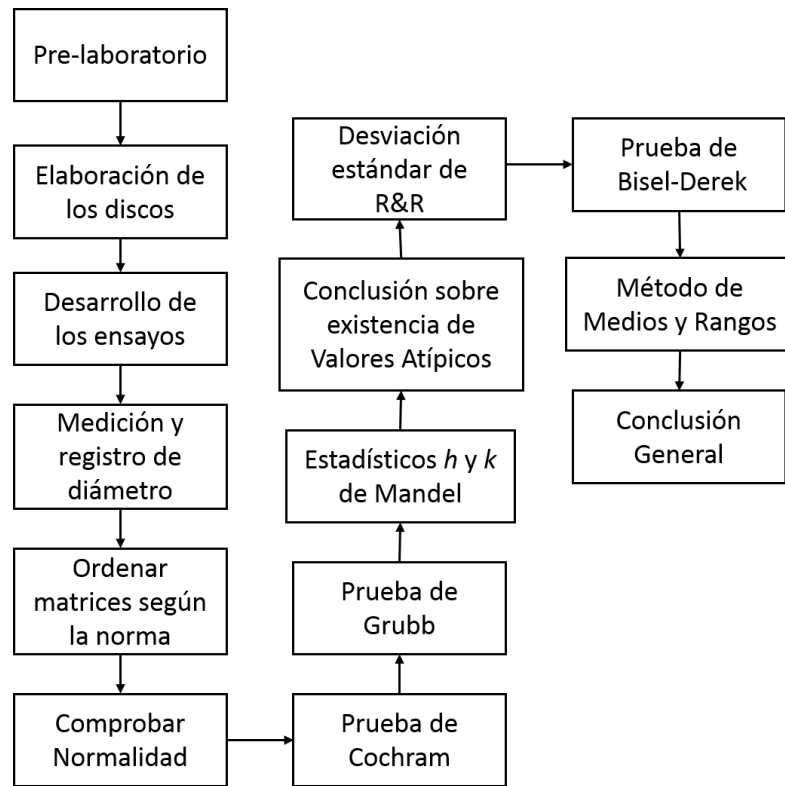


Figura 5. Esquema de trabajo para el desarrollo de las fases de la investigación.

3.5.1. Fase I. Identificar el método de preparación de los discos para antibiograma elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.

En esta fase, se recopiló la información asociada al proceso de elaboración de los discos de antibiótico de ciprofloxacina, usando como fuente primaria la observación directa y la aplicación de

entrevistas no estructuradas, a los profesionales en bioanálisis de las organizaciones donde se desarrollaron los experimentos, que derivaron en un registro anecdótico. Posteriormente, se identificaron los pasos para la elaboración de discos de antibiótico, y de la misma manera, se reconocieron las condiciones requeridas *in situ* para garantizar la higiene, así como otros requisitos de calidad del proceso, tal como lo indica la norma ISO 15189:2007.

Los investigadores realizaron un informe descriptivo con el procedimiento y las condiciones a tener en cuenta durante el proceso de elaboración de discos. También se complementó lo observado, mediante el uso de fuentes secundarias, tales como la revisión documental, trabajos de grado, libros, revistas científicas especializadas, entre otras, de información relacionada con la investigación.

Finalmente, se procedió a elaborar los discos de antibióticos, en las instalaciones del laboratorio clínico MLAB C.A., debido a que éste cuenta con los equipos e infraestructura necesarios para tal procedimiento. En tal sentido, se empleó como fuente secundaria de información, una revisión documental en libros y revistas científicas especializadas, que describieron los procedimientos para la producción de los discos de antibióticos, así como los estándares de calidad que deben cumplir los mismos para su correcto funcionamiento. Los investigadores desarrollaron informes descriptivos, estableciendo un diagrama de flujo de proceso que incluye la descripción de este de manera explícita.

3.5.2. Fase II. Reconocer las condiciones de repetibilidad y reproducibilidad en la producción de discos de antibióticos elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.

Para dar seguridad del compromiso de las organizaciones con este trabajo y los investigadores, se aplicó el instrumento estructurado para la participación de laboratorios que sugiere la norma COVENIN 2972-2:1997 en su apartado 5.3 “Cuestionario para un ensayo interlaboratorios” (Anexo A), que establece cumplir con las fechas, equipos y suministros necesarios para llevar a cabo la investigación.

Una vez producidos los discos, se llevaron a cabo los ensayos de precisión sobre los 48 antibiogramas, para las pruebas de repetibilidad y reproducibilidad. Se realizó un ensayo de

precisión, mediante la ejecución de un experimento colaborativo de evaluación, mediante el método identificado previamente. Dichas pruebas fueron desarrolladas en placas petri, que contenían una cepa bacteriana estándar de estafilococo dorado (*S. aureus* subsp *aureus*) ATCC® 6538.

La razón por la que se utilizó una cepa controlada, es porque éstas tienen factores ajustados y tabulados, que se utilizaron para la evaluación y verificación del funcionamiento de los discos. De la misma manera, se sirvieron placas con discos comerciales (placas control del patógeno), donde se evaluaron por medio de instrumentos, entre ellos un calibrador de corredera (vernier o pie de rey), los resultados de los ensayos, que demarcaron el diámetro del halo del agente antimicrobiano sobre la cepa en cuestión, y una placa con la cepa sin discos, para demostrar el correcto crecimiento de *S. aureus* subsp *aureus*.

Para el reconocimiento de las condiciones de repetibilidad, cada operario en un laboratorio correspondiente ejecutó un ensayo de evaluación de los discos diseñados para la elaboración de los antibiogramas, exactamente bajo las mismas condiciones. A los fines, se preparó una placa de petri control, en la cual solo se colocó la cepa bacteriana sin discos, con el fin de comprobar el correcto funcionamiento del microorganismo patógeno. También, se elaboró una prueba considerando la colocación de tres (03) discos comerciales en un solo antibiograma, y finalmente se prepararon los cuatro antibiogramas con los cuatro (04) discos producidos por los investigadores, luego se procedió a incubar las placas bajo condiciones de temperatura controlada a 37°C. Los ensayos, finalizaron a las 24 horas, debido que es el tiempo de incubación de las placas para el estudio de antibiograma.

Posteriormente, se procedieron a hacer las respectivas mediciones del halo de inhibición, con ayuda del calibrador de corredera, y se registró el diámetro del halo inhibitorio. Una vez que se realizó la correspondiente medición, el mismo operario, en el mismo laboratorio, realizó el mismo procedimiento en otro lote, tal cual como se describió anteriormente. Todos estos procesos se realizaron bajo las condiciones de higiene y competencias técnicas que denota la norma ISO 15189:2007, garantizando la calidad dentro de los procesos en los laboratorios clínicos.

Obtenidos los resultados de repetibilidad, se procedió a realizar el estudio de las condiciones de reproducibilidad. En este sentido, el operario que se encontraba en el laboratorio 1 se trasladó al

laboratorio 2, y viceversa. Ambos operarios, debieron realizar detalladamente los procedimientos antes descritos. Para todos los casos se buscó lograr resultados similares y consistentes, sin importar que se cambien los operarios y/o los laboratorios (Figura 6).

En la presente fase, se aplicó la observación directa, revisión documental y recopilación de información, además de utilizar las técnicas de medición establecidas por las organizaciones y las normas. Finalmente, se presentaron los resultados en tablas comparativas elaboradas por los investigadores.

3.5.3. Fase III. Comparar los resultados obtenidos de los ensayos de repetibilidad y reproducibilidad en la producción de discos de antibióticos de acuerdo a la norma venezolana COVENIN 2972-2:1997 elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.

En esta fase, se llevaron a cabo los análisis estadísticos descritos en detalle en el apartado 7.2.7: “Resultados de ensayo de nivel uniforme balanceado” de la norma venezolana COVENIN 2972-2:1997, el cual expresa el modelo a estudiar para la comparación de los resultados obtenidos en los ensayos. Lo anterior, permitió realizar un examen crítico de los datos obtenidos con la finalidad de identificar valores atípicos, de igual manera se establecieron valores finales de precisión. Para ello se aplicaron métodos y pruebas estadísticas como la prueba de normalidad, Cochran y Grubb; se calcularon los estadísticos h y k de Mandel como técnica de consistencia gráfica, el cálculo de desviación estándar para repetibilidad y reproducibilidad. Seguido de una comparación de estos mediante los métodos de Bisel-Derek y el método de medias y rangos. Este grupo de pruebas fueron ejecutadas utilizando los paquetes estadísticos apropiados y los resultados se presentaron en tablas de elaboración propia mediante el uso de la hoja de cálculo.

3.6. Técnicas para la Recolección de la Información

Para el desarrollo de la investigación se realizó un registro de información obtenida a través de la observación directa, la cual se refiere al investigador, este observa y recoge datos mediante su propia visualización, es decir, que los investigadores se encontraron en contacto directo con el proceso de elaboración de los discos de antibiótico y posterior utilización (Rodríguez, 2005). Por otra parte, se utilizó la entrevista no estructurada como instrumento de recolección de datos, el cual se caracteriza por la recolección de los mismos de manera espontánea sin ninguna especie de guion

previo, se realizaron en las reuniones con el personal profesional de las organizaciones con fines propios para la investigación (Arias, 2006).

