

Acta N° 10
Subcomité de Laboratorio

Fecha: 23 de febrero de 2010

Hora: 09:00 p. m.

Reunión Extraordinaria

Miembros participantes:

Licda. Marlenys Mendoza del Ministerio de Salud
Licdo. Gustavo Ruiz de la Caja de Seguro Social

Miembros Invitados:

Dr. Luis Sotillo de la Caja de Seguro Social
Licda. Lorena Batista de la Caja de Seguro Social
Licda. Briseida Perez de la Caja de Seguro Social
Licdo. Gilberto Eskildsen del Ministerio de salud

Siendo las 09:00 a.m., el Subcomité de Laboratorio conjuntamente con los proveedores: Luis Sánchez, Juan Leis y Josué Álvarez de Promoción Médica S.A., Benedicto Murgas, Jorge Ramírez de Inmunolab Panamá., Diana Mora, Jose Castillo, Ramón Castellanos y Neries de la Cruz de Bio-Lab Internacional, se presentaron para la homologación de:

SISTEMA DE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA PRESIÓN INTEGRADO A ESPECTROMETRÍA DE MASA EN TANDEM CON BOMBA CUATERNARIA, MUESTREADOR AUTOMÁTICO Y DETECTOR POR ARREGLO DE DIODOS.

DESCRIPCIÓN: SISTEMA DE CROMATOGRAFÍA LIQUIDA DE ALTA PRESIÓN INTEGRADO A ESPECTROMETRÍA DE MASA EN TANDEM PARA LA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EN MUESTRAS BIOLÓGICAS.

DEBE SER INSTALADO EN UN AREA FISICA MINIMO DE 4X 3 METROS ES DECIR 12 m². EN ESTA AREA FISICA SE DEBE INSTALAR:

1. HPLC, MS/MS,
2. AUTOMUESTREADOR
3. CPU
4. MONITOR
5. IMPRESORA
6. UPS PARA LA PC

ESPECIFICACIONES TÉCNICAS:

- A. Cromatógrafo Líquido con Detector de Masa, Bomba Cuaternaria, Muestreador Automático y Detector por Arreglo de Diodos.
- B. Estación de Trabajo: incluye Software de Control, Adquisición y Procesamiento de Datos, PC y Monitor LCD de 19" e Impresora.
- C. Generador de Nitrógeno de alta pureza, que no requiere compresor de aire externo.
- D. Regulador de dos etapas para Argón y tubo de cobre de 1/8" diámetro.
- E. Instalación y familiarización.

A-1: Cromatógrafo Líquido:

1. Sistema modular que permita llevar a cabo cromatografía convencional ó rápida (**ultrapresión**) con excelente prestación en todas las condiciones operativas.
2. Configurado con bomba cuaternaria, muestreador automático con desgasificador incorporado y detector por arreglo de diodos.
3. Módulos diseñados para el fácil acceso (frontal) a partes críticas para el mantenimiento del sistema.
4. Que opere a **120-220 VAC**, 50-60 Hz, en ambientes con temperaturas entre 10°C y 40 °C
5. Totalmente controlable por el software analítico que se provee (ver especificaciones adjuntas).
6. ~~Dimensiones Máximas: 75 cm altura x 36 cm ancho x 50 cm profundidad.~~

6. DEBE SER INSTALADO EN UN AREA FISICA MINIMO DE 4 X 3 METROS ES DECIR 12 m². EN ESTA AREA FISICA SE DEBE INSTALAR:

7. HPLC, MS/MS,
8. AUTOMUESTREADOR
9. CPU
10. MONITOR
11. IMPRESORA
12. UPS PARA LA PC

A-2.Espectrómetro de Masa:

A.2.1.Detector Tandem MS/MS Triple Cuadrupolo:

1. Espectrómetro de masas compacto, de mesada de triple cuadrupolo MS/MS.
2. Configurado para ionización a presión atmosférica(API)que permite la obtención de pesos moleculares, análisis estructural y cuantificación de una amplia variedad de analitos.
3. Debe incluir una sonda de ionización para Electrospray(ESI)y para Ionización Química(APCI).
4. Debe poseer una bomba de jeringa para la incorporación directa de muestras o estándares, a efectos de simplificar las rutinas de sintonización y permitir el uso del espectrómetro en forma aislada del HPLC.
5. ~~Dimensiones Máximas: 6168 cm de altura x 56-105cm de ancho x 79-50cm de profundidad.~~

5. DEBE SER INSTALADO EN UN AREA FISICA MINIMO DE 4X 3 METROS OSEA 12 m². EN ESTA AREA FISICA SE DEBE INSTALAR:

1. HPLC, MS/MS,
2. AUTOMUESTREADOR
3. CPU
4. MONITOR
5. IMPRESORA
6. UPS PARA LA PC

A.2.2.Analizador cuadrupolar(Q1 y Q3):

1. Debe constar con un analizador tipo cuadrupolo en tandem, de alta resolución(<0,1 Da)y geometría con enfoque inter-elemento con un rango de masas de ~~30- 2~~ a ~~3000 1500~~ Daltons y velocidad de barrido ~~de al menos~~ **minimo 2400 5000** uma/seg.
2. Con cuadrupolos de sección hiperbólica de alta resolución (menor a 0,1 Dalton).
3. Todos los voltajes de las lentes y de los analizadores poseen control digital.

A.2.3. Cuadrupolo medio, celda de colisiones (Q2):

1. Cuadrupolo de barras cuadradas **o redondas** ~~debe permitir mayor transferencia iónica.~~
2. Asegura la no aparición de señales entre transmisiones consecutivas que dan el mismo producto iónico.
3. Trayectoria iónica de 90 grados, responsable del diseño compacto del detector.

A.2.4.Detector propiamente dicho:

1. Debe tener un detector fuera de eje para que no lleguen interferencias (neutros) y está ubicado después del tercer cuadrupolo (Q3).
2. Debe ser un sistema patentado de ~~diodo~~ **diodo** de conversión de post-aceleración con +/- 15 KV y multiplicador de electrones **o foto multiplicador**.
3. Debe permitir la detección de iones positivos y negativos, y pasa de un modo a otro a través del control digital del software (<0,1 seg).

A.2.5. Sistema de vacío:

1. El sistema de vacío debe ser automático y difere ncial que comprende bomba turbomolecular con refrigeración por circulación forzada de aire y una bomba rotativa externa conectada en serie con la anterior.
2. Los ciclos de venteo y vacío deben ser digitalmente monitoreados y controlados a través del software, asegurando las operaciones ante eventuales fallas.

A. 2.6. ElectroSpray(ESI)y e Ionización Química a Presión atmosférica(APCI), sondas de ionización:

1. Las interfases deben ser ajustables direccionalmente, que se instalan (intercambiables) en la cámara de ionización en forma sencilla y rápida (por el usuario) sin necesidad de romper el alto vacío.
2. **Que el sistema garantice la eliminación de interferencias de los analitos al 100% y permita limpiar y extraer fácilmente elementos contaminantes.**

3. Sensibilidad de Electrospray e Ionización química atmosférica: 500 fg de reserpina deben generar una señal cromatográfica con relación señal: ruido ~~150~~-50: 1 (Comprobable en el momento de la instalación del equipo).

Con una inyección de 500 fg de reserpina en una columna de C-18 (20x2, 1mm x 1.9 um) a medio mililitro de una solución 30:70 agua: acetonitrilo con ácido fórmico 0.1% debe producir una relación señal: ruido al menos ~~150~~ 50 : 1 para la transición m/z 609.3 a 195.1. Resolución unitaria: 0.7 Da FWHM (Ancho del pico espectral a media altura)
Alta resolución: 0.2 Da FWHM (Ancho del pico espectral a media altura)

A.2.7. Funciones de Barrido:

1. De barrido en modo MS (Q1 ó Q3); monitoreo de ión seleccionado (SIM en Q1 o Q3); MS-MS monitoreo de iones precursores (padres de un fragmento fijo); MS-MS monitoreo de iones producto (hijos), MS-MS pérdida de un fragmento neutro fijo, monitoreo de transiciones MS-MS (SRM,MRM y **H-RSM**).

