

Bioquimia

Volumen 30
Volume

Número 4
Number

Octubre-Diciembre 2005
October-December

Artículo:

Preparación y evaluación de un equipo de reactivos para la determinación de glucosa (glucosa oxidasa/peroxidasa)

Derechos reservados, Copyright © 2005:
Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica, AC

**Otras secciones de
este sitio:**

-  [Índice de este número](#)
-  [Más revistas](#)
-  [Búsqueda](#)

***Others sections in
this web site:***

-  [Contents of this number](#)
-  [More journals](#)
-  [Search](#)



medigraphic.com

Preparación y evaluación de un equipo de reactivos para la determinación de glucosa (glucosa oxidasa/peroxidasa)

Martha Pérez-Espinoza,* Eduardo Brambila*

RESUMEN

Este trabajo describe la preparación y evaluación de un equipo de reactivos para la determinación de glucosa plasmática por el método de Trinder. La evaluación incluyó la determinación de linealidad, precisión intra- e inter-día, el estudio del efecto de interferentes, recobro y comparación de métodos para estimar el error analítico total. Los resultados mostraron que el método fue lineal hasta 400 mg/dL, además de tener una excelente precisión, con coeficientes de variación inter- e intra-día de 0.67% y 1.13% respectivamente. La determinación de glucosa sólo fue afectada por hemólisis e ictericia muy intensa, así como por elevadas concentraciones de ácido ascórbico. Diferentes cantidades de glucosa añadidas a las muestras fueron recuperadas al 100%. La comparación del equipo de reactivos con el método de la hexocinasa mostró una elevada correlación ($r = 0.996$), sin embargo, los resultados fueron aproximadamente 5 mg/dL menores a los de la hexocinasa. El error total del método (5.8 mg/dL) a un nivel de decisión médica de 120 mg/dL, fue menor al establecido como estándar de calidad analítica (10 mg/dL). Los límites de referencia estimados a partir de un grupo de individuos seleccionados fueron de 67 a 111 mg/dL. Con base en estos resultados podemos afirmar que el equipo de reactivos elaborado en nuestro laboratorio tiene la calidad analítica para ser empleado como una herramienta confiable en el análisis de glucosa plasmática.

Palabras clave: Glucosa reactivos, linealidad, precisión, exactitud, evaluación de métodos, comparación de métodos, límites de referencia, error total, estándares de calidad.

ABSTRACT

In this work we describe the elaboration and evaluation of a glucose kit based in the Trinder method. Glucose kit evaluation included studies of linearity, within-run and between-day precision assays, recovery, and method comparison to determine total error of the kit. Results showed that the kit was linear up to 400 mg/dL, in addition it had an excellent precision with within-run and between-day coefficients of variation of 0.67% and 1.13%, respectively. Glucose kit was affected only by high haemoglobin and bilirubin concentrations, and high levels of ascorbic acid. Addition of several glucose amounts to the samples was 100% recovered. Method comparison studies using the hexocinase method as a reference method shown a highly correlation ($r = 0.996$), but, results were approximately 5 mg/dL lower in the glucose kit prepared in our laboratory. Total error in our method (5.8 mg/dL) was acceptable as compared with the maximum allowable error to glucose assays (10 mg/dL). Reference limits obtained from selected individuals were 67 to 111 mg/dL. Based in these results we state that the glucose kit prepared in our laboratory has the analytic quality to be used for plasma glucose determinations.

Key words: Glucose kit, linearity, precision, bias, method evaluation, method comparison, reference limits, total error, quality standards.

* Laboratorio de Investigaciones Químico Clínicas, Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, Pue. México.

Correspondencia:

D.C. Eduardo Brambila
Laboratorio de Investigaciones Químico Clínicas, Fac. de Ciencias Químicas, BUAP. Gral. Pedro Hinojosa Núm. 17. Lomas de Loreto. 72260. Puebla, Pue. México. e-mail: ebrambila@siu.buap.mx

Recibido: 02-09-2005

Aceptado: 7-11-2005

INTRODUCCIÓN

La determinación de la concentración de glucosa en plasma o suero constituye una de las determinaciones más frecuentemente realizadas por los laboratorios clínicos en el mundo.