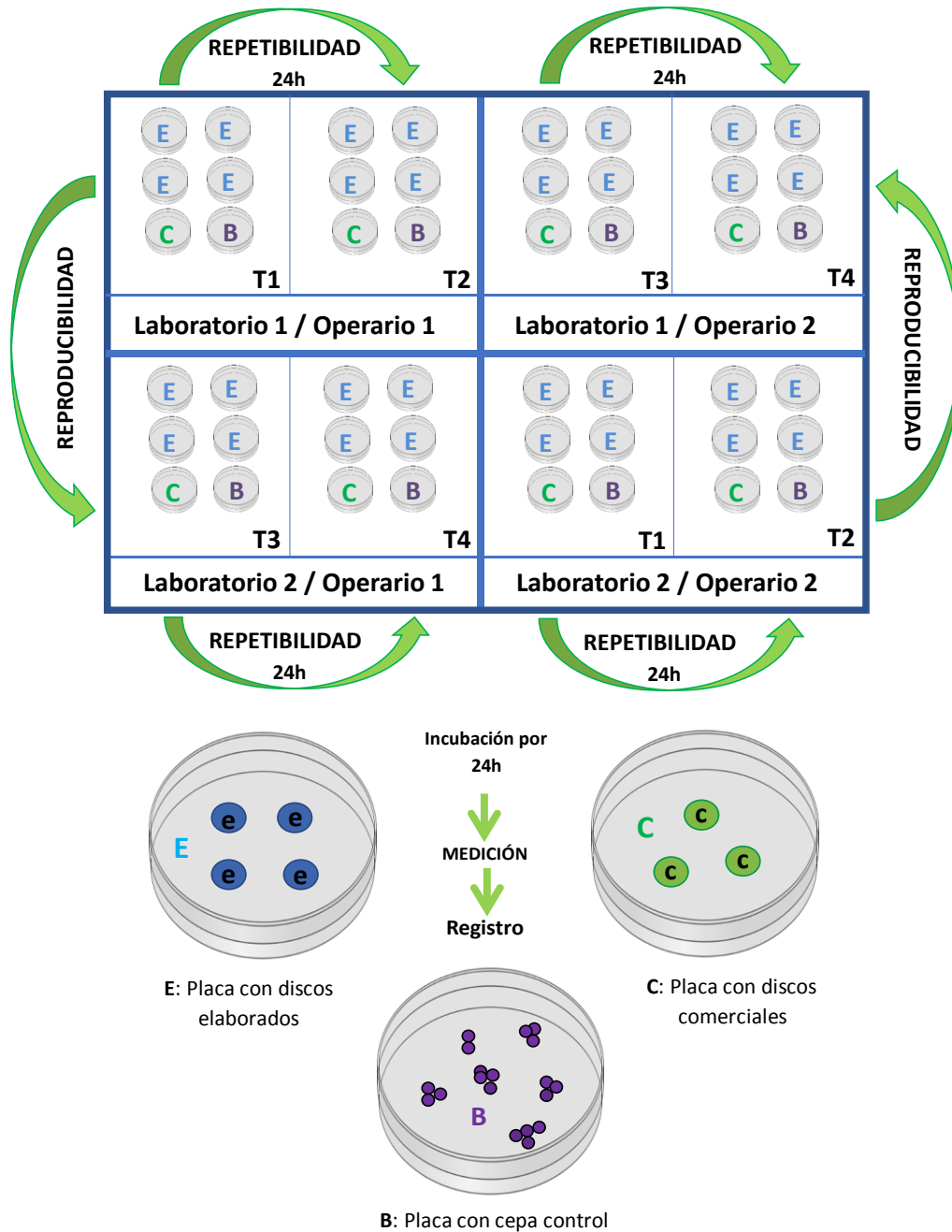


Figura 6. Esquema general para la realización de los ensayos en el estudio de la repetibilidad y reproducibilidad en la producción de discos de antibióticos elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.

Otra de las fuentes de recolección de información fue la implementación de un cuestionario establecido por la norma COVENIN 2972-2:1997, para el estudio de un ensayo interlaboratorios. Según Hurtado (2012), un cuestionario consiste en una serie de preguntas relacionadas a un evento, temática o situación en específico, sobre el cual el investigador requiere información necesaria para el desarrollo de un estudio. Por último, para complementar información se implementó la revisión documental y de esa manera se verificó con la documentación suministrada por la organización y los propios investigadores información importante sobre el trabajo de investigación.

3.7. Técnicas para el Análisis y Presentación de la Información

Para el análisis de la información obtenida en el desarrollo de la investigación se aplicaron diversas técnicas de medición asociadas a las condiciones de elaboración y utilización de los discos de antibióticos, desde cálculos matemáticos hasta evaluaciones estadísticas mediante la utilización del software informático MINITAB® y hoja de cálculo, que garantizaron la correcta evaluación de la información.

CAPÍTULO IV

PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1. Fase I. Identificar el método de preparación de los discos para antibiograma elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.

La elaboración de los discos de antibióticos, involucraron una cantidad de pasos en donde en cada etapa se pudieron evidenciar los factores protagonistas y los elementos claves de tal proceso (Figura 7). El mismo, inició con la elección del papel filtro, donde se evaluó la calidad del mismo, mediante el espesor, capacidad de absorción, color y resistencia al corte. Esta última prueba, se realizó haciendo un pequeño corte y rasgado del papel, observando la cantidad de hebras largas que quedan luego de la prueba, de existir una cantidad de hebras mayor a tres, los discos de ese lote serán rechazados.

Una vez definido el papel, se procedió a su preparación, para ello, el proceso se llevó a cabo en un lugar seguro, específicamente en el área de microbiología y parasitología del laboratorio clínico MLAB, dado que este posee las condiciones controladas e idóneas de humedad y temperatura. Se usaron los implementos correctos para la elaboración de los discos, los cuales previamente fueron esterilizados en autoclave, así como se utilizaron los implementos de higiene para mantener las condiciones ambientales dentro de un laboratorio clínico (bata de laboratorio, guantes de látex, gorro desechable y tapabocas), tal como lo establece la norma ISO 15189: 2007, en su apartado 5.3 “Instalaciones y condiciones ambientales”.

Luego de tomar las medidas de higiene y seguridad, se cortaron los papeles de filtro en círculos de 6 mm de diámetro con ayuda de un sacabocados (abre huecos). De manera simultánea, se realizaba una inspección visual para aceptación o rechazo de los discos, verificando la forma, el diámetro y cantidad de hebras de papel luego del corte, rechazando cualquier disco que presentara anomalías, tales como mal corte y/o rasgaduras, y no pudiera cumplir con la función para la cual fueron diseñados. Los discos rechazados, fueron descartados.

Los discos aceptados, se ubicaron de manera ordenada en placas de Petri (Figura 8), que luego fueron tapadas y debidamente marcadas con cinta de comprobación de esterilidad (Figura 9). Se tuvo en cuenta la manera de ubicar los discos dentro de las placas de Petri, disponer de ellos en una ubicación que permitiera contarlos y de esa manera tener mayor control al momento de realizar la operación 4 de la Figura 7. Luego de ordenados se llevaron a esterilizar con calor seco, a un autoclave tipo estufa, a 140 °C por un lapso de 2 horas.

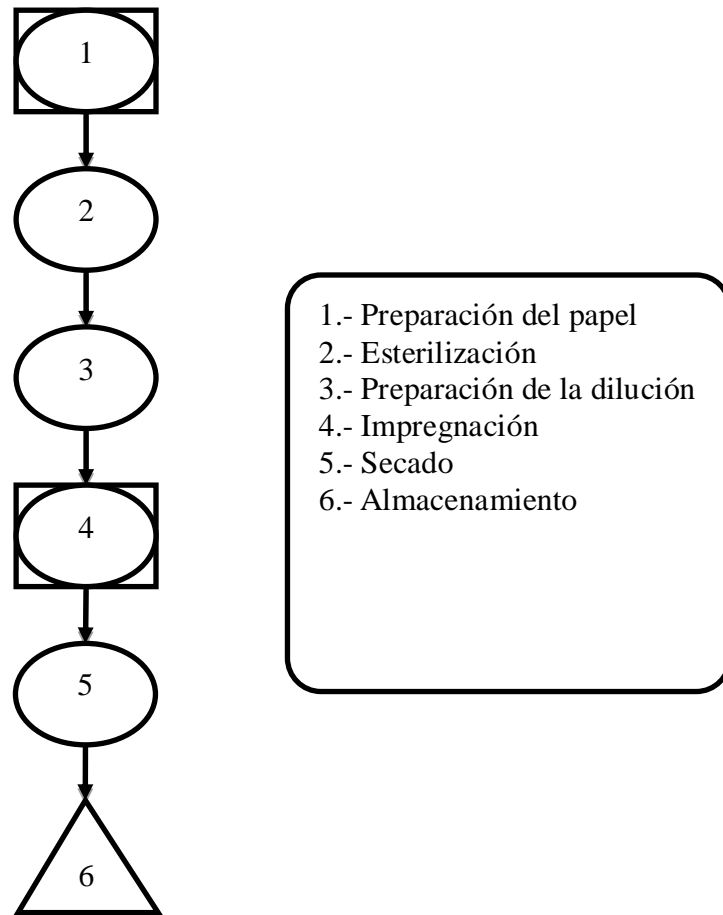


Figura 7. Diagrama de flujo de proceso para la elaboración de discos de antibiótico en los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.

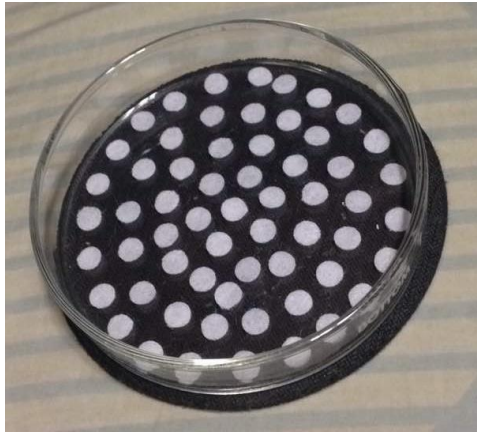


Figura 8. Discos organizados en placa de Petri.

Para preparar la solución de concentración conocida de $5\mu\text{g}$ de agente antimicrobiano, se realizó una dilución tomando en cuenta la capacidad de absorción por disco. En el desarrollo de la preparación de la dilución se utilizó una solución madre de ciprofloxacina de 400mg de agente antimicrobiano en 200ml de solución (2mg/ml). Se realizaron los cálculos en proporción a la cantidad de discos que existía y a su capacidad de absorción. Realizados los cálculos correspondientes, se prepararon los instrumentos de vidrio del laboratorio, debidamente higienizados, para preparar la dilución. Para ello, se utilizó un matraz aforado de 50ml , pipetas de 1ml y 5ml , pipetas de $1\mu\text{l}$ y $5\mu\text{l}$, propipeta, recipiente de vidrio con tapón (estériles), puntas para micropipeta (amarillas) y pinza.



Figura 9. Cinta de comprobación de esterilidad.

Se midieron en las pipetas las cantidades de agente antimicrobiano y de solvente necesarios para conseguir la concentración deseada. En el matraz aforado fue añadida la cantidad requerida de solvente, luego agitando de manera constante, se agregó también la cantidad de antibiótico, sin dejar de agitar mientras se añadía, para conseguir que la solución fuera homogénea. Al tener la solución se depositó con mucho cuidado en un recipiente con tapón previamente esterilizado.

Una vez preparada la dilución, sobre los discos estériles y luego que estos perdieran el calor de la estufa, se realizó la impregnación del papel con la dilución, formándose entonces los discos de antibiótico. Se mantuvo higienizado el espacio y se verificó el uso de los implementos de laboratorio, para así evitar cualquier tipo de contaminación cruzada y garantizar la calidad. Para llevar a cabo esta etapa se esterilizó la punta de una pinza, con el calor directo de la llama del mechero, la función de esta era mover los discos, con el fin de acomodarlos en las placas de Petri a disposición. Se utilizó una micropipeta calibrada, que fue graduada previamente con la cantidad de solución que se requería debido a la capacidad de absorción, de igual manera se utilizaron puntas amarillas descartables, por la precisión que ameritaba, debido a que la cantidad a descargar sobre los discos fue pequeña.

