

Artículos Originales

Empresa de Productos Biológicos "Carlos J. Finlay"

RAPIGLUCO-TEST. RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN EXTERNA Y PRUEBAS DE TERRENO

Niurka Russeaux Guía,¹ Lilliam Valdés Diez² y Yuria Bilbao Abraham³

RESUMEN

Se evaluó el RapiGluco-Test en el Centro Nacional de Referencia para el Laboratorio Clínico. El intervalo de linealidad resultó satisfactorio entre 2,5 y 22 mmol/L de glucosa y la recuperación del método fue del 90 %. En el estudio de exactitud, tanto para los lotes experimentales como para los de escalado, se encontró buena correlación con los métodos de referencia utilizados. La precisión evaluada a 2 niveles de concentración fue buena. Se distribuyeron 49 lotes del reactivo en hospitales y policlínicos de todo el país y se realizaron 1 818 000 determinaciones de glucosa entre 1993 y 1996. No se presentaron quejas en relación con el comportamiento del producto.

Descriptor DeCS: GLUCOSA DE LA SANGRE; INDICADORES Y REACTIVOS/análisis.

La glucosa es el carbohidrato más importante de la química clínica; se almacena en el hígado en forma de glucógeno, liberándose en la sangre como glucosa para satisfacer las necesidades del organismo.

La variación de la concentración de la glucosa sanguínea está relacionada con diversos estados patológicos, fundamentalmente con la diabetes mellitus.¹ Esta enfermedad está caracterizada por una secreción anormal de insulina y se refleja

en una tendencia a la hiperglicemia, lo que constituye un grave problema de salud tanto en los países desarrollados como en los subdesarrollados, por ser una importante causa de discapacidad y muerte.²

Se prevé que para el 2010, el número de diabéticos en los países de América Latina y el Caribe aumente a 20 millones, debido principalmente por el envejecimiento de la población, así como los cambios sociales y sus factores de riesgo asociados.³ En Cuba,

¹ Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Investigadora Agregada.

² Master en Ciencias en Bioquímica de las Proteínas. Investigadora Titular.

³ Ingeniera Química. Investigadora Agregada.

la incidencia y prevalencia de esta enfermedad alcanza cifras de hasta 4 por 100 000 habitantes la primera y 16,8 por 1 000 habitantes la segunda, por lo que representa la séptima causa de muerte (Díaz O. Comunicación personal. Instituto de Endocrinología. Ciudad de La Habana. 1997).

Por la elevada incidencia y graves consecuencias clínicas de la diabetes mellitus, la cuantificación de los niveles de glucosa sanguínea resulta de gran interés para el diagnóstico, control y seguimiento de los pacientes diabéticos y han sido descritas diversas metodologías, entre las que se encuentran las basadas en la capacidad reductora de los azúcares y las de condensación con fenoles y aminas aromáticas, que son inexactas e inespecíficas, por lo que han evolucionado hacia métodos enzimáticos;⁴ estos últimos son los más empleados por su elevada especificidad y están siendo utilizados en los biosensores para realizar determinaciones continuas al pie del paciente.^{5,6}

Entre los métodos enzimáticos, aquellos basados en la reacción de TRINDER⁷ son ampliamente utilizados en el trabajo de rutina, ya que el sistema es altamente específico, preciso, exacto, presenta buena sensibilidad y puede ser adaptado, tanto al trabajo manual como automatizado.

El RapiGluco-Test desarrollado en la Empresa de Productos Biológicos "Carlos J. Finlay", es un reactivo único para la determinación de glucosa en suero basado en la reacción de TRINDER; la evaluación del comportamiento de este en los distintos niveles de atención constituye el objetivo del presente trabajo.

MÉTODOS

El RapiGluco-Test se presenta en forma líquida como reactivo único listo para usar; contiene las enzimas glucosa oxidasa y

peroxidasa, fenol y 4 aminofenazona en *buffer* fosfato pH 7,5 con la presencia de estabilizantes y preservos.

Para la evaluación de la formulación se utilizaron 5 lotes experimentales de 10 L, 46 lotes producidos a escala piloto de 50 L y 3 lotes de escalado de 130 L.