Los métodos para la determinación cuantitativa de glucosa en los líquidos biológicos tienen su origen en el siglo XIX, con la aparición del reactivo de Fehling para la determinación de carbohidratos.¹ Tomando como

base las características reductoras de los carbohidratos, a principios del siglo XX se desarrollaron una serie de métodos fundamentados en reacciones de óxido-reducción, los cuales incluían una primera reacción de reducción de Cu^{++} a Cu^{+} , seguida por la reducción de diferentes compuestos por el Cu^{+} para producir productos coloreados que se medían por colorimetría. Con este fundamento aparecieron los métodos de Benedict,² Folin y Wu,³ Nelson y Somogyi⁴ y el método de la reducción del ferricianuro⁵ siendo el primer método automatizado para la determinación de glucosa.⁶ Debido a la falta de especificidad de los métodos de óxido-reducción⁷ se hizo necesario desarrollar métodos más específicos, como los métodos de la o-toluidina y sus modificaciones,^{8,9} antrona,¹⁰ etc. Estas determinaciones, introducidas entre los años 40 y 50 fueron empleadas por un gran número de laboratorios durante casi 20 años, sin embargo, debido a la elevada toxicidad de los reactivos y la dificultad para automatizarlos, los métodos de condensación fueron reemplazados paulatinamente por métodos basados en el uso de enzimas como reactivos, menos tóxicos y fáciles de automatizar. El método de la glucosa oxidasa, fue uno de los primeros ensayos en ser aplicados para la evaluación rutinaria de un gran número de especímenes.¹¹ En la actualidad, debido a sus características analíticas y su bajo costo, sigue siendo el método de elección por la mayoría de los laboratorios clínicos. En adición a este método, aparecieron métodos basados en el uso de otras enzimas como la hexocinasa¹² (Passey y cols., 1977) y la glucosa deshidrogenasa.⁷ Actualmente el método de la hexocinasa es considerado como el método de referencia por su elevada especificidad, gran sensi-

bilidad, así como por su excelente precisión y exactitud.

Recientemente, en el laboratorio de investigaciones químico clínicas de la Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, hemos iniciado un proyecto encaminado a la preparación de "equipos de reactivos" para las determinaciones más frecuentes en el área de la química clínica. En este artículo describimos la elaboración del método para la determinación de glucosa descrito por Trinder, así como la evaluación de este método de acuerdo a los estándares de calidad vigentes y la obtención de límites de referencia a partir de un grupo de individuos representativos de la población.

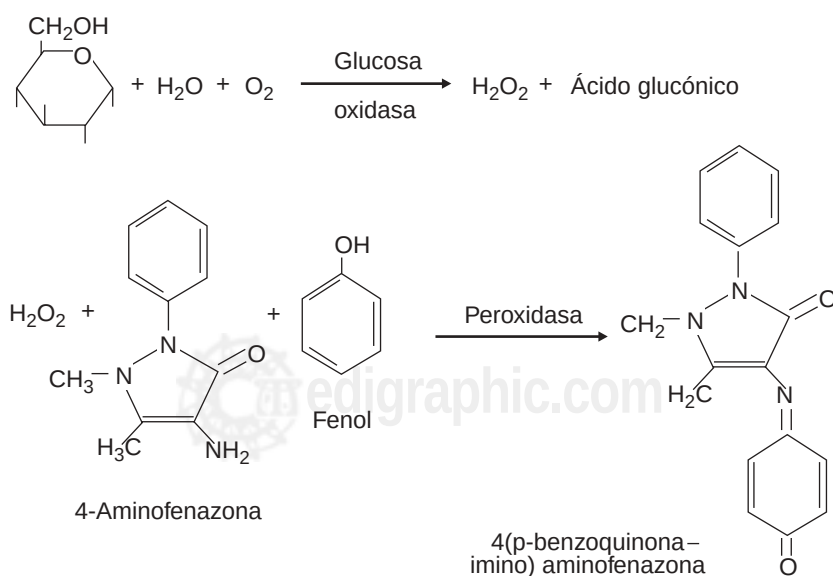
MATERIAL Y MÉTODOS

Enzimas y reactivos

Las enzimas y reactivos empleados para la preparación del equipo de reactivos, fueron obtenidos de la casa comercial Sigma-Aldrich Química, (Toluca, México); los cuales incluyeron: glucosa oxidasa (EC 1.1.3.4) y peroxidasa de rábano (EC 1.11.1.7), 4-aminofenazona, fenol, glucosa y tween 20. Los reactivos utilizados para la preparación de los amortiguadores fueron grado analítico.

Reacción y composición del equipo de reactivos¹³

La medición de glucosa en las muestras se basó en la siguiente reacción:



Amortiguador de fosfatos 100 mmol/L pH 7.0. A 800 mL de agua destilada se agregaron 12.95 g de fosfato disódico dihidratado, 4.95 g de fosfato de potasio anhidro y 0.5 g de azida de sodio. Los reactivos se disolvieron, se ajustó a un pH de 7.0 y la solución se llevó a un volumen final de 1 L.

Reactivo de color. A 100 mL del amortiguador de fosfatos se añadieron 16 mg de 4-aminofenazona, 1,800 U de glucosa oxidasa (EC 1.1.3.4), 100 U de peroxidasa (EC 1.11.1.7), 105 mg de fenol y 50 µL de tween 20.