Al tener los discos ubicados de manera que se podía realizar un seguimiento, para así garantizar la impregnación de cada uno de ellos, se inició el proceso de impregnación. Tomando la micropipeta con punta amarilla la solución y vaciándola sobre cada uno de los discos, llevando un control e inspección, pues de suponerse la existencia de algún disco sin agente antimicrobiano, debían descartarse. Se evitó impregnar un disco con solución dos veces. Una vez que se tuvo la certeza de que todos los discos del lote se encontraban impregnados, se procedió al secado por calor, se taparon las placas de Petri y estas se envolvieron con papel plástico, para luego ser depositadas dentro de la incubadora de laboratorio a temperatura controlada de 35 °C por 24 horas (Figura 10).



Figura 10. Incubadora de laboratorio para el secado de los discos de antibióticos elaborados.

Al culminar el proceso de secado, con ayuda de la pinza estéril, se movilizaron los discos a unos recipientes, previamente esterilizados, con tapón para evitar el ingreso de humedad (Figura 11). Como último paso del proceso, se almacenaron los discos en nevera a temperaturas 14 a 24 °C. Al momento de usarlos deben dejarse reposar tapados fuera de nevera, dentro de la campana de flujo laminar encendida, hasta llegar a temperatura ambiente.



Figura 11. Recipiente con tapa estéril para el almacenamiento de los discos de antibióticos elaborados.

Finalmente, se creó un archivo donde una vez almacenados los discos, este se debe llenar para seguimiento de la identificación del lote (Anexo B), suministrando la información correspondiente a cantidad de discos elaborados, dilución, fecha y hora, responsable, tiempos y temperatura de esterilización y secado. Tal y como lo establece la norma ISO 15189: 2007 en su apartado 4.13 “Registros técnicos y de la calidad”. En aras de mantener la calidad y poder llevar un

seguimiento acertado del lote, de la misma manera el laboratorio mantendrá una muestra de un recipiente con 50 discos del lote a -20°C como testigo.

4.2. Fase II. Reconocer las condiciones de repetibilidad y reproducibilidad en la producción de discos de antibióticos elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.

Como compromiso de las organizaciones con la investigación y siguiendo con los procedimientos que establece la norma venezolana COVENIN 2972-2:1997 en su apartado 5.3 se aplicó el “Cuestionario para un ensayo interlaboratorios”, en ambas organizaciones (Anexos C y D); donde estas adquirieron el compromiso con los autores del trabajo, de suministrar todo el material necesario para llevar a cabo los ensayos necesarios en el proceso investigativo. Dentro de ello se encontraba la cantidad de 48 placas de Petri, incluido el agar Mueller Hinton en cada una de ellas; materiales para la elaboración de un lote de 200 discos de ciprofloxacina 5µg, 24 discos de antibióticos comerciales de ciprofloxacina 5µg y la cepa controlada de *Staphylococcus aureus* subsp *aureus* ATCC® 6538 (Anexo E). Así como también el material para el manejo y la realización de los antibiogramas requeridos para los ensayos, incluyendo los instrumentos de medición.

De la misma manera las organizaciones se comprometieron a aportar todos los implementos para higiene y seguridad en el laboratorio. Dejando claro el compromiso con la investigación, proporcionando información documental y prestando apoyo a los autores del trabajo. Se establecieron fechas para ingreso al laboratorio las cuales fueron respetadas y los ensayos pudieron llevarse a cabo según la planificación debido a que los espacios contaban con los requisitos específicos de los laboratorios clínicos contemplados en la norma ISO 15189: 2007 en su apartado 5.3 “Instalaciones y condiciones ambientales”.

Dicha planificación se estableció mediante un “Esquema general para la realización de los ensayos en el estudio de la repetibilidad y reproducibilidad en la producción de discos de antibióticos elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.” (Figura 7). Para llevar a cabo los ensayos en donde se estudió la repetibilidad y reproducibilidad en los discos de antibióticos elaborados, se prepararon previamente los insumos. Entre ellos, las placas de petri servidas con el medio de cultivo, agar Mueller-Hinton, las cuales permanecieron preservadas en refrigeración a una temperatura no mayor a 15°C. Es importante acotar que cada laboratorio

proporcionó una holgura de 6 placas con agar para solventar cualquier contaminación o eventualidad que pudiera presentarse al momento de llevar a cabo las pruebas; aunque ese no fue el caso.

Una vez que se dispuso de todos los implementos e insumos necesarios, se establecieron los operarios como Operario A y Operario B, realizándose de manera aleatoria la asignación del primer laboratorio donde el operario correspondiente desarrolló las pruebas. Manteniendo las practicas que establece la norma ISO 15189:2007 “Laboratorio Clínico, requisitos particulares para la calidad y la competencia” en su sección 5.4 “Procedimientos de Pre-análisis” y de la misma manera la 5.5 “Procedimientos de análisis”.

El ensayo

Los ensayos o antibiogramas que fueron realizados por cada uno de los operadores en ambos laboratorios, consistieron en efectuar la incubación de la cepa bacteriana *S. aureus* ATCC® 6538 (Figura 12) en lotes de seis placas o medios de cultivo (Placa de Petri servida con agar Mueller Hinton) por cada operador. Para cada lote de seis placas, la primera correspondía al control de la bacteria misma, esta fue llamada en cada lote placa control, la siguiente fue una placa donde se colocaron tres discos de antibiótico comerciales de ciprofloxacina 5µg (Figura 13) para su posterior comparación con las cuatro últimas placas que correspondían a los antibiogramas a evaluar con cuatro de los discos de antibióticos elaborados por las organizaciones colocados en cada una de ellas.



Figura 12. Cepa bacteriana estafilococo dorado (*S. aureus*) ATCC® 6538.

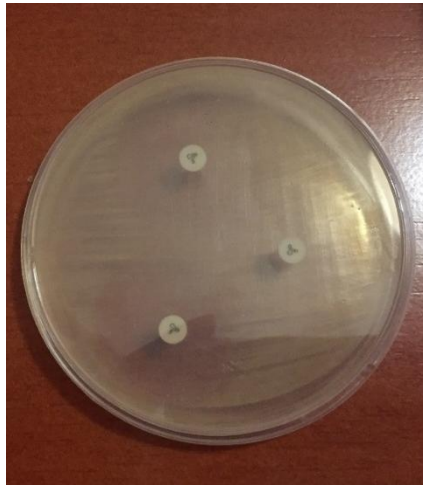


Figura 13. Antibiograma con discos comerciales.

Para realizar la incubación de la cepa de estafilococo dorado en las placas cada operador contaba con sus implementos de seguridad e higiene en el laboratorio y se encontraba en el área destinada para tal actividad (área de microbiología). Esta contaba con una temperatura controlada y el acceso estaba restringido a solo personal autorizado en el momento de la inoculación. El operario ubicado frente a una campana de gases (Figura 14), por seguridad y para evitar cualquier tipo de contaminación, trabajando dentro de esta y a su vez con un mechero de Bunsen, procedió a inocular cada una de las placas con una muestra de la cepa bacteriana tomada con un asa de siembra de metal estéril. Una vez tomada, la muestra fue depositada en un tubo con agar caldo nutritivo, este es un medio de pre enriquecimiento, el cual acelera el crecimiento de la bacteria sin afectar sus propiedades.

reconociendo así las condiciones de repetibilidad. Mientras que para cumplir este mismo objetivo el Operario B realizó el mismo procedimiento en el laboratorio EMES C.A.

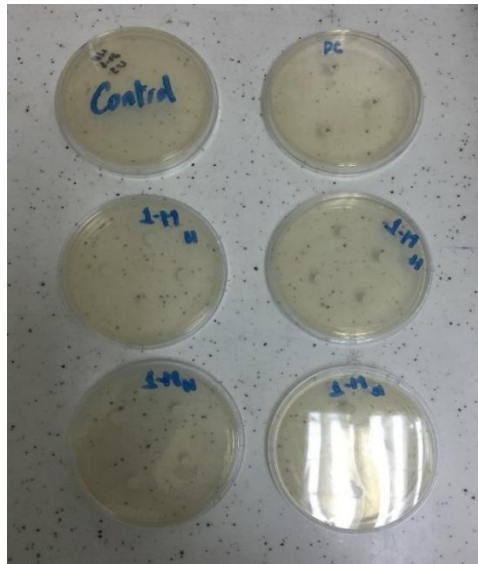


Figura 15. Lote 1-M correspondiente al Operario A en el laboratorio MLAB C.A.

Para el día tres cada operador debía ir al laboratorio correspondiente (operario A en MLAB C.A. y operario B en EMES C.A.) una vez transcurridas las 24 horas, a realizar la medición del segundo lote, luego de registrar las lecturas de los halos del segundo ensayo cada operario se trasladó hacia el laboratorio en el que no había trabajado hasta ese momento para el reconocimiento de las condiciones de reproducibilidad. Para ello el Operario A llevó a cabo su tercer lote de pruebas en el laboratorio EMES C.A. mientras el Operario B se trasladó a el laboratorio MLAB C.A. donde elaboró su tercer lote. El día 4 transcurridas las 24 horas de incubación ambos midieron y registraron las lecturas en los laboratorios ahora correspondientes y realizaron el cuarto y último lote de pruebas (Figura 16) para la condición de repetibilidad cada uno en el laboratorio correspondiente. Lote que fue medido y registrado el día cinco.



Figura 16. Antibiogramas luego del tiempo de incubación para lectura de los halos.

4.3. Fase III. Comparar los resultados obtenidos de los ensayos de repetibilidad y reproducibilidad en la producción de discos de antibióticos de acuerdo a la norma venezolana COVENIN 2972-2:1997 elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A.

Datos Originales

Los datos originales, se presentaron en la Tabla 1, de acuerdo con lo establecido en la forma A de la norma, ambos laboratorios arrojaron cuatro (04) observaciones y cuatro (04) repeticiones. Estos fueron medidos con un calibrador de corredera (vernier) considerando el diámetro del halo de inhibición.

Fuente:

Los datos fueron tomados, de acuerdo a las consideraciones expresadas en la norma ISO 15189:2007 para laboratorios clínicos y según lo estipulado en el estudio “Sensibilidad a los antibióticos (Producción de discos para pruebas de sensibilidad a los antibióticos)” de Cruz *et al.* (2007).