A.2.8. Funciones de adquisición:

1. Con control de parámetros de adquisición.
2. Configuración de canales múltiples de análisis (MCA) en el desarrollo de métodos.
3. Debe rechazar el ruido.
4. Capaz de cambiar de barrido de modo MS a MS-MS.
5. Debe cambiar del modo de ionización y polaridad.
6. Con rango dinámico digital de 4×10^6 .
7. Capaz de monitorear los iones totales (corriente iónica total)
8. Capaz de monitorear el pico base.
9. Capaz de controlar el HPLC en forma integral.
10. Debe tener entrada analógica para la adquisición de datos de hasta 4 detectores de HPLC (UV,IR,etc.) a través del software.
11. Capaz de controlar los eventos externos.

A.2.9. Sintonía (tunning) y calibración:

1. Que pueda sintonizar el instrumento por medio del software, vía interfase gráfica que posibilita el control de cambio de MS a MS/MS, el modo de ionización y polaridad, la adquisición en modos MS y MS/MS, los parámetros de ionización, el voltaje del sistema de enfoque, la resolución del primer cuadrupolo Q1, la resolución del tercer cuadrupolo Q3, la energía de colisión y otros eventos.
2. La interfase para sintonía debe tener acceso a parámetros como los que regulan la energía de activación iónica y la energía de colisión normalizada. Controla y optimiza por barrido dinámico la energía de la celda de colisión ó segundo cuadrupolo Q2 y las variables operativas durante el enfoque.
3. Con facilidad de auto sintonización que incluye el modo Electrospray & APCI (según la sonda empleada).
4. Debe poder realizar rutinas de calibración en forma automática.

A.2.10. Software de aplicación:

1. Debe poseer un software que posibilita el tratamiento de datos para su cuantificación y ofrece una importante velocidad de procesamiento conjuntamente con la detección automática de los picos de interés.
2. Que pueda programar segmentos para dividir convenientemente la corrida. Cada segmento podrá tener varios eventos que ocurren durante su duración.
3. Debe permitir adquirir y mostrar la adquisición de: Barridos completos de masa (Full Scan), Monitoreos de iones seleccionados (SIM), Monitoreos de reacciones seleccionadas (SRM) para determinadas transiciones iónicas.
4. Que pueda ser operado en un entorno de seguridad y con sistema operativo Windows, permitiendo el total cumplimiento de las normativas de FDA al respecto de registros y firma electrónica.
5. Que Permita la comprensión racional de las estructuras y mecanística de esquemas de fragmentación, vinculable con las bibliotecas tanto de usuarios como las comerciales.
6. Que permita el análisis cualitativo de los datos adquiridos y su procesamiento para los fines analíticos específicos.
7. Debe permitir desarrollar métodos de cuantificación y reportes con gran flexibilidad, **solo controlado por el usuario según el nivel de acceso.**
8. Con facilidad que el usuario tiene pleno control y posibilidad de monitorear todas las piezas de la óptica iónica del instrumento. El sistema de datos efectúa lecturas de voltajes, flujos, temperaturas y estado de vacío del instrumento.
9. El sistema de datos debe cubrir virtualmente todos los diagnósticos del instrumento.

10. **Software complementarios:** Que sean capaces de analizar distintas aplicaciones entre ellas Tamizaje Neonatal y Toxicología.