Estándar de glucosa. Para la calibración del método se preparó un estándar de glucosa con una concentración de 1 g/L en solución de ácido benzoico al 0.1%. A partir de esta solución se prepararon estándares individuales para la evaluación de la linealidad del método y estándares de trabajo con una concentración de 100 mg/dL. Adicionalmente, para calibración del método se empleó un estándar trazable de glucosa con una concentración de 100 mg/dL (Sigma-Aldrich Química, Toluca, México).

Procedimiento y cálculos. A 1.0 mL de reactivo de color se adicionaron 10 µL de suero, estándar o agua para preparar los problemas, estándares o blanco respectivamente. Las mezclas de reacción se incubaron durante 10 min a 37°C y se realizaron las lecturas espectrofotométricas de los problemas y estándares a 510 nm, calibrando el espectrofotómetro contra el blanco de reactivos. Para este estudio se empleó un espectrofotómetro UV/VIS Lambda EZ 150 (Perkin Elmer, México).

El cálculo de la concentración de los problemas se determinó dividiendo el valor de la absorción del problema entre el estándar, y el resultado se multiplicó por la concentración del estándar.

Evaluación del método¹⁴

Linealidad. La linealidad del método se determinó mediante la cuantificación de estándares de glucosa con concentraciones de 50 a 1,000 mg/dL. El estudio se realizó por triplicado.

Variabilidad intra-día e inter-día. La variabilidad intra-día se determinó mediante la estimación del CV analizando 20 veces, en un mismo día de trabajo, un suero de control con concentraciones de glucosa cercano al nivel de decisión médica (110 mg/dL). De igual forma, la variabilidad inter-día se determinó mediante la estimación del CV, analizando durante 20 días sucesivos la concentración de glucosa en el suero de control.

Interferentes. Para evaluar el efecto interferente de ciertas sustancias en la determinación de glucosa,

se prepararon muestras mediante la adición de diferentes cantidades de hemoglobina, bilirrubina, ácido ascórbico y los anticoagulantes citrato de sodio, oxalato de sodio y EDTA-disódico (*Cuadro I*). Adicionalmente se prepararon muestras con diferentes cantidades de lípidos, obteniendo así muestras con lipemia ligera, moderada e intensa. Para cada muestra con el interferente (problema) se preparó un tubo con la concentración basal de glucosa sin el interferente (testigo). Las muestras se analizaron por triplicado, y la diferencia entre los tubos testigo y problema se atribuyó al interferente.

Recobro. Los estudios de recobro se realizaron adicionando cantidades conocidas de glucosa a una muestra. Para este estudio en cada muestra se adicionó glucosa en concentraciones equivalentes a 100, 300 y 500 mg/dL. Los resultados, obtenidos por triplicado en cada muestra, se expresan en porcentaje de recobro, el cual se obtiene dividiendo la concentración de glucosa medida entre la cantidad de glucosa añadida por 100.

Comparación de métodos. El equipo de reactivos preparado en el laboratorio se comparó con un

Cuadro I. Interferentes del método de determinación de glucosa.

Aspecto		Interferente añadido (mg/dL en la muestra)	Interferencia glucosa (mg/dL)
Hemólisis	Leve	21	0.5
	Moderada	43	2.8
	Intensa	86	4.8
	Muy intensa	172	7.2
Ictericia	Leve	2.5	0.2
	Moderada	5.0	1.8
	Intensa	10.0	-1.8
	Muy intensa	20.0	-6.9
Lipemia	Leve	ND	1.3
	Moderada	ND	3.3
	Intensa	ND	4.8
Ácido ascórbico		2.5	-3.0
		5.0	-14.5
Citrato de sodio		2.5	-2.3
Oxalato de sodio		2.0	2.8
EDTA- Na_2		2.0	1.0

ND. No determinado

equipo de reactivos comercial (SPINREACT, Naucalpan, México), basado en el mismo fundamento, así como con el método de referencia de la hexocinasa (Diagnostic Chemicals Limited, Prince Edward Island, Canada). Para este estudio se emplearon 60 especímenes de pacientes con un intervalo de concentraciones de glucosa entre 60 y 450 mg/dL. En cada espécimen se determinó simultáneamente la concentración de glucosa sérica con los tres métodos y el análisis estadístico de los resultados se realizó de acuerdo al procedimiento propuesto por Westgard y Hunt,¹⁵ empleando los programas estadísticos Microsoft Excel 2003, Method Validator V. 1.1.10.0 y Cbsstat V. 4.2.1, mediante la correlación y regresión de Deming. Se consideró un valor de $p < 0.05$ como estadísticamente significativo.