Comprobación de los supuestos para los análisis estadísticos

Prueba de normalidad

Se realizó la prueba de Ryan – Joiner (similar a Shapiro Wilk), en donde se estimaron los parámetros que la prueba requiere. Dicha prueba se aplicó debido a que es específica para contrastar

normalidad. Se logró un valor $p > 0,1000$, lo cual establece que los datos u observaciones están normalmente distribuidos y que pueden usarse los procedimientos tradicionales de la estadística paramétrica para su análisis (Anexo F).

Prueba de homogeneidad de la varianza

Para comprobar el supuesto de homogeneidad se aplicó la prueba de Barlett, dado que se midieron tres observaciones por tratamiento y que además tiene buen desempeño en poblaciones normales. Los resultados sugieren que se cumple el supuesto de homocedasticidad (valor p de 0,9840) (Anexo G).

Tabla 1. Tabla de datos originales organizados según la forma A de la norma COVENIN 2972-2:1997.

Repeticiones	1	2	3	4	5*
MLAB C.A.	27,275	27,9	27,45	27,55	29,0
	28,25	27,5	26,15	26,6	28,4
	26,225	26,65	26,5	26,1	27,86
	26,75	26,475	26,55	26,825	28,2
EMES C.A.	27,5	27,275	26,1	26,5	27,53
	26,45	27,8	26,4	26,95	28,22
	26,8	26,75	27,15	26,3	27,8
	27,05	27,7	28,25	27,8	28,6

* se corresponden con las repeticiones de los discos de antibiótico comerciales

Para el primer análisis con los dos laboratorios, se calcularon los estadísticos descriptivos media, varianza y desviación estándar, los cuales son presentados en las Tablas 2, 3 y 4, tal y como lo indica la norma COVENIN 2972-2:1997 en su apartado 7.4 “Cálculo de la media general y varianzas”.

Revisión para consistencia y datos atípicos.

Luego de realizar los cálculos para determinar los estadísticos descriptivos ya presentados, se procedió a aplicar la prueba de Cochran al laboratorio que presentó el mayor valor de varianza. Con un valor de 0,66 se determinó que el laboratorio donde existió mayor varianza fue MLAB C.A. Para $p=2$ y $n=4$, los valores tabulados son $C(1\%) = 0,979$, y $C(5\%) = 0,939$, valores que fueron obtenidos en el anexo “Tabla 4.- Valores críticos para la prueba de Cochran” de la norma

COVENIN 2972-2:1997 (Anexo H). Los valores calculados en las celdas con varianzas máximas fueron respectivamente $C= 0,79$ y $C=0,75$; como los valores calculados de C son menores que el valor tabulado de $C (5\%)=0,939$ se aceptaron los laboratorios, lo cual establece que no hubo indicios de la existencia de valores atípicos.

Tabla 2. Estadísticos descriptivos para los laboratorios MLAB C.A. y EMES C.A.

	Nivel j				Media	Varianza	Desv. Est.
	1	2	3	4			
MLAB C.A.	27,28	27,90	27,45	27,55	27,54	0,05	0,23
	28,25	27,50	26,15	26,60	27,13	0,66	0,81
	26,23	26,65	26,50	26,10	26,37	0,05	0,22
	26,75	26,48	26,55	26,83	26,65	0,02	0,14
EMES C.A.	27,50	27,28	26,10	26,50	26,84	0,32	0,57
	26,45	27,80	26,40	26,95	26,90	0,32	0,56
	26,80	26,75	27,15	26,30	26,75	0,09	0,30
	27,05	27,70	28,25	27,80	27,70	0,18	0,43

Tabla 3. Tabla de medias de celdas para los laboratorios MLAB C.A. y EMES C.A.

	Y _{ij}	n _{ij}	Y _{ij}	n _{ij}	Y _{ij}	n _{ij}	Y _{ij}	n _{ij}
MLAB C.A.	27,13	4	27,13	4	26,66	4	26,77	4
EMES C.A.	26,95	4	27,38	4	26,98	4	26,89	4

Tabla 4. Tabla de la desviación estándar para los laboratorios MLAB C.A. y EMES C.A.

	S _{ij}	n _{ij}	S _{ij}	n _{ij}	S _{ij}	n _{ij}	S _{ij}	n _{ij}
MLAB C.A.	0,75	4	0,59	4	0,48	4	0,52	4
EMES C.A.	0,38	4	0,41	4	0,83	4	0,58	4

Prueba de Grubb

Para la prueba de Grubb se ubicaron en la tabla correspondiente suministrada por la norma, los valores para los porcentajes 1% y 5%, los cuales están representados en la Tabla 5 como el valor Grubb tabulado junto a los valores calculados del estadístico para cada laboratorio (Anexo H). Estos se ordenaron de manera ascendente y se compararon según el apartado 7.3.4 de la norma llamado “Prueba de Grubb” donde para cada caso es menor el estadístico calculado que el tabulado,

aceptando los valores como correctos, lo que indica que no hay presencia de valores dudosos y atípicos individuales, ni en media de celda.

Tabla 5. Prueba estadística de Grubb para los laboratorios MLAB C.A. y EMES C.A.

	GC*	GT**	
MLAB C.A.	0,97	1,155	p= 3
EMES C.A.	-1,03	0	

*Grubb calculado **Grubb tabulado

Una vez calculadas las varianzas para la prueba de Grubb se realizaron los cálculos de las desviaciones estándar de repetibilidad y reproducibilidad como se muestra en la Tabla 5.

Basados en los análisis estadísticos realizados anteriormente, se puede inferir que en el estudio de medición de los halos de inhibición formados alrededor de los discos de antibióticos de ciprofloxacina de 5µg elaborados por los laboratorios EMES C.A. y MLAB C.A. no hay presencia de datos atípicos o dudosos.

Estadísticos *h* y *k* de Mandel

Se llevó a cabo la técnica de consistencia gráfica interlaboratorios e intralaboratorios por medio de los estadísticos *h* y *k* de Mandel representados en las Figuras 17 y 18.

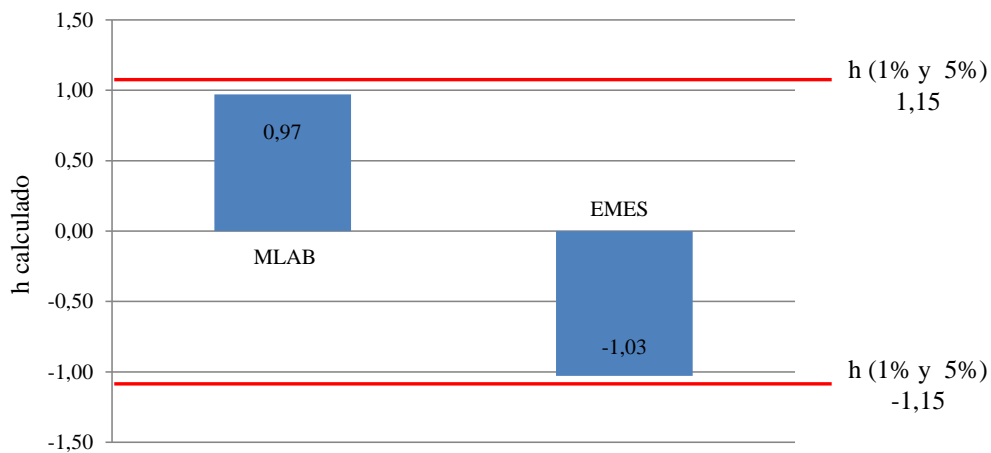


Figura 2. Representación del estadístico de consistencia interlaboratorio *h*.

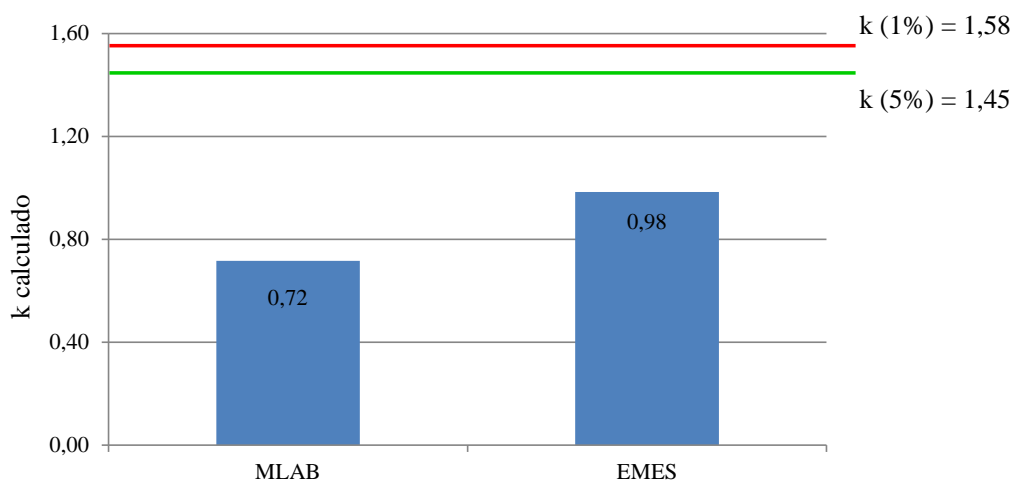


Figura 3. Representación del estadístico de consistencia intralaboratorio k .

El examen de los gráficos de h y k , muestra que para ambos laboratorios los resultados que se encuentran dentro de los límites que establece la norma, según los valores tabulados para 1% y 5%. Por lo tanto, se puede asegurar que ambos laboratorios no exhibieron específicos patrones de resultados; por lo antes expuesto, se puede señalar que las organizaciones no son marcadamente diferentes entre ellas, desde el punto de vista estadístico, en términos de aplicación de la prueba de antibiogramas.

Una vez realizado los estudios generales que permitieron discernir que no existen datos atípicos, dudosos, ni fuera de rango, se realizaron los análisis estadísticos para determinar diferencias posibles entre operarios (repetibilidad) y laboratorio (reproducibilidad). Al respecto, se hizo inicialmente un estudio de análisis de la varianza, luego se realizó el estudio de la repetibilidad y reproducibilidad como lo establece la norma COVENIN 2972-2: 1997 y finalmente se desarrolló el estudio repetibilidad y reproducibilidad por el método de medias y rangos.

Método basado en el análisis de la varianza (Prueba de Bisel Derek)

Botero *et al.* (2007), establecen que el análisis de la varianza, es el método más exacto para calcular la variabilidad dentro de un proceso, porque posee la ventaja de cuantificar la variación debida a los operadores y las partes. Este método se basa en la misma técnica estadística utilizada para analizar los efectos de los diferentes factores en el diseño de experimentos, en el cual se estudian los efectos de dos fuentes de variación: operadores y partes, en este caso laboratorios.