Funciones de barrido avanzadas:

- Capaz de adquirir un barrido datos-dependiente basado en toda clase de barridos previos a éste.
- Capaz de cambiar la polaridad iónica del barrido datos-dependiente.
- Debe poseer características de MS/MS (cuantificación mejorada por barridos MS/MS datos-dependiente)
- Debe poseer función RER (rampa invertida de energía) para la generación de los espectros de iones producto.
- Con capacidad de realizar la exclusión temporal de un ión mientras se lleva a cabo la adquisición de los espectros MS/MS; aumenta la selectividad y mejora la señal de un compuesto seleccionado.
- Debe poseer capacidad de llevar a cabo barridos MS/MS cuando se detecta un patrón isotópico definido por el usuario.
- Que la fuente de ionización proporcione el funcionamiento fiable que se espera de un espectrómetro de masa y que a través de la alta resolución pueda discriminar entre sustancias de peso moleculares muy cercanas garantizando la selectividad de cada ión.
- **Funciones avanzadas:** Capaz de generar barridos MS-MS datos dependientes.

a.2.11. El sistema de datos debe incluir:

1. **Computadora de por lo menos 2.8 GHz o mas, 2 Gb de RAM y**
~~1. Procesador Intel® 3.0 GHz Pentium® IV con 1 Gb de memoria, 160Gb disco duro, -3.5”~~
1.44Mb diskette drive, 16X DVD+RW/+R, teclado Dell, USB, mouse óptico Dell USB o **versión mas actualizada en el mercado.** de características superiores.
2. Monitor plano a color 19” LCD.
3. Intel Video Card integrada.
4. Tarjeta controladora Ultra ATA100 integrada.
5. Tarjeta de red PCI 10/100 Twisted Pair Ethernet.
6. Sistema operativo: Windows XP Professional.
7. Microsoft® Office XP estándar.
8. Incluye software de control instrumental y de procesamiento y software de biblioteca NIST.
9. CPU
10. **Impresora láser**
~~9. Dimensiones Máximas (CPU): 48 cm de altura x 18 de ancho x 43 cm de profundidad.~~
~~10. Impresora láser: 20 cm de altura x 41 cm de ancho x 46 cm de profundidad.~~

A.2.12. Válvula de desvío de flujo:

1. Debe poseer una válvula de desvío de flujo totalmente automatizada de modo de poder derivar a la vía de deshechos al frente del solvente, al punto final del gradiente o a cualquier parte de la corrida del HPLC.
2. Esta válvula es de 6 vías **de distribución** y por estar totalmente controlada desde el software analítico permite su programación en cualquier momento de la corrida.
3. Con capacidad que el modo de operación es definible por el usuario: hacia el deshecho o hacia el detector.

A.2.13. Bomba para jeringa de infusión integrada:

1. Debe tener una bomba de jeringa integrada para permitir la infusión automática controlada por el sistema de datos.
2. Debe permitir infundir soluciones patrones directamente a la fuente de iones.
3. Debe estar totalmente controlada y automatizada por el software.
4. Esta bomba debe ser capaz de trabajar con la válvula de desvío para llevar a cabo inyecciones automatizadas.

A.2.14. Generador de nitrógeno:

1. Debe ser capaz de generar un caudal de nitrógeno de 30 L/min. Presión de salida: 7 Bar (100 psi).
2. Requerimiento eléctrico: 220V, 50-60Hz.
3. Posee 2 compresores de aire interno.

B-1: BOMBA CUATERNARIA:

1. Debe tener la capacidad de bombear 4 solventes (cuaternaria).
2. La bomba debe ser de doble pistón en serie y con mezclado de baja presión.