Estimación de los errores del método. Los errores al azar y sistemáticos del equipo de reactivos se calcularon a partir de los resultados de variabilidad inter-día y de los estudios de comparación de métodos. El error total fue estimado mediante la suma de los errores al azar y sistemático.¹⁴

Límites de referencia

Selección de individuos de referencia. Para este estudio se empleó una selección prospectiva¹⁶ de 120 individuos, de ambos sexos, clínicamente sanos con una edad comprendida entre los 18 y 50 años. Los criterios para la inclusión, exclusión y división de los individuos de referencia se obtuvieron a partir de la información recabada en un cuestionario aplicado antes de la obtención de los especímenes. Los individuos con antecedentes familiares directos de diabetes mellitus o alteraciones hormonales fueron excluidos como individuos de referencia. De cada individuo de referencia se obtuvo un espécimen sanguíneo, se separó el suero e inmediatamente se realizó la determinación de la concentración de glucosa.

Obtención de los límites de referencia. Los resultados de las determinaciones de glucosa de los individuos de referencia seleccionados se trataron estadísticamente de acuerdo a las recomendaciones de la Federación Internacional de Química Clínica¹⁷ con ayuda del programa estadístico Cbsstat V. 4.2.1, basado en los procedimientos NCCLS. Para la obtención final de los límites de referencia se empleó un método paramétrico, el cual contempla la transformación de distribuciones no normales a normales mediante transformaciones matemáticas de los datos originales.¹⁷

RESULTADOS

La *figura 1* muestra la linealidad del método de determinación de glucosa elaborado en el laboratorio y que fue obtenida al utilizar estándares de glucosa con concentraciones de 50 a 1,000 mg/dL. El método fue lineal hasta una concentración de 450 mg/dL, a concentraciones mayores el método mostró una desviación de la ley de Lambert-Beer hacia valores más bajos. Por lo tanto, las muestras con concentraciones mayores a 450 mg/dL de glucosa se diluyeron con solución salina y después de repetir la determinación, los resultados se multiplicaron por el factor de dilución correspondiente.

El coeficiente de variación (CV), obtenido de los resultados de 20 determinaciones de glucosa realizadas en una misma muestra, en un día de trabajo, fue de 0.67%, mientras que el CV de 20 determinaciones de glucosa realizadas en 20 días consecutivos en la misma muestra fue de 1.13%.

Los resultados de la concentración sérica de glucosa con la presencia de diferentes interferentes se muestran en el *cuadro I*. La hemólisis y lipemia produjeron una interferencia positiva, que fue proporcional a la cantidad de hemólisis o lipemia presente, 100 mg/dL de hemoglobina y una lipemia intensa (estimada visualmente) produjeron un incremento aparente de glucosa de 4.2 y 4.8 mg/dL, respectivamente. La ictericia mostró una interferencia negativa que fue proporcional a la cantidad de bilirrubina presente en la muestra, la presencia de 20 mg/dL de bilirrubina se vio reflejada en una disminución aparente de glucosa

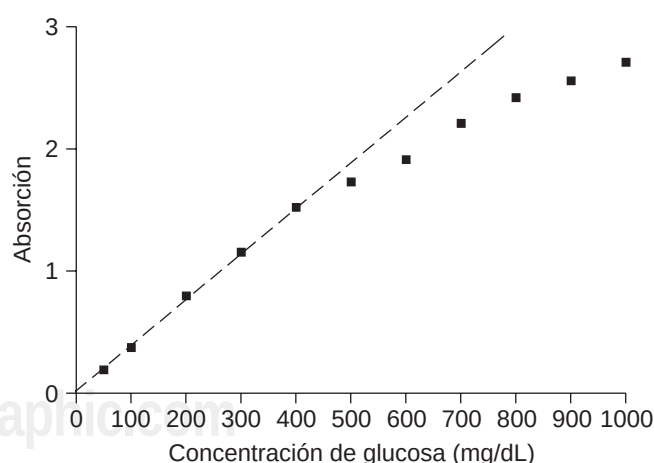


Figura 1. Linealidad del método. La absorción del producto de la reacción se determinó a 500 nm. Las diferentes concentraciones de glucosa se obtuvieron a partir de la dilución de un estándar con una concentración de 1 g/dL.

de 6.9 mg/dL. De igual forma, la adición de ácido ascórbico a concentraciones de 5 mg/dL mostró una fuerte interferencia negativa para glucosa del orden de los 14.5 mg/dL. La presencia de los anticoagulantes citrato de sodio, oxalato de sodio y EDTA- Na_2 no mostraron interferencias significativas a las concentraciones frecuentemente usadas en la preparación de plasma sanguíneo.