Luego de la implementación de las herramientas y aplicación del software estadístico, se muestran en los resultados en la Tabla 6. Para su aplicación fue necesario establecer las siguientes hipótesis:

Para operarios (Tratamientos):

H₀: no existen diferencias entre operarios (O1=O2).

H₁: Existen diferencias entre operarios (O1≠O2).

Para laboratorios (Bloques):

H₀: no existen diferencias entre laboratorios (L1=L2).

H₁: Existen diferencias entre laboratorios (L1≠L2).

Tabla 6. Análisis de la Varianza (Prueba de Bisel Derek) para determinar diferencias entre laboratorios y operarios en MLAB C.A. y EMES C.A.

Fuente variación	GL ¹	SC ²	CM ³	F ⁴	P ⁵	F crítico ⁶
Laboratorios	1	0,128	0,128	0,30	0,586	
Operarios	1	0,064	0,064	0,15	0,701	4,183
Error	29	12,24	0,422			
Total	31	12,434				

Leyenda: ¹: grados de libertad, ²: Suma de cuadrados, ³: Cuadrado medio, ⁴: estadístico de Fisher Calculado, ⁵: p-valor, ⁶: Valor del estadístico de Fisher Tabulado.

Con los valores de P obtenidos (0,586 para laboratorios y 0,701 para operarios), se pudo concluir con un nivel de confianza del 95%, que no existen diferencias estadísticamente significativas entre laboratorios y entre operarios, por tanto se puede asegurar que es indistinto realizar las pruebas en cualquier organización, y por cualquier operario, dado que siempre se obtendrán resultados similares y consistentes luego de la aplicación de las pruebas correspondientes.

Por tanto, los resultados antes reportados, permiten interpretar que los ensayos fueron desarrollados con materiales homogéneos, las condiciones fueron apropiadas para la ejecución de los ensayos, la experticia de los operarios fue correcta, los equipos están correctamente calibrados y el período de tiempo para la ejecución de los ensayos, y sus respectivas mediciones, fueron las convenientes.

Evidentemente, tales resultados revisten de especial importancia, ya que las mediciones y ensayos usualmente requieren de patrones de medición reproducibles para lograr la calidad requerida en el marco de la confiabilidad del sistema de medición; sin dejar de tener claro el hecho que los resultados de las mediciones y ensayos están siempre sujetos a una incertidumbre naturales

de cualquier proceso (Portuondo y Portuondo, 2010). Adicionalmente, y en concordancia con lo anterior, la norma venezolana COVENIN 2972- 2: 1997, señala que todo laboratorio de calibración o ensayo debe tener procedimientos de control de la calidad para realizar el seguimiento de la validez de los ensayos y las calibraciones llevadas a cabo dentro de las organizaciones, para minimizar la variabilidad inherente al proceso.

Estudio de la repetibilidad y reproducibilidad de acuerdo con el procedimiento de la norma COVENIN 2972- 2: 1997.

Tales cálculos se realizaron con el fin de realizar la evaluación y comparación correspondiente con la norma, para establecer la veracidad y precisión del sistema de medición aplicado y sus resultados (Tabla 7).

Tabla 7. Desviaciones estándar de repetibilidad y reproducibilidad para los laboratorios MLAB C.A. y EMES C.A.

Repetibilidad		Criterios de análisis de R y R*
S_i	0.08189	Menor de 10%, aceptable.
Reproducibilidad		
S_i	0.03204	De 10% a 30% puede ser aceptable
R y R*	0,1139 (11,39%)	Mayor de 30% no aceptable.

* R y R: Repetibilidad y Reproducibilidad

De acuerdo con los cálculos anteriores, se puede indicar que el sistema de medición puede ser aceptable, lo cual le da el carácter de veraz y preciso, según el uso, aplicación y el mantenimiento de los equipos empleados para el desarrollo de los análisis de laboratorio realizado por los autores; por tanto, en concordancia con la norma COVENIN 2972- 2:1997, el método estándar de medición puede aplicarse para la obtención de los exámenes de antibiogramas requeridos por la organización.

En relación con la repetibilidad y reproducibilidad indicada en la Tabla 7, resulta interesante profundizar en dicho valor y la existencia de otros criterios para su análisis. Al respecto, Llamosa *et al.* (2007), reportan que con estándares de repetibilidad y reproducibilidad menores de 15%, el sistema de medición, las condiciones y los operarios pueden considerarse las apropiadas para la

aplicación para la cual fue diseñada, esto quiere decir, que puede sugerirse que los valores obtenidos en la presente investigación permiten indicar que los discos de antibióticos desarrollados puede emplearse cabalmente en las organizaciones en las cuales fueron aplicados los mismos.

Estimación de la repetibilidad y la reproducibilidad por el método de promedios y rangos

Se determinó la repetibilidad y la reproducibilidad para el sistema de medición, descomponiendo la variabilidad en dos componentes independientes: la repetibilidad y la reproducibilidad, de manera análoga como lo establece la metodología propuesta en la norma COVENIN 2972-2:1997.

La estimación de la repetibilidad y reproducibilidad por el método de promedios y rangos, se obtuvo de la división de los valores que correspondieron por el factor d_2 de la tabla de factores críticos de las gráficas de control, correspondiente al número de repeticiones en los laboratorios y entre los laboratorios. Los resultados se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Tabla de valores para cálculo de repetibilidad y reproducibilidad.

Lab.	Repeticiones				Media	σ^2	Des. Est.	Rango
	1	2	3	4				
MLAB	27,13	27,13	26,66	26,77	26,92	0,04	0,21	0,47
EMES	26,95	27,38	26,98	26,89	27,05	0,04	0,19	0,49
RANG	0,17	0,25	0,31	0,12	$\bar{R}=0,21$	$R_{\bar{x}} = 0,19$		

$$S_{resp} = \frac{\bar{R}}{d_2} = \frac{0,21}{2,059} = 0,1019$$

$$S_{repro} = \frac{R_{\bar{x}}}{d_2} = \frac{0,19}{1,128} = 0,1684$$

$$Rep. y Repro. = S_{resp} + S_{repro} = 0,1019 + 0,1684 = 0,2703 = 27,03\%$$

De acuerdo con los resultados obtenidos del estudio de repetibilidad y reproducibilidad por el método de medias y rangos, el sistema de medición puede ser aceptable, lo cual le da el carácter

de veraz y preciso, coincidiendo con el criterio de clasificación desarrollado por el procedimiento de la norma COVENIN 2972-2:1997.

Comparación de los valores de repetibilidad y reproducibilidad de acuerdo con los métodos empleados

De acuerdo con los resultados de la Tabla 9, los cálculos desarrollados por la norma fueron más sensibles para determinar diferencias en cuanto al método estándar de medición para el método de la norma COVENIN 2972-2: 1997 en comparación con el de medias y rango, por tanto se indica que las variaciones inherentes a los analistas que participaron en el ensayo interlaboratorio pueden considerarse como normales dentro del proceso de medición aplicado en los ensayos para la obtención de los antibiogramas en las organizaciones MLAB C.A. y EMES C.A.

Tabla 9.Comparación de los valores de repetibilidad y reproducibilidad de acuerdo con los métodos empleados.

Valor de Repetibilidad y Reproducibilidad	Método	
	COVENIN 2972 – 2: 1997	Medias y rango
Criterio de clasificación	11,39%	27,03%
	De 10% a 30% puede ser aceptable.	

CONCLUSIONES

De acuerdo con el proceso de elaboración de los discos de antibióticos en los laboratorios clínicos MLAB C.A. Y EMES C.A., se identificó que el mismo cuenta con seis (06) fases claramente definidas. Se recabó la información pertinente durante el flujo de éste y se determinó el cumplimiento de los requisitos establecidos en la norma ISO 15189:2007.

Para el reconocimiento de las condiciones de repetibilidad y reproducibilidad en la producción de los discos de antibióticos deben quedar claros los factores a evaluar, tanto por parte de los operarios como de los laboratorios. Para estas tareas, es crucial el compromiso de las organizaciones con la investigación y el desarrollo de los ensayos interlaboratorios.

Un factor determinante en el proceso de elaboración de los discos, es la calidad de los materiales e insumos a utilizar, un papel filtro que cumpla con los estándares de las organizaciones y sujeto a los requerimientos de la prueba es lo idóneo de emplearse. De la misma manera los cálculos para la preparación de las diluciones que garanticen la concentración requerida de agente antimicrobiano por disco es importante de garantizar.

El desarrollo de los antibiogramas permitió al personal de las organizaciones inferir el éxito en la producción de los discos, puesto que la forma tradicional de valorar la prueba es cualitativa (existe o no existe el halo de inhibición). De acuerdo con el reconocimiento de las condiciones para la realización de los ensayos, fue determinante dar a conocer a los trabajadores del servicio, la importante de medir con el calibrador de corredera para dar resultados más específicos de las pruebas de antibiogramas.

Una vez culminados los ensayos de comparación de los resultados con lo establecido en la norma se pudo determinar por medio de la prueba de normalidad de Ryan – Joiner que los datos obtenidos siguieron una distribución normal, de la misma manera se comprobó el supuesto de homocedasticidad. Esto permitió llevar a cabo la revisión de consistencia y datos dudosos o atípicos, entre ellos se realizó la prueba Cochran donde se estableció la inexistencia de datos

atípicos, y la prueba de Grubb donde se comprobó que no existe suficiente evidencia estadística que arroje valores dudosos y atípicos individuales, ni en media de celda.

Al comprobar que no existieron valores atípicos se realizó la prueba de consistencia gráfica de los estadísticos h y k de Mandel, donde se indicó que los laboratorios EMES C.A. Y MLAB C.A. no exhibieron patrones de resultados, por tanto se señaló, que no son marcadamente diferentes entre ellos.

En el análisis de varianza, se encontró con un nivel de confianza del 95% que no existen diferencias estadísticamente significativas entre laboratorios y entre operarios. Los resultados de los métodos aplicados en el presente estudio (por la norma y promedios y rangos), indicaron que el sistema de medición puede ser aceptable, lo cual le da el carácter de veraz y preciso a los valores arrojados en el ensayo colaborativo de evaluación desarrollados en la presente investigación.