La evaluación externa se realizó en el Centro Nacional de Referencia para el Laboratorio Clínico del Hospital "Hermanos Ameijeiras" con el lote experimental 0004.

Comparación de métodos. Se analizaron 200 muestras de suero de pacientes con el reactivo en estudio y con un juego de reactivos de la firma BIOMERIEUX Ref. 6 1271 como método de referencia.

Linealidad. Se utilizó un Preciset de glucosa de la firma Boehringer Mannheim Ref. 125 598 en el intervalo de 2,5 hasta 22 mmol/L de glucosa. La curva de calibración se realizó por triplicado y se calculó el coeficiente de regresión lineal.

Imprecisión. Se evaluó a 2 niveles de concentración, 6,36 y 14,72 mmol/L. Se efectuaron 4 repeticiones por la mañana y 4 repeticiones por la tarde durante 10 d de un suero control Precinorm U de la firma Boehringer Mannheim Ref. 171 743, y se calculó el coeficiente de variación total.

Recuperación del método. Se añadieron cantidades conocidas del analito a la muestra para lograr 6 concentraciones en el intervalo de linealidad obtenido, se calculó la concentración de cada punto y los porcentajes de recuperación por punto y total según:

$$\% R = (\text{conc. obtenida}/\text{conc. teórica}) \times 100$$
$$\% R_t = \% R/N$$

donde:

$$N = \text{cantidad de puntos} = 6$$

Se evaluó la exactitud del reactivo en los lotes de escalado 6004, 6006 y 6007,

mediante el análisis de 50 muestras de pacientes con el reactivo en estudio y uno de la firma Boehringer Mannheim Ref. 124 028.

Los lotes producidos a escala piloto y los de escalado fueron sometidos a los ensayos de control de calidad previamente establecidos, los que se distribuyeron en 33 hospitales y 53 policlínicos de las 14 provincias del país para introducir el reactivo en el trabajo de rutina del laboratorio y se mantuvo un seguimiento de su comportamiento. Fueron realizadas 1 818 000 determinaciones de glucosa en todo el país durante 1993 y 1996.

RESULTADOS

En la tabla se presentan los resultados de la comparación de métodos, el valor medio (\bar{X}) y la desviación estándar (DE) para los ensayos realizados. El coeficiente de correlación entre ambos métodos fue de 0,9972 y la ecuación de la recta $Y = 0,962 X + 0,047$.

TABLA. Comparación de métodos

Método	N	\bar{X}	DE
RapiGluco-Test	200	5,3464	2,0374
BIOMERIEUX	200	5,4350	1,5300

El estudio de linealidad resultó satisfactorio en el intervalo de concentraciones estudiado; se obtuvo un coeficiente de regresión lineal de 0,9991.

En el estudio de imprecisión efectuado para 6,36 mmol/L se obtuvo un coeficiente de variación de 4,06 % y para 14,72 mmol/L el coeficiente de variación fue de 2,12 %.

En las figuras 1, 2 y 3 se muestran las curvas obtenidas al evaluar la exactitud en los lotes de escalado 6004, 6006 y 6007 frente al reactivo de Boehringer Mannheim. Los coeficientes de correlación obtenidos fueron 0,9900, 0,9986 y 0,9992, respectivamente.

FIG. 1. Exactitud, lote 6004.

FIG. 2. Exactitud, lote 6006.

FIG. 3. Exactitud, lote 6007.

DISCUSIÓN

El desarrollo de un medio diagnóstico debe estar encaminado a resolver las pruebas de mayor uso, lograr su introducción en un período corto y ofertar un producto confiable. Este trabajo comienza con el planteamiento del problema y culmina con la introducción a la producción, pasando por diferentes etapas en las que se conforma la calidad del producto, incluyendo también la evaluación en el terreno.

Esta etapa resulta sumamente importante para comprobar el nivel de calidad y robustez del diagnosticador, ya que se somete a condiciones completamente diferentes a las del laboratorio en el que se desarrolló, donde inciden el factor humano, las diferencias en el equipamiento, así como variaciones en la temperatura de almacenamiento, condiciones y tiempo de transportación, entre otros.