El *cuadro II* muestra los resultados de recuperación del método. El porcentaje de recuperación después de la adición de 100 y 300 mg/dL de glucosa a una muestra de suero fue cercano al 100%, mientras que la recuperación después de la adición de 500 mg/dL, empleando el método sin modificar fue del 92.9%, sin embargo al realizar una dilución de la muestra, los resultados de recuperación incrementaron al 97%, poniendo de manifiesto la importancia de conocer la linealidad del método.

Con la finalidad de evaluar la existencia de errores sistemáticos, el método elaborado en el laboratorio se comparó con un método comercial, basado en el mismo fundamento, así como con el método de referencia de la hexocinasa. La comparación entre el método elaborado respecto al comercial mostró una excelente correlación ($r = 0.999$, $p < 0.01$), obteniéndose prácticamente los mismos resultados, la diferencia promedio entre estos dos métodos fue de 0.18 mg/dL de glucosa (*Figura 2*). La comparación con el método de la hexocinasa también mostró una elevada correlación ($r = 0.996$, $p < 0.01$), sin embargo, el método elaborado en el laboratorio presentó una diferencia sistemática constante del orden de -5.0 mg/dL respecto al método de referencia (*Figura 3*). El error total del método a niveles de decisión médica de 50 y 120 mg/dL de glucosa fueron de 5.7 y 4.7 mg/dL de glucosa, respectivamente.

El estudio estadístico de los valores de referencia obtenidos a partir de 120 individuos clínicamente sanos mostraron una asimetría y curtosis significativa, por lo que se requirió aplicar una transformación ma-

temática a los valores originales que incluyó una función exponencial modular en dos etapas, esta transformación permitió la normalización de los datos originales.¹⁷ Finalmente, con los datos transformados a una distribución normal se determinaron los límites de referencia, los cuales correspondieron al intervalo de 65 a 111 mg/dL de glucosa.

DISCUSIÓN

Este trabajo tuvo como objetivo elaborar un equipo de reactivos para la determinación de glucosa plasmática basado en el método descrito por Trinder. Con la finalidad de conocer las características analíticas del

Cuadro II. Estudio de recobro de glucosa.

Glucosa añadida (mg/dL)	Glucosa recobrada* (mg/dL)	Glucosa recuperada (% de recuperación)
100	100.6	100.5
300	301.2	100.4
500	464.5 [†]	92.9
500	485.0 [‡]	97.0

* Promedio de al menos 3 determinaciones en cada ensayo; [†] glucosa medida sin modificación del método; [‡] glucosa medida después de realizar una dilución del espécimen.

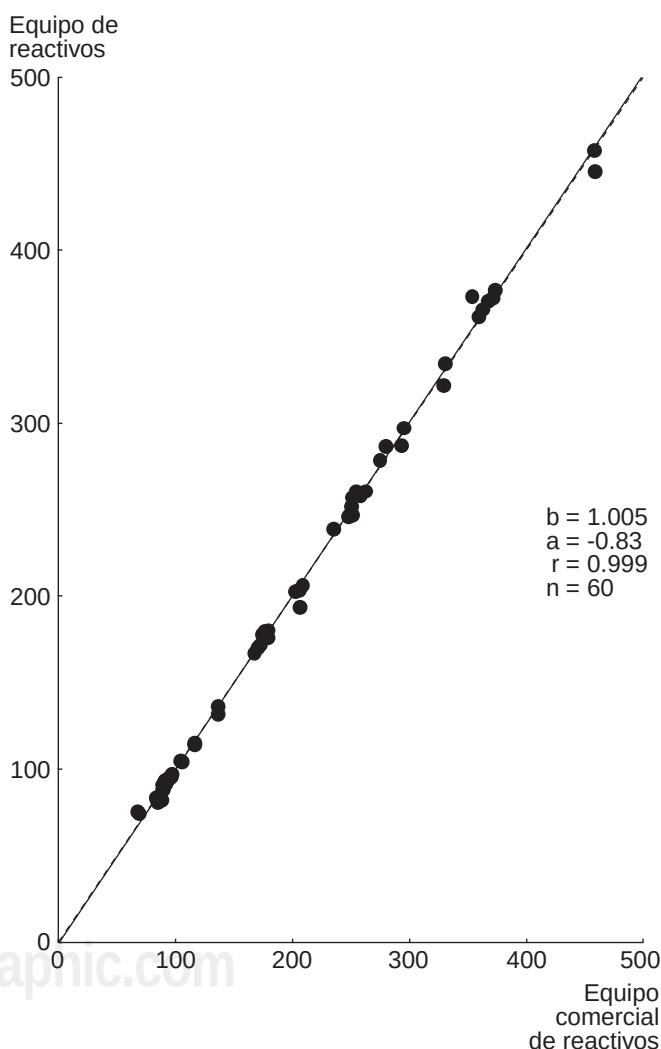


Figura 2. Análisis de regresión de Deming entre el equipo de reactivos y un equipo de reactivos comercial basados en el mismo fundamento.