De acuerdo con las evaluaciones realizadas, se logró establecer que el sistema de medición, las condiciones y los operarios son los apropiados para la aplicación de los discos de antibióticos elaborados por los laboratorios clínicos MLAB C.A. Y EMES C.A. por tanto los discos desarrollados pueden emplearse en los estudios de antibiograma de las organizaciones, dado que todos los resultados sugirieron veracidad y precisión en los análisis realizados.

RECOMENDACIONES

Indagar en la búsqueda de proveedores nacionales de los materiales e insumos para la elaboración de los discos de antibióticos, que garanticen la función del disco y los aspectos inherentes al cumplimiento de los requisitos de calidad exigidos por los clientes.

Replicar el estudio con pruebas de diferentes agentes antimicrobianos, aumentando así la cantidad de insumos, que promueven la rentabilidad y disponibilidad, sin comprometer la calidad de los discos.

Ejecutar el estudio considerando la adición de más laboratorios para observar si el comportamiento de la repetibilidad y reproducibilidad es similar a lo obtenido en el presente estudio.

Realizar un estudio donde se varíe el método de medición de los halos de inhibición, o se empleen otros instrumentos de medición, con el fin de mejorar la veracidad en la obtención de las pruebas de repetibilidad y reproducibilidad.

Adiestrar y capacitar al personal para el cumplimiento de la norma ISO 15189:2007 “Laboratorio Clínicos. Requisitos particulares para la calidad y competencia”.

BIBLIOGRAFÍA

- Águila, A.** (2016). *Antibiograma, ¿Qué es y cómo interpretarlo?* Informes Técnicos de la Facultad de Medicina Universidad de Panamá. Panamá. 5p.
- Arias, F.** (2006). *El Proyecto de Investigación*. Editorial Episteme. Caracas, Venezuela. 68p.
- Bernal, M. y Guzmán, M.** (1984) *El antibiograma de discos*. Normalización de la técnica Kirby-Bauer. Bogotá, Colombia.
- Bio-Rad.** (2011). *Discos para comprobar la susceptibilidad a los antibióticos*. Catalogo comercial para el estudio de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos. Marnes, Francia. 7p.
- Botero, M., Arbeláez, O. y Mendoza, J.** (2007). *Método ANOVA Utilizado para Realizar el Estudio de Repetibilidad Reproducibilidad dentro del Control de Calidad de un Sistema de medición*. Revista Scientia et Technica. Universidad Tecnológica de Pereira. Pereira, México.
- Cabrera, D. y Salas, J.** (2017). *Estudio de repetibilidad y Reproducibilidad*. Informe del curso de Metrología. Postgrado en Estadística. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. 21p.
- Casado, M., Torrico, G. y Medina, M.** (2012). *Medios de cultivo en un laboratorio de microbiología*. Serie de libros técnicos de laboratorio de la Wordpress. 42p.
- Cercenado, E. y Saavedra, J.** (2009). *El antibiograma. Interpretación del antibiograma conceptos generales (I)*. Servicio de microbiología. Madrid, España.
- Cerra, H., Fernández, M. y Horak, C.** (2013). *Inoculación*. Manual de Microbiología aplicada a la industria farmacéutica. Asociación argentina de microbiología. Buenos Aires, Argentina.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN).** (1996). Norma 2972-1. *Exactitud (Veracidad y Precisión) de Métodos de medición y resultados*. Parte 1: Principios y Definiciones generales. Publicación de Fondonorma. Principios generales y definiciones. Caracas, Venezuela. 20p.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN).** (1997). Norma 2972-2. *Exactitud (Veracidad y Precisión) de Métodos de medición y resultados*. Parte 2. Publicación de Fondonorma. Método básico para la determinación repetibilidad y reproducibilidad de un método estándar de medición. Caracas, Venezuela.
- Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría [Pediámécum]** (2015). *Ciprofloxacino*. Fichas técnicas del Centro de Información online de Medicamentos. España.
- Correa, J.; Iral, R. y Rojas, L.** (2006). *Estudio de potencia de pruebas de homogeneidad de varianza*. Universidad Nacional de Colombia, Escuela de Estadística. Medellín, Colombia.

- Correa, V. y Torres, F.** (2015). *Inoculación de Bacterias, actinobacterias y levaduras. Microbiología Experimental*. Universidad Autónoma de México. Ciudad de México, México.
- Cruz, E. y Madrigal, R., Monge, N., Pena, I. y Acuna, M.** (1984). *Sensibilidad a los antibióticos, producción de discos para las pruebas de sensibilidad a los antibióticos*. Revista Médica de Costa Rica. 486: p. 15 – 19.
- Díaz, S. y Fernández, S.** (2001) *Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística*. Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña, España. CAD ATEN PRIMARIA; 8: 268-274.
- García, H.** (2014). *Halos de inhibición*. Universidad de la Palta. EDULP. Buenos Aires, Argentina.
- Gimferrer, N.** (2011). *Las dos caras de la bacteria*. Estudio de microorganismos. Bogotá, Colombia.
- Hurtado, J.** (2012). *El proyecto de Investigación*. Comprensión holística de la metodología y la investigación. Editorial Quirón. Venezuela. 65p.
- Instituto Nacional de Salud.** (2002). *Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión*. Serie de Informes Técnicos N° 30 del Ministerio de Salud del Perú. Lima, Perú. 67 p.
- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo [INSHT],** (2012). *Staphylococcus aureus*. Artículo en línea. Recuperado el septiembre de 2018 de: <http://www.insht.es/riesgosbiologicos/contenidos/fichas%20de%20agentes%20biologicos/fichas/bacterias/staphylococcus%20aureus.pdf>.
- IQUIMICAS.** (2014) *¿Qué son las cepas bacterianas?* Material didáctico. Recuperado el 7 de Julio de 2018 de: <https://iquimicas.com/que-es-una-cepa-bacteriana/>.
- Jiménez A.** (2006) *Contraste de Shapiro-Wilk*. Recuperado el 15 de agosto de: <https://www.xatakaciencia.com/matematicas/contraste-de-shapiro-wilk>.
- León, C. Rivero, G., López, M., Rodríguez, I.** (2015). *Uso irracional de las pruebas de laboratorio clínico por parte de los médicos de asistencia*. Revista MEDISAN. Universidad de Ciencias Médicas. Camagüey, Cuba. 19 (11): p. 1300 – 1308.
- Llamosa, L. y Meza, L y Botero, M.** (2007). *Estudio de Repetibilidad y Reproducibilidad*. Utilizando El Método de Promedios y Rangos para el Aseguramiento de la Calidad de los Resultados de Calibración de Acuerdo con la Norma Técnica NTC-ISO/IEC17025. Universidad Tecnológica de Pereira. Pereira, México. Revista Scientia et Technica. 13 (35): p. 455 – 460.
- Lopardo, H.** (2016). *Introducción a la Microbiología Clínica*. Universidad de la Palta. EDULP. Buenos Aires, Argentina.
- López, J. y Boronat, R.** (2011). *El antibiograma*. Un recurso en el laboratorio de educación secundaria. Revista Eureka. Murcia, España.

- Malbrán, C.** (2012). *Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por difusión*. Servicio Antimicrobianos. Resumen del curso intensivo de actualización en antimicrobianos y del curso latinoamericano de actualización en antimicrobianos. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI). Buenos Aires, Argentina. 43 p.
- Martínez, C.** (2012). *Estadística y muestreo*. Eco Ediciones. Bogotá. Colombia. 900p.
- Martínez, M.** (2005). *Diagramas causa efecto y de flujo, elementos claves*. Artículo en línea. Recuperado el agosto de 2018 de: <http://www.gestiopolis.com/diagramas-causa-efecto-pareto-y-de-flujo-elementos-clave/>.
- Matos, A.** (2018), *¿Qué son la Reproducibilidad y Repetibilidad?* Sevilla, España.
- MDM-Científica** (2017). *La importancia de las cepas ATCC Microbiologics en tus cultivos para microbiología*. Medellín, Colombia. Recuperado el agosto de 2018 de: <http://mdmcientifica.com/cepasatcc/>
- Measurement Systems Analysis [MSA].** (2010). *Reference manual*. Fourth version. Ford Motor Company, General Motors Corporation. EEUU. 241 p.
- MINITAB INC.** (2017). *¿Qué es la distribución normal?* Portal de Contenidos Educativos de Estadística y Paquetes Estadísticos. Recuperado el 8 de agosto de 2018 de: <https://support.minitab.com/es-mx/minitab/18/help-and-how-to/statistics/basic-statistics/supporting-topics/normality/what-is-the-normal-distribution/>.
- Moles, E. Callejón, M. y Pretel, F.** (2012). *¿Qué es un laboratorio de diagnóstico clínico? Estructura y funcionamiento*. Serie de libros técnicos de laboratorio de la Wordpress. 52p.
- Monrroy, R.** (2005). *Desarrollo práctico y evaluación de estudios R&R para el aseguramiento de la calidad de los resultados*. Monterrey, México.
- Mühlhauser, M.** (2014). *Laboratorio de microbiología: conocimientos básicos para un clínico*. (Volumen 25). Revista Médica Clínica de Las Condes. 25(3): p. 569-579.
- Organización Internacional de Normalización [ISO].** (2007). Norma 15.189: *Laboratorios Clínicos. Requisitos particulares para la calidad y la competencia*. Términos y definiciones. Madison, EEUU.
- Organización Mundial de la Salud [OMS].** (2004). *Manual de Laboratorio para la Identificación y Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia para la Salud Pública en el Mundo en Desarrollo*. **Compiladores: Perrilla, M. y colaboradores.** Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades: Centro Nacional para las Enfermedades Infecciosas y Organización Mundial de la Salud, Enfermedades Transmisibles: Vigilancia y Respuesta. Atlanta, Georgia EEUU y Ginebra, Suiza. 410 p.

