

INSTITUTO SUPERIOR DE CIENCIAS MÉDICAS  
“DR. SERAFÍN RUIZ DE ZÁRATE RUIZ”  
SANTA CLARA, VILLA CLARA

## COMUNICACIÓN

### OBTENCIÓN DE CONTROLES PATOLÓGICOS PARA LA ORIENTACIÓN DIAGNÓSTICA DE DEFICIENCIA DE BIOTINIDASA

Por:

Lic. Mildrey Vales Almodovar<sup>1</sup>, Dr. C. Gilberto Soto Villasante<sup>2</sup> y MSc. Luis Zamora Rodríguez<sup>3</sup>

1. Licenciada en Ciencias Químicas. Unidad de Investigaciones Biomédicas. Instructora. ISCM-VC. e-mail: [mildreyva@iscm.vcl.sld.cu](mailto:mildreyva@iscm.vcl.sld.cu)
2. Doctor en Ciencias Médicas. Facultad de Medicina. Profesor Titular. ISCM-VC.
3. Máster en Matemática Aplicada. Facultad de Medicina. Asistente. ISCM-VC.

**Descriptor DeCS:**

DEFICIENCIA DE BIOTINIDASA/ diagnóstico

**Subject headings:**

BIOTINIDASE DEFICIENCY/diagnosis

Una de las tendencias en la química analítica moderna es el desarrollo de nuevas técnicas de análisis y métodos que puedan identificar, de manera confiable, los componentes de muestras complejas, como las relacionadas con los problemas en el campo de la clínica. En los laboratorios encargados de realizar pesquisaje, es bastante habitual para la primera etapa, determinar si uno o más analitos está presente/ausente en una muestra y, de ser así, para el segundo paso, estimar su nivel de concentración. Los métodos cualitativos se utilizan en estos casos y se denominan tradicionalmente sistemas de cribado. Independientemente de que estos sistemas de medidas cualitativas proporcionen una respuesta binaria de tipo Sí o No, el método debe ser validado para garantizar un mayor nivel de calidad de los resultados.

En el Instituto Superior de Ciencias Médicas de Villa Clara se encuentra la Unidad de Investigaciones Biomédicas, a la que pertenece el laboratorio de Biología Humana, donde se desarrollan diversas técnicas cualitativas que permiten la orientación diagnóstica de enfermedades metabólicas de origen genético, como es el caso de la deficiencia de biotinidasa.

Para la orientación diagnóstica de esta heredometabolopatía se han desarrollado dos métodos cualitativos de análisis; ambos están basados en la capacidad de la biotinidasa de liberar la biotina de los productos de degradación proteolítica de las halocarboxilasas. Se evalúa la actividad hidrolítica de la enzima, considerando que la enzima presente en la muestra es capaz de hidrolizar el ácido n-biotinil-p-aminobenzoico en condiciones óptimas de pH y temperatura, y libera el ácido p-aminobenzoico. Este, en medio ácido, con nitrito de sodio y sulfonato de amonio, forma un complejo de color púrpura con el n-naftiletilendiaminocloruro. En ausencia de la actividad enzimática, el ácido p-aminobenzoico no es liberado, y el complejo de color púrpura no se forma.

Ambos métodos diferenciados en el tipo de sistema de detección (sensorial e instrumental), empleado para dar los resultados, deben ser evaluados en su desempeño<sup>1</sup>.

La validación de un método es un paso que debe llevarse a cabo cada vez que un nuevo método de análisis va a ser usado en un laboratorio o en el campo de análisis. Esto significa que no importa el tipo de método que se utilice; su desempeño debe ser estimado, así como los parámetros de control<sup>2,3</sup>.

Se han desarrollado varios métodos que permiten caracterizar un sistema de medida cualitativa. Cada uno de ellos tiene distinto grado de adaptación a las diferentes situaciones y problemáticas que pueden encontrarse, atendiendo al tipo de medida y al resultado obtenido. Existen cuatro formas fundamentales: las tablas de contingencia, el teorema de Bayes, las pruebas de hipótesis y las curvas características de rendimiento<sup>4</sup>.

Para llevar a cabo el proceso de validación en los sistemas de medidas cualitativos empleados para detectar la presencia de actividad de biotinidasa, teniendo en cuenta las características intrínsecas, tanto del método sensorial como del instrumental, es necesario contar con controles positivos o patológicos<sup>5</sup>.

En este artículo, se estudia la estabilidad de la actividad de biotinidasa en muestras de sangre seca sobre papel de filtro. Para ello, se evalúa la actividad de biotinidasa en 15 muestras de sangre seca sobre papel de filtro durante un período de 36 meses en intervalos de 12, 18, 24, 30 y 36 meses, con posterioridad a la extracción de la muestra de sangre. En cada caso, se obtuvieron las medias del grupo evaluado. Se realiza, en primer lugar, una prueba t para verificar la igualdad entre las medias para muestras dependientes en los grupos analizados. Una vez comprobada la aparición de diferencias significativas, se realiza una prueba de hipótesis para comparar si las muestras ya pueden ser consideradas patológicas.

Los estadígrafos obtenidos evidencian que la actividad enzimática es estable, una vez extraída la muestra hasta los 12 meses a temperatura ambiente, pues  $t_{calculada}$  (1,5) es menor que  $t_{tabulada}$  (1,83); por su parte, el valor de p es mayor que 0,05 (0,16) para un nivel de confiabilidad del 95 %. A partir de los 12 meses, la actividad enzimática empieza a decrecer, y existen diferencias significativas entre las medias de los grupos evaluados, hecho evidenciado por los valores del estadígrafo correspondiente, y el valor de p, en todos los casos  $t_{calculado}$  (50,56; 1206,57; 1987,86; 1697, 65) es mayor que  $t_{tabulado}(15;0,05)$  y p es menor que 0,05; estos son criterios a tener en cuenta para rechazar que las medias de los grupos evaluados son iguales. Los resultados obtenidos, al realizar la segunda prueba de hipótesis, corroboran que a partir de los 24 meses las muestras pueden ser utilizadas como controles patológicos, o sea, el nivel de significación de 0,00 ( $< 2\alpha$ ) y el valor de  $t_{calculado}$  de -1069,049 ( $< 0$ ) dan criterio para concluir que las muestras pueden ser consideradas patológicas a partir de los 24 meses de extraída, para un 95 % de confiabilidad.

### **Referencias bibliográficas**

1. Ruisánchez I, Trullols E, Xavier F. Validación de métodos analíticos cualitativos. Técnicas de laboratorio. 2003. Grupo de Quimiometría y Caulimetría. Departamento de Química Analítica y Orgánica [sitio web en Internet] [Actualizado 23 Ene 2008; citado 3 Feb 2008]. Disponible en: <http://www.quimica.urv.es/quimio/general/divcualit3.pdf>
2. Trullols E, Ruisánchez I, Rius F, Odena M, Feliu MT. Qualitative method for determination of aflatoxin b1 in nuts. J AOAC Int. 2004;87:417-32.
3. Validación de métodos analíticos. Regulación No. 41-2007.
4. Trullols E, Ruisánchez I, Rius F. Validation of qualitative analytical methods. Trends in Anal Chem. 2004;23:137-63.
5. Pulido A, Ruisánchez I, Boque R. Métodos cualitativos de análisis. Anal Chim Acta. 2002;455:267-75.