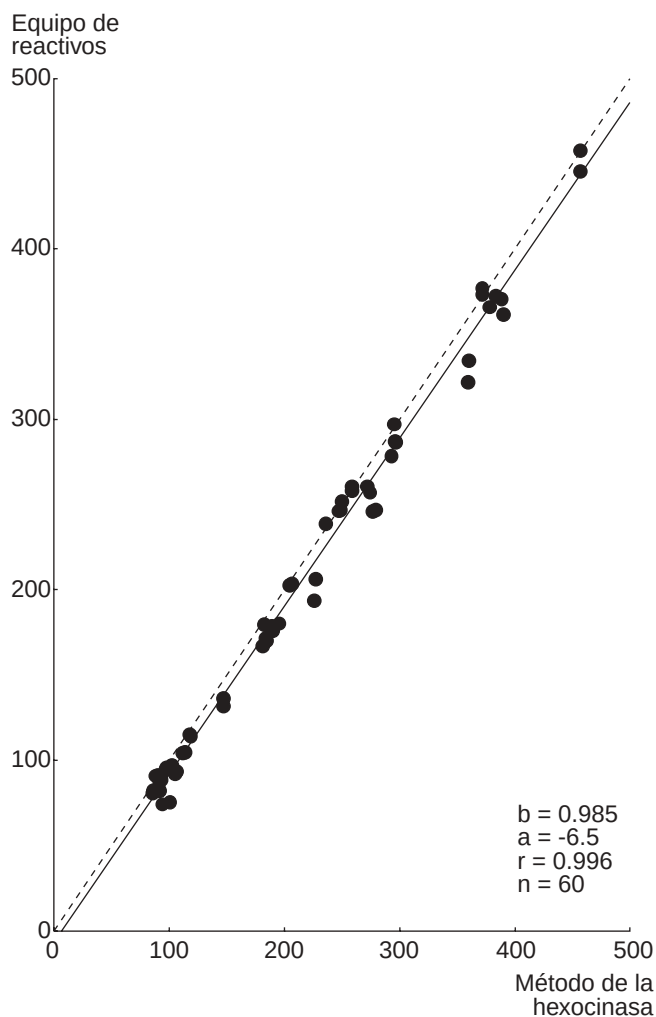


Figura 3. Análisis de regresión de Deming entre el equipo de reactivos y el método de referencia de la hexocinasa.

método (error intrínseco), éste fue evaluado para estimar los errores al azar y sistemáticos, y con base en estándares de calidad determinar su aceptabilidad o rechazo como una herramienta de análisis. Es de gran importancia que los métodos para determinación de glucosa tengan una elevada precisión y exactitud,¹⁸ ya que los nuevos criterios para el diagnóstico de diabetes mellitus especifican como punto de corte un valor de 126 mg/dL,¹⁹ lo que ha disminuido el intervalo de decisión para distinguir entre un valor "normal" de glucosa y el valor diagnóstico de diabetes mellitus.

La preparación de los reactivos empleados para determinación de glucosa se realizó tomando como base el método de Trinder.¹³ Previo a la evaluación analítica

ca del equipo de reactivos se determinó la linealidad del método, los resultados mostraron que éste tiene un intervalo lineal de 50 a 400 mg/dL de glucosa, resultados que concuerdan con los obtenidos en trabajos previos.²⁰

Los estudios de variabilidad mostraron que el equipo de reactivos presentó una excelente precisión. Mientras que este método presentó un CV intra-día de 0.67% e inter-día de 1.13%, previamente se ha descrito que las determinaciones de glucosa basadas en el método de Trinder muestran CV intra-día que van desde 0.9% a 1.9% e inter-día de 1.8% a 3.0%.^{12,13,20}

Con la finalidad de evaluar el efecto de interferentes frecuentemente encontrados en el trabajo del laboratorio clínico, a muestras séricas se añadieron diferentes concentraciones de hemoglobina, bilirrubina, lípidos, ácido ascórbico y anticoagulantes. Con base en estudios previos de evaluación de métodos,¹² se consideró que el interferente tuvo un efecto significativo cuando su presencia en las muestras produjo un cambio aparente de la concentración de glucosa de al menos 5 mg/dL. Sólo la hemólisis muy intensa (172 mg/dL de hemoglobina) mostró una interferencia positiva en el método, mientras que la ictericia muy intensa (20 mg/dL de bilirrubina) y la presencia de ácido ascórbico (5 mg/dL), mostraron interferencias negativas significativas. Reportes previos han mostrado que el ácido ascórbico^{13,21} y la bilirrubina²² afectan negativamente la determinación de glucosa, al parecer la interferencia por ácido ascórbico es debida a su oxidación preferencial sobre el cromógeno 4-aminofenazona.²³ El efecto de la bilirrubina es más complejo, se ha propuesto que ésta es capaz de destruir un intermediario de la reacción catalizada por la peroxidasa.²² Ninguna otra sustancia evaluada mostró efectos interferentes significativos en la determinación de glucosa.