- Organización Panamericana de la Salud [OPS].** (1999). *Importancia y funciones de las instalaciones de la salud*. Capítulo 3 de la Serie de documentos técnicos del Centro Regional de Información sobre Desastres, para América Latina y el Caribe (CRID). 4 p.
- Pedraza, P. y Castellanos, H.** (2009). *Estudio comparativo de la actividad antimicrobiana de diferentes presentaciones comerciales de antibióticos de administración intravenosa a través de métodos in vitro*. Pontifica Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- Pértegas, S. y Pita, S.** (2001). *La Distribución Normal*. Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística. Complejo Hospitalario Juan Canalejo. La Coruña, España. P. 268 - 274.
- Picazo, J.** (2003). *Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos*. Guía Técnica de Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Madrid, España. 54 p.
- Pinheiro, P.** (2018). *Ciprofloxacino- para qué sirve, posología y efectos secundarios*. Material didáctico. Recuperado 9 de Julio del 2018 de: <https://www.mdsau.de/es/2017/05/ciprofloxacina.html>.
- Portuondo P. y Portuondo, J.** (2010). *La repetibilidad y reproducibilidad en el aseguramiento de la calidad de los procesos de medición*. Revista Tecnología Química. Santiago de Cuba, Cuba. 30 (2): p. 117 – 121.
- Roach, F.** (2013). *¿Qué debo saber del antibiograma?* Interpretación práctica principales fenotipos de resistencia. Hospital Regional de Antofagasta. Antofagasta, Chile. 61 p.
- Rodríguez, E.** (2005). *Metodología de la Investigación*. La creatividad, el rigor del estudio y la integridad son factores que transforman al estudiante en un profesional de éxito. México: Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, 5ta edición. 110 p.
- Rojas, H.** (2016). *Cepa Certificada*. Colección española de cultivos de tipo. Universidad de Valencia. Valencia. España.
- Salazar, C., Reyes, D. y Padilla, L.** (2017). Análisis del uso de antibióticos en antibiogramas de urocultivos realizados por un laboratorio clínico de la región Centro occidental de Colombia. Universidad y Salud. Colombia.
- Seijas, A. y Iglesia, G.** (2009). *Medidas de la Eficiencia Técnica en los Hospitales Públicos Gallegos*. Revista Gallega de Economía. 18 (1): p. 1 – 22.
- Senar, J.** (1999). *La medición de la repetibilidad y el error de medida*. Museo de Zoología. Barcelona, España. P 53 – 60.
- Serra, M.** (2017). *La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana*. Ciencias Epidemiológicas y Salubristas. Revista Habanera de Ciencias Médicas. vol.16 no.3 La Habana, Cuba. P 402 – 419.

- Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas [SEMCEI].** (2012) *Estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Método de difusión con disco. Informe Técnico del Comité Europeo de Pruebas de sensibilidades antimicrobianas.* 17p.
- Sociedad Venezolana de Microbiología** (2002). *Estafilococo dorado.* Revista de la sociedad venezolana de microbiología. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
- Suarez, A. y Vera, V.** (2011). *Uso y Abuso del Ciprofloxacino.* Hospital General Docente "Dr. Juan Bruno Zayas Alfonso". Santiago de Cuba, Cuba.
- Taroco, R. Seija, V. y Vignoli R.** (2006). *Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica.* Libro: Temas de bacteriología y Virología Médica. P. 661 – 671.
- TP-Laboratorio Químico.** (2018). *Placa de Petri.* Portal de Contenidos Educativos de Química General y Laboratorio Químico. Recuperado el 6 de Julio de 2018 de: <https://www.tplaboratorioquimico.com/laboratorio-quimico/materiales-e-instrumentos-de-un-laboratorio-quimico/placa-de-petri.html>.
- Vignoli, R.** (2004). *Esterilización y Desinfección.* Medellín, Colombia. Recuperado el agosto de 2018 de: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%2027.pdf>

ANEXOS

[Anexo A].

Cuestionario para un ensayo Interlaboratorio.

1. Nuestro laboratorio está dispuesto a participar en un ensayo de precisión para este método estándar de medición.

SI

No

2. Como participante, entiendo que:

a) Debemos tener en nuestro laboratorio, para el momento de iniciar el programa, todos los equipos, reactivos y otros requisitos esenciales especificados en el método.

b) Requisitos con respecto a fecha de inicio, orden de ensayo en las muestras y fecha de finalización del programa han de ser respetados estrictamente.

c) Se ha de adherirse estrictamente al método.

d) Se ha de manejar las muestras de acuerdo a las instrucciones

e) Las medidas deben ser ejecutadas por un operador calificado.

Habiendo estudiado el método y hecho una evaluación objetiva en cuanto a nuestras facilidades y habilidades, pensamos que estamos adecuadamente preparados para participar en un ensayo cooperativo de este método.

3. Comentarios

Nombre de la compañía:

Firma

[Anexo B].

Archivo de registro para control de preparación de discos en el laboratorio.

Logo de la Empresa		Nombre de la Empresa: Razón Social: Dirección: Teléfono:	
Registro de Preparación: "Discos de Antibiótico"			
Agente antimicrobiano:		Cantidad de discos:	Presentación:
Familia:		Concentración:	Cantidad de Presentaciones:
Fecha:	Responsable de la preparación:		Aprobado por:
CÁLCULOS PARA LA PRODUCCIÓN DE LOS DISCOS			
Capacidad de absorción del disco:		Cantidad de solución a preparar:	Cantidad de Antibiótico:
Tipo de Solvente:		Cantidad de Solvente:	Rendimiento real de la solución:
Esterilidad	Secado	Almacenado:	Nombre de la muestra:
Tiempo: Temperatura:	Tiempo: Temperatura:		
Observaciones:			
Rendimiento Teórico:		Rendimiento Practico:	Recibido por:

[Anexo C].

Cuestionario para un ensayo interlaboratorios Laboratorio EMES C.A.

Anexo A. Cuestionario para un ensayo interlaboratorios.

1. Nuestro laboratorio está dispuesto a participar en un ensayo de precisión para este método estándar de medición.

SI No

2. Como participante, entiendo que:

- a) Debemos tener en nuestro laboratorio, para el momento de iniciar el programa, todos los equipos, reactivos y otros requisitos esenciales especificados en el método.
- b) Requisitos con respecto a fecha de inicio, orden de ensayo en las muestras y fecha de finalización del programa han de ser respetados estrictamente.
- c) Se ha de adherirse estrictamente al método.
- d) Se ha de manejar las muestras de acuerdo a las instrucciones
- e) Las medidas deben ser ejecutadas por un operador calificado.

Habiendo estudiado el método y hecho una evaluación objetiva en cuanto a nuestras facilidades y habilidades, pensamos que estamos adecuadamente preparados para participar en un ensayo cooperativo de este método.

3. Comentarios

Nombre de la compañía:
Laboratorio Emes, ca.

LABORATORIO EMES C.A
RIF J-30669167
NIT 0119092092

Firma



[Anexo D].

Cuestionario para un ensayo interlaboratorios Laboratorio MLAB C.A.

Anexo A. Cuestionario para un ensayo interlaboratorios.

1. Nuestro laboratorio está dispuesto a participar en un ensayo de precisión para este método estándar de medición.

Si No

2. Como participante, entiendo que:

- a) Debemos tener en nuestro laboratorio, para el momento de iniciar el programa, todos los equipos, reactivos y otros requisitos esenciales especificados en el método.
- b) Requisitos con respecto a fecha de inicio, orden de ensayo en las muestras y fecha de finalización del programa han de ser respetados estrictamente.
- c) Se ha de adherirse estrictamente al método.
- d) Se ha de manejar las muestras de acuerdo a las instrucciones
- e) Las medidas deben ser ejecutadas por un operador calificado.

Habiendo estudiado el método y hecho una evaluación objetiva en cuanto a nuestras facilidades y habilidades, pensamos que estamos adecuadamente preparados para participar en un ensayo cooperativo de este método.

3. Comentarios



Nombre de la compañía:

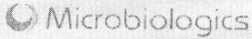


MLAB, C.A.

Firma

[Anexo E].

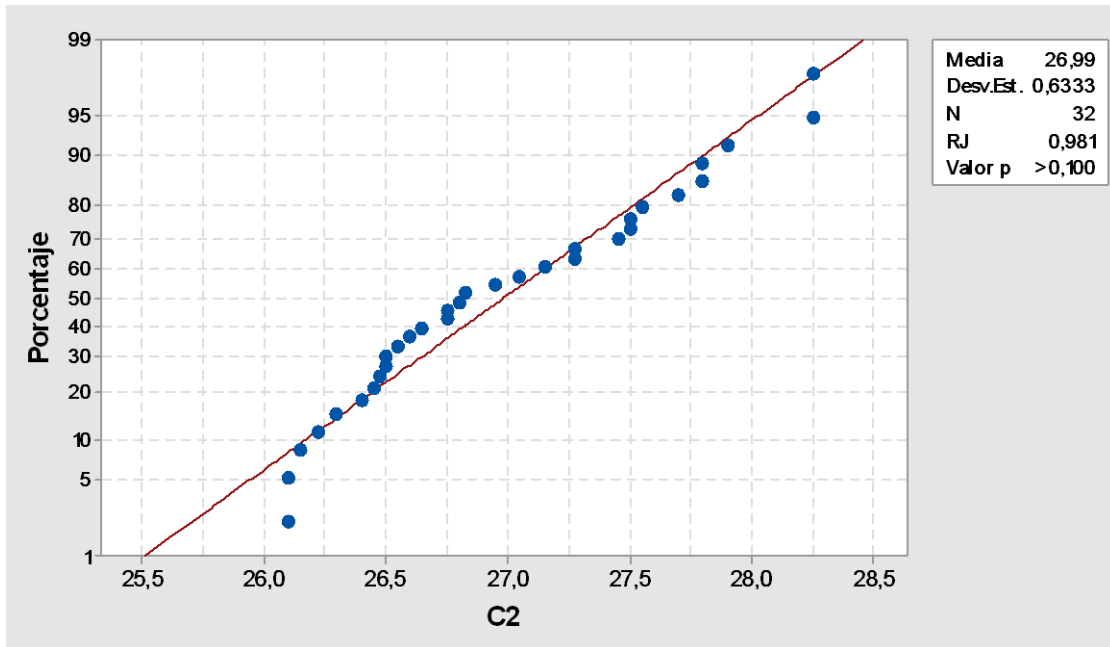
Certificado de análisis, cepa *Staphylococcus aureus subsp. aureus* ATCC®