La evaluación externa del RapiGluco-*Test* permitió corroborar los resultados del estudio realizado en nuestro laboratorio. Se obtuvo una buena correlación con el método de referencia empleado ($r = 0,9972$) y los valores promedio de concentración encontrados concuerdan perfectamente.

El intervalo de linealidad obtenido entre 2,5 y 22 mmol/L de glucosa fue comprobado por el coeficiente de regresión lineal. Este intervalo coincide con el de interés clínico, lo que permite ensayar muestras con concentraciones de glucosa muy elevadas sin tener que realizar diluciones previas.

Un comportamiento importante a evaluar es la imprecisión del método a distintos niveles de concentración. En este estudio se ensayaron 2 niveles, uno medio (6,36 mmol/L) y otro patológico (14,72 mmol/L). Los coeficientes de variación obtenidos fueron de 4,06 y 2,12 %, respectivamente; ambos se encontraron por debajo del valor permitido para esta determinación, lo que brinda gran seguridad para la toma de decisiones médicas.

Los ensayos de recuperación nos dan criterios sobre la exactitud del método; el valor obtenido del 90 % para el RapiGluco-*Test* expresa la posibilidad de este reactivo de dar valores altamente confiables en las muestras que se investiguen.

La evaluación en paralelo de 50 muestras de sueros de pacientes realizada con los lotes de escalado y un reactivo comercial de la firma Boehringer Mannheim, nos permitió comprobar el comportamiento del producto al aumentar los niveles de producción, lo que corrobora la consistencia del proceso productivo. Los resultados de la exactitud de estos ensayos, expuestos en las figuras 1, 2 y 3, muestran coeficientes de correlación de 0,9900 para el lote 6004, 0,9986 para el lote 6006 y 0,9992 para el lote 6007, y dan un criterio de que el valor

Los resultados obtenidos con el RapiGluco-Test en los laboratorios, tanto de hospitales como de policlínicos, permitieron avalar su funcionalidad en todos los niveles de atención, por lo que se decidió

introducirlo en la producción, y así posibilita que el Laboratorio Clínico disponga de una metodología actualizada, precisa, exacta y reproducible para la determinación de glucosa en suero, que además resulta rápida.

SUMMARY

The RapiGluco-Test was evaluated at the National Center of Reference for Clinical Laboratory. The lineality interval was successful between 2.5 and 22 mmol/L of glucose and the recovery of the method was of 90%. During the accuracy test it was found that both the experimental lots and the scale-up lots had a good correlation with the reference methods used. The precision evaluated at 2 levels of concentration was also good. 49 lots of the reagent were distributed in hospitals and polyclinics all over the country. 1 818 glucose determinations were obtained from 1993 to 1996. There were no complaints about the behaviour of the product.

Subject headings: BLOOD GLUCOSE; INDICATORS AND REAGENTS/analysis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sonnerwirth JG. Métodos y diagnósticos del laboratorio clínico. La Habana: Editorial Científico-Técnica, 1985; t-1:199.
2. Sainato D. Labs slow to implement new diabetes testing guidelines. Clin Lab News 1998;24(2):1-6.
3. George A. La diabetes: una declaración para las Américas. Bol Of Sanit Panam 1996;121(2):461-6.
4. Henry RJ, Cannon DC, Winkelman JW. Química clínica. Bases y técnicas. 2 ed. Barcelona: Jims, 1980; t-2:1284-318.
5. Chen CY. A biocompatible nedletype glucose sensor based on platinum electroplate carbon electrode. Appl Biochem Biotechnol 1992;36(3):211-26.
6. Papkoski DB, Savistki AP, Yaropolov AI, Panomares GV, Rumyantseva VD, Mironov AF. Flow injection glucose determination with long wavelength luminiscent oxygen probe. Biomed Sci 1991;2(1):63.
7. Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. Ann Clin Biochem 1969;6(24):

Recibido: 16 de febrero del 2000. Aprobado: 3 de marzo del 2000.

Lic. Niurka Russeaux Guía. Empresa de Productos Biológicos "Carlos J. Finlay". Infanta No. 1162 entre Manglar y Línea de Ferrocarril, municipio Centro Habana, Ciudad de La Habana 10300, Cuba.