Los estudios de recuperación mostraron que el equipo de reactivos presentó recobros cercanos al 100% cuando se añadieron 100 y 300 mg/dL de glucosa a las muestras. Después de adicionar 500 mg/dL de glucosa y realizar el método sin modificación, se obtuvo un recobro del 92.9%, sin embargo, al realizar la determinación en una muestra diluida el valor de recobro incrementó a un 97%, estos resultados muestran la importancia de conocer la linealidad del método y así evitar errores sistemáticos.

La exactitud del equipo de reactivos se evaluó por comparación con un equipo de reactivos comercial basado en el mismo fundamento Trinder, así como con el método de la hexocinasa. El análisis de correlación y regresión de Deming mostraron que los métodos

basados en la reacción de la glucosa oxidasa tuvieron una excelente correlación ($r = 0.999$) y prácticamente los mismos resultados. Cuando se comparó el equipo de reactivos con el método de referencia de la hexocinasa, el análisis estadístico mostró una elevada correlación ($r = 0.996$), sin embargo, también puso de manifiesto que los métodos basados en la reacción de la glucosa oxidasa/peroxidasa dan resultados de glucosa menores (5 mg/dL en promedio) a los obtenidos con el método de la hexocinasa. Este mismo comportamiento ha sido descrito previamente,^{12,20,24} la magnitud de las diferencias depende en gran medida del cromógeno empleado en la reacción catalizada por la peroxidasa.²⁵

De acuerdo a los criterios de Westgard y cols. (1974), la decisión de aceptar o rechazar un método como herramienta diagnóstica se basa en la comparación del error del método en estudio con un estándar de calidad o error permitido. En general, los estudios de evaluación permiten estimar el error del método a un nivel de decisión médica (niveles del metabolito en donde hay la mayor probabilidad de incurrir en un error diagnóstico) para así compararlo con un error permitido seleccionado. Si el error del método es mayor que el error permitido, el método no es aceptable como herramienta diagnóstica.¹⁴ El error total estimado para el equipo de reactivos fue de 6.8 y 5.8 mg/dL a los niveles de decisión médica de 50 y 120 mg/dL respectivamente. Tomando como base un error permitido de 10 mg/dL, de acuerdo a los errores permitidos empleados por *Clinical Laboratory Improvement Amendments* (CLIA-88) para estos niveles de decisión médica,²⁶ podemos asegurar que el equipo de reactivos elaborado en el laboratorio puede ser empleado como un método confiable para las determinaciones de glucosa en circulación.

Los errores sistemáticos de los métodos han tratado de ser minimizados mediante diferentes estrategias, Walker y cols. (1982)²⁷ han empleado la adición o sustracción de una constante (equivalente al error sistemático) a los resultados de un método de determinación de triglicéridos. No obstante que esta "corrección" del error sistemático ha sido adecuadamente documentada, consideramos que una estrategia alternativa más adecuada es la determinación de los límites de referencia del método, como ha sido recomendado por el panel de expertos para la obtención de valores de referencia de la IFCC.²⁸ Como se muestra en la sección de resultados, los límites de referencia obtenidos a partir de un grupo de individuos de referencia fue de 65 a 111 mg/dL de glucosa, la comparación de estos límites con otros reportados para

los métodos de la glucosa oxidasa/peroxidasa muestran gran concordancia,²⁵ sin embargo al compararlos con los límites de referencia para glucosa obtenidos con el método de la hexocinasa (71 a 116 mg/dL), encontramos que son mayores en aproximadamente 5 mg/dL, diferencia que coincide con el error sistemático determinado para el equipo de reactivos preparado en el laboratorio.

En conclusión, el equipo de reactivos elaborado en el laboratorio muestra una excelente precisión y una exactitud adecuada. La magnitud del error total del método, menor a los estándares de calidad o errores permitidos que son empleados en normas internacionales como CLIA88, nos permiten asegurar que este equipo de reactivos tiene la calidad analítica para ser empleado como una herramienta confiable en el análisis de glucosa plasmática. Adicionalmente, la estimación de los límites de referencia propios para este método permite minimizar el error sistemático de este método y además disponer de parámetros de comparación propios de la población en estudio.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Investigaciones Químico Clínicas de la Facultad de Ciencias Químicas de la BUAP, gracias al apoyo económico de la dirección de esta facultad.