6538™ por Microbiologics

																																																																																									
Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release																																																																																									
Specifications Microorganism Name: <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> Catalog Number: 0485 Lot Number: 485-82 Reference Number: ATCC® 6538™ Purity: Pure Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 4 Expiration Date: 2012/06	Additional Information Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2010/9/13 Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.																																																																																								
Performance																																																																																									
Macroscopic Features: Medium to large, convex, circular, glistening, smooth, creamy, opaque, beta hemolytic - both light gold and darker gold colonies may be present. Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters.	Medium: SBAP Method: Gram Stain																																																																																								
Vitek GP <table border="1"> <thead> <tr> <th>Phenotypic Features</th> <th>Results</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>D-ARYLDALIN</td><td>-</td></tr> <tr><td>PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-XYLOSE</td><td>-</td></tr> <tr><td>ARGININE DIHYDROLASE 1</td><td>+</td></tr> <tr><td>BETA-GALACTOSIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>ALPHA-GLUCOSIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>CYCLODEXTRIN</td><td>-</td></tr> <tr><td>L-Aspartate ARYLAMIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>BETA GALACTOPYRANOSIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>ALPHA-MANNOSIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>PHOSPHATASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>Leucine ARYLAMIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>L-Proline ARYLAMIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>BETA GLUCURONIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>ALPHA-GALACTOSIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>L-Pyruvoyl-ARYLAMIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>BETA-GLUCORONIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>Alanine ARYLAMIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>Tyrosine ARYLAMIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-SORBITOL</td><td>-</td></tr> <tr><td>UREASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>POLYMXIN B RESISTANCE</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-GALACTOSE</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-RIBOSE</td><td>-</td></tr> <tr><td>L-LACTATE alkalization</td><td>+</td></tr> <tr><td>LACTOSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-MALTOSE</td><td>-</td></tr> <tr><td>BACITRACIN RESISTANCE</td><td>+</td></tr> <tr><td>NOVOBIOCIN RESISTANCE</td><td>-</td></tr> <tr><td>GROWTH IN 6.5% NaCl</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-MANNITOL</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-MANNOSE</td><td>-</td></tr> <tr><td>METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE</td><td>-</td></tr> <tr><td>PULLULAN</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-RAFFINOSE</td><td>-</td></tr> <tr><td>O/129 RESISTANCE (comp. vibrio.)</td><td>+</td></tr> <tr><td>SALICIN</td><td>-</td></tr> <tr><td>SACCHAROSE/SUCROSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-TREHALOSE</td><td>-</td></tr> <tr><td>ARGININE DIHYDROLASE 2</td><td>-</td></tr> <tr><td>OPTOCHIN RESISTANCE</td><td>+</td></tr> </tbody> </table>	Phenotypic Features	Results	D-ARYLDALIN	-	PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C	-	D-XYLOSE	-	ARGININE DIHYDROLASE 1	+	BETA-GALACTOSIDASE	-	ALPHA-GLUCOSIDASE	-	Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	-	CYCLODEXTRIN	-	L-Aspartate ARYLAMIDASE	-	BETA GALACTOPYRANOSIDASE	-	ALPHA-MANNOSIDASE	-	PHOSPHATASE	+	Leucine ARYLAMIDASE	-	L-Proline ARYLAMIDASE	-	BETA GLUCURONIDASE	-	ALPHA-GALACTOSIDASE	+	L-Pyruvoyl-ARYLAMIDASE	-	BETA-GLUCORONIDASE	-	Alanine ARYLAMIDASE	-	Tyrosine ARYLAMIDASE	-	D-SORBITOL	-	UREASE	-	POLYMXIN B RESISTANCE	+	D-GALACTOSE	-	D-RIBOSE	-	L-LACTATE alkalization	+	LACTOSE	+	N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE	+	D-MALTOSE	-	BACITRACIN RESISTANCE	+	NOVOBIOCIN RESISTANCE	-	GROWTH IN 6.5% NaCl	+	D-MANNITOL	+	D-MANNOSE	-	METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE	-	PULLULAN	-	D-RAFFINOSE	-	O/129 RESISTANCE (comp. vibrio.)	+	SALICIN	-	SACCHAROSE/SUCROSE	+	D-TREHALOSE	-	ARGININE DIHYDROLASE 2	-	OPTOCHIN RESISTANCE	+	Other Features/ Challenges: Results Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive Coagulase (rabbit plasma-tube): positive Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative  Brad Gaskiewicz, President AUTHORIZED SIGNATURE
Phenotypic Features	Results																																																																																								
D-ARYLDALIN	-																																																																																								
PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C	-																																																																																								
D-XYLOSE	-																																																																																								
ARGININE DIHYDROLASE 1	+																																																																																								
BETA-GALACTOSIDASE	-																																																																																								
ALPHA-GLUCOSIDASE	-																																																																																								
Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	-																																																																																								
CYCLODEXTRIN	-																																																																																								
L-Aspartate ARYLAMIDASE	-																																																																																								
BETA GALACTOPYRANOSIDASE	-																																																																																								
ALPHA-MANNOSIDASE	-																																																																																								
PHOSPHATASE	+																																																																																								
Leucine ARYLAMIDASE	-																																																																																								
L-Proline ARYLAMIDASE	-																																																																																								
BETA GLUCURONIDASE	-																																																																																								
ALPHA-GALACTOSIDASE	+																																																																																								
L-Pyruvoyl-ARYLAMIDASE	-																																																																																								
BETA-GLUCORONIDASE	-																																																																																								
Alanine ARYLAMIDASE	-																																																																																								
Tyrosine ARYLAMIDASE	-																																																																																								
D-SORBITOL	-																																																																																								
UREASE	-																																																																																								
POLYMXIN B RESISTANCE	+																																																																																								
D-GALACTOSE	-																																																																																								
D-RIBOSE	-																																																																																								
L-LACTATE alkalization	+																																																																																								
LACTOSE	+																																																																																								
N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE	+																																																																																								
D-MALTOSE	-																																																																																								
BACITRACIN RESISTANCE	+																																																																																								
NOVOBIOCIN RESISTANCE	-																																																																																								
GROWTH IN 6.5% NaCl	+																																																																																								
D-MANNITOL	+																																																																																								
D-MANNOSE	-																																																																																								
METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE	-																																																																																								
PULLULAN	-																																																																																								
D-RAFFINOSE	-																																																																																								
O/129 RESISTANCE (comp. vibrio.)	+																																																																																								
SALICIN	-																																																																																								
SACCHAROSE/SUCROSE	+																																																																																								
D-TREHALOSE	-																																																																																								
ARGININE DIHYDROLASE 2	-																																																																																								
OPTOCHIN RESISTANCE	+																																																																																								
Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.																																																																																									
 The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiologica, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.																																																																																									
© 2010 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 217 Cassia Avenue North Saint Cloud, MN 56303																																																																																									
OOC-288 REVISION 2010 May 2010r10x																																																																																									

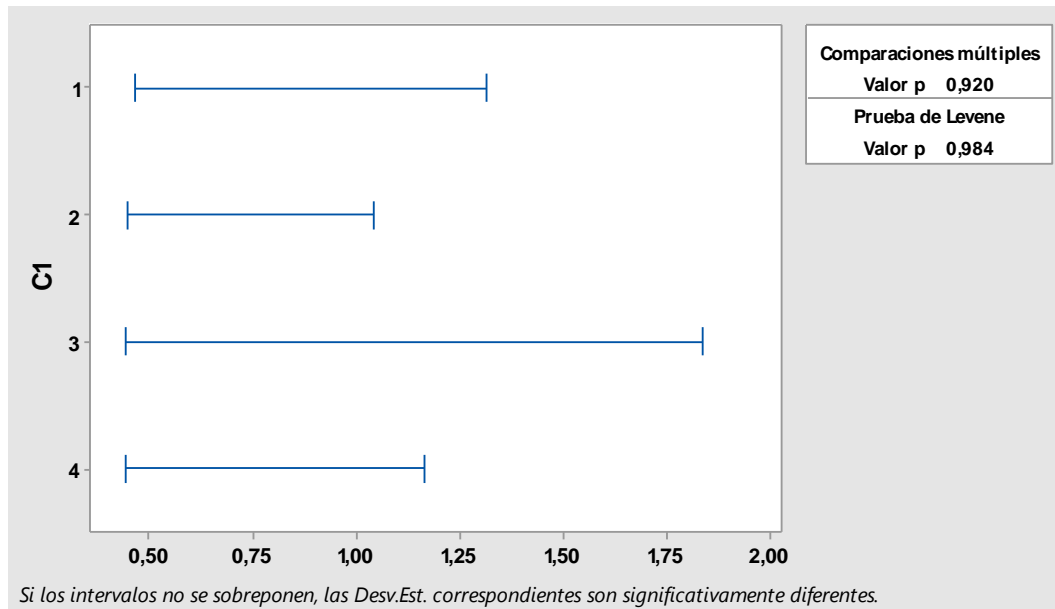
[Anexo F].

Comprobación de la Prueba de Normalidad.



[Anexo G].

Comprobación de la Homogenización de la Varianza.



[Anexo H].

Valores críticos tabulados por prueba.

Valores críticos para la prueba de Cochran.

p	n = 2		n = 3		n = 4		n = 5		n = 6	
	1 %	5 %	1 %	5 %	1 %	5 %	1 %	5 %	1 %	5 %
2	--	--	0,995	0,975	0,979	0,939	0,959	0,906	0,937	0,877
3	0,993	0,967	0,942	0,871	0,883	0,798	0,834	0,746	0,793	0,707
4	0,968	0,906	0,864	0,768	0,781	0,684	0,721	0,629	0,676	0,590
5	0,928	0,841	0,788	0,684	0,696	0,598	0,633	0,544	0,588	0,506
6	0,883	0,781	0,722	0,616	0,626	0,532	0,564	0,480	0,520	0,445

p: número de laboratorios a un nivel dado; n: número de resultados de ensayos por celda.

Valores críticos para la prueba de Grubb.

p	Uno mayor o uno menor		Dos mayores o dos menores	
	Superior al 5%	Inferior al 5%	Superior al 1%	Inferior al 1%
3	1,155	1,155	--	--
4	1,496	1,481	0,000 0	0,000 2
5	1,764	1,715	0,001 8	0,009 0
6	1,973	1,887	0,011 6	0,034 9

p: número de laboratorios a un nivel dado.

Valores críticos de los estadísticos h y k de Mandel para un nivel de significación del 1%

p	h	k							
		n							
		2	3	4	5	6	7	8	9
3	1,15	1,71	1,64	1,58	1,53	1,49	1,46	1,43	1,41
4	1,49	1,91	1,77	1,67	1,60	1,55	1,51	1,48	1,45
5	1,72	2,05	1,85	1,73	1,65	1,59	1,55	1,51	1,48
6	1,87	2,14	1,90	1,77	1,68	1,62	1,57	1,53	1,50

p: número de laboratorios a un nivel dado; n: número de réplicas intralaboratorios a dicho nivel

Valores críticos de los estadísticos h y k de Mandel para un nivel de significación del 5%

p	h	k							
		n							
		2	3	4	5	6	7	8	9
3	1,15	1,65	1,53	1,45	1,40	1,37	1,34	1,32	1,30
4	1,42	1,76	1,59	1,50	1,44	1,40	1,37	1,35	1,33
5	1,57	1,81	1,62	1,53	1,46	1,42	1,39	1,36	1,34
6	1,66	1,85	1,64	1,54	1,48	1,43	1,40	1,37	1,35

p: número de laboratorios a un nivel dado; n: número de réplicas intralaboratorios a dicho nivel