3. Que posea tecnología que mida la compresibilidad de los solventes y ajuste continuamente los tiempos de válvula y la eficiencia de bombeo para que permita la obtención de líneas de base excelentes sin necesidad de un amortiguador de pulsos en todas las condiciones operativas.
4. La bomba debe poder trabajar a presiones de hasta 600 bar (8700 psi). Tiene que poseer una resolución de presión de 0,01bar (0,15 psi).
5. La bomba debe poder trabajar con un flujo mínimo de 1 ul/min y una resolución de flujo de 0,1 ul/min.
6. Debe permitir alcanzar un flujo máximo de 5000 ul/min (rango de 1-5000 ul/min a 40-600 bar). Tiene que poseer una exactitud en el flujo de 0,5 % o 1 ul/min (cualquiera sea mayor).
7. Debe ser capaz de proveer una exactitud en la composición (gradiente) de $\pm 0,5\%$ en todo el rango de flujo y una precisión $< 0,2\%$ de desviación estándar relativa.
8. Debe poseer un volumen de retardo no mayor a 90 ul (rápida formación del gradiente y rápida equilibración).
9. Debe estar diseñada para desgasificar 4 canales con membranas de vacío, con un volumen interno menor de 500 ul por canal.
10. Dimensiones máximas (2): 30 cm de altura x 20 cm de ancho x 64 cm de profundidad.

C-1: MUESTREADOR AUTOMÁTICO:

1. El muestreador automático debe tener una precisión de inyección $\leq 1,0\%$ a 5 ul de volumen de inyección ó mayor.
2. El muestreador automático debe tener “efecto memoria” (carry-over) $\leq 0,005\%$ con detección UV (254 nm) y lavado de aguja de jeringa con 1 ml de metanol.
3. El muestreador automático debe ser capaz de inyectar un volumen mínimo de muestra de 1 ul a partir de un volumen total de muestra de 5 ul.
4. Debe poseer controles completos de temperatura que permitan mantener a la fase móvil, la válvula del inyector y la columna a la misma temperatura, desde 4°C a 95°C con una exactitud de $\pm 0,5^\circ\text{C}$ e incrementos seleccionables de 1°C.
5. Debe tener una válvula de alta presión recubierta en diamante que permita trabajar a presiones tan altas como 1000 bar.
6. El ciclo de tiempo del muestreador automático debe ser ≤ 30 seg para un volumen de inyección de 10 ul.
7. Debe poseer la siguiente capacidad de muestreo: 200 viales de 1,8 ml en 5 bandejas removibles; 288 muestras en 3 bandejas de 96 microplatos (de perfil bajo o profundo de 0,1 ml o 0,2 ml ~~1 ml o de 2 ml~~); 1152 muestras en 3 bandejas de 384 microplatos (microplatos de PCR). Para volúmenes pequeños se deben poder usar insertos de plástico ó vidrio.
8. El muestreador automático debe ser capaz de controlar la temperatura de las muestras entre 0°C y 60°C con una exactitud de $\pm 0,5^\circ\text{C}$ con incrementos seleccionables de 1°C.
9. Debe poder controlar la altura de la aguja en incrementos de 0,1 mm para poder sensar y buscar el fondo del vial. Esta característica debe ser seleccionable por el usuario (ON/OFF).
10. Debe ser capaz de generar señales analógicas remotas para los comandos de “bomba lista” e “inyección en espera”.
11. El muestreador automático debe ser capaz de aceptar señales analógicas remotas para los comandos “detener la bomba”, “muestreador automático listo”, “inyección de muestra”, “comienzo del gradiente” y 4 eventos programados post-inyección.
12. El muestreador automático debe tener la capacidad para 4 viales de reactivos de 15 ml para hacer fluir solventes, lavar, diluir muestras y/o para reactivos de ~~con o sin~~ derivatización, etc.