REFERENCIAS

1. Rodríguez-de-Romo AC. Una nueva forma de entender la enfermedad en el siglo XIX. *Laborat-acta* 2001; 13: 61-67.
2. Benedict SR. The detection and estimation of reducing sugars. *J Biol Chem* 1907; 3: 101-117.
3. Folin O, Wu H. A system of blood analysis. *J Biol Chem* 1919; 38: 147-159.
4. Nelson N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol Chem* 1944; 153: 375-380.
5. Hoffman WS. A rapid photoelectric method for the determination of glucose in blood and urine. *J Biol Chem* 1937; 120: 51-55.
6. Skeggs LT Jr. Persistent and prayer: from the artificial kidney to the autoanalyzer. *Clin Chem* 2000; 46: 1425-1436.
7. Richterich R, Colombo JP. Hidratos de carbono. En: Química Clínica Teoría, práctica e interpretación. Barcelona: Salvat Editores; 1983. p. 304-321.
8. Hultman E. Rapid specific method for determination of aldoses in body. *Nature Lond* 1959; 183: 108-109.
9. Abraham CV. A modified o-toluidine reagent for glucose analysis. *Clin Chim Acta* 1976; 70: 209-211.
10. Dietzler DN; Smith CH. Hidratos de carbono. En: Gradwohl. *Métodos y diagnósticos del laboratorio clínico*. 8ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1983. p.190-225.
11. Dobrick LA. Screening method for glucose of blood serum utilizing glucose oxidase and an indophenol indicator. *J Biol Chem* 1958; 231: 403-409.

12. Passey RB, Gillum RL, Fuller JB, Urry FM, Giles ML. Evaluation and comparison of 10 glucose methods and the reference method recommended in the proposed product class standard 1974. *Clin Chem* 1977; 23: 131-139.
13. Lott JA, Turner K. Evaluation of Trinder's glucose oxidase method for measuring glucose in serum and urine. *Clin Chem* 1975; 21: 1754-1760.
14. Westgard JO, Quam EF, Barry PL, Ehrmeyer SS. *Method validation*. 2nd. ed. Madison: Editorial Westgard Quality Corporation; 2003.
15. Westgard JO, Hunt MR. Use and interpretation of common statistical tests in method-comparison studies. *Clin Chem* 1973; 19: 49-57.
16. PetitClerk C, Wilding P. The theory of reference values. Part 2. Selection of individuals for the production of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1984; 22: 203-208.
17. Solberg HE. The theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. *J Clin Chem Clin Biochem*. 1983; 21: 749-760.
18. Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DeMacLaren NK, McDonald JM, Parrot M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 2002; 48: 436-472.
19. Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26 (Suppl 1): S5-S20.
20. Sonowane M, Savory J, Cross RE, Heintges MG, Chester B. Kinetic measurement of glucose with a centrifugal analyzer; hexokinase and glucose oxidase procedures compared. *Clin Chem* 1976; 22: 1100-1101.
21. Gochman N, Schmitz JM. Application of a new peroxide indicator reaction to the specific, automated determination of glucose with glucose oxidase. *Clin Chem* 1972; 18: 943-950.
22. Witte DL, Brown LF, Feld RD. Effects of bilirubin on detection of hydrogen peroxide by use of peroxidase. *Clin Chem* 1978; 24: 1778-1782.
23. Maguire GA, Price CP. Evidence for interference by ascorbate in the measurement of cerebrospinal fluid glucose by a kinetic glucose oxidase/peroxidase procedure. *Clin Chem* 1983; 29: 1810-1812.
24. Lutz RA, Flückiger J. Kinetic determination of glucose with the GEMSAEC (ENI) centrifugal analyzer by the glucose dehydrogenase reaction, and comparison with two commonly used procedures. *Clin Chem* 1975; 21: 1372-1377.
25. Romano AT. Automated glucose methods: evaluation of a glucose oxidase-peroxidase procedure. *Clin Chem* 1973; 19: 1152-1157.
26. Westgard JO. *Basic Planning for Quality. Appendix 1: CLIA 88 Analytical Quality Requirements*. Madison: Westgard QC, Inc.; 2000: 245-248.
27. Walker RE, Bachorik PS, Kwiterovich PO. Evaluation of five enzymic kits for determination of triglyceride concentrations in plasma. *Clin Chem* 1982; 28: 2299-2304.
28. Solberg HE. The theory of reference values. Part 1. The concept of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; 25: 337-342.