D-1: DETECTOR:

1. El detector debe poder monitorear longitudes de onda en un rango de 190 a 800 nm en incrementos de 1 nm.
2. El detector tiene que tener una exactitud en la longitud de onda de ± 1 nm.
3. Debe ser capaz de proveer una resolución digital de 1,2 nm por diodo.
4. El arreglo de fotodiodos (PDA) debe poseer un calibrante consistente en una solución de óxido de Holmio en ácido perclórico en un vial de cuarzo sellado. El calibrador utilizado en el detector debe suministrar calibración de longitudes de onda tanto en la región ultravioleta como en la visible del espectro.
5. Debe poseer lámparas pre-alineadas de Deuterio y Tungsteno.
6. Debe ser capaz de utilizar una tecnología (como fibra óptica que convierte un haz circular en plano y celda tipo “LightPipe” con mínimo nivel de dispersión) que posibilite una excelente separación cromatográfica y asegure máxima transmisión de radiación a los diodos para optimizar la sensibilidad.

- 7. Debe ser capaz de acomodar celdas de flujo tipo “LightPipe” con 10 mm de camino óptico y 2 ul de volumen o 50 mm y 10 ul. Presión de operación 0-1000 psi.
- 8. Debe operar a velocidades de barrido entre 0,5 y 80 Hz seleccionable por el usuario y programable.
- 9. El detector debe tener un ruido a corto plazo de ≤6 uAU/cm a 254 nm a 5 Hz (celda de flujo de 50 mm y 20 Hz de velocidad de barrido).
- 10. El detector debe tener una deriva de ≤1 m UA/hora un una vez haya pasado el período de estabilización térmica (<90 min) a 254 nm y 546 nm.
- 11. El detector debe tener un arreglo del diodo de al menos 512 fotodiodos
- 12. Rango de absorbancia desde -2,0 a +4,0 UA.
- 13. Debe poseer hasta 2 salidas analógicas de absorbancia con capacidad de conversión digital/analógica de 20 bits ó sin atenuación a 10 mV/UA, 100 mV/ UA ó 1,0 V/UA.

ACCESORIOS DEL EQUIPO

- UPS para protección del todo el sistema.
- Incubadora de 4 platos.
- Micropipetas multicanal
- Ponchador

OBSERVACIONES SUGERIDAS PARA EL PLIEGO DE CARGOS.

- 1. Garantía de dos (2) años mínimo en piezas y mano de obra, a partir de la fecha de aceptación a satisfacción.
- 2. Un (1) ejemplar del manual de operación y funcionamiento en español.
- 3. Un (1) ejemplar del manual de servicio técnico, debe incluir lista de partes.
- 4. Presentar programa de mantenimiento preventivo **semanal, bimensual y semestral** ~~que brindará cada seis (6) meses~~ **y mantenimiento correctivo** o cuando lo solicite la Unidad Ejecutora, durante el período de garantía.
- 5. Brindar entrenamiento de operación de **80 horas** ~~16 horas mínimo~~, al personal del servicio de genética (máximo **4** ~~3~~ personas), que tendrán a su cargo la operación del equipo.
- 6. **Brindar entrenamiento de mantenimiento y reparación de 80 horas mínimo, al personal de biomédica de la institución (1 persona).**
- 7. Certificación del fabricante en donde confirme disponibilidad de piezas de repuestos por un período de 7 años mínimo.
- 8. **Presentara carta en la cual certifique que el proveedor tiene taller, piezas de repuesto y personal idóneo que le permite brindar mantenimiento preventivo y correctivo.**
- 9. Presentar información del fabricante que indique que los equipos cuentan con la aprobación de alguna de estas normas: FDA o TUV o CSA o CE **o ISO 9000**
- 10. Presentar información del fabricante que indique que los equipos cuentan con la aprobación de alguna de estas normas de procesos de fabricación y prueba de sistemas eléctricos: UL o IEC ~~o ISO 9000~~.
- 11. Certificación emitida por el fabricante de que el equipo es nuevo no reconstruido.
- 12. La empresa se compromete a suministrar todos los accesorios necesarios para su utilización de acuerdo a los requerimientos del usuario.

Siendo las 4:00 pm se finaliza la reunión con la firma de la presente acta.

FIRMA	INSTITUCIÓN

Licda. Adriana Muñoz
Secretaria Ejecutiva Encargada-CTNI,