

## Evaluación del desempeño de los ensayos neonatales en el analizador automático SUMAutoLab de la tecnología SUMA®

Frómeta Suárez, A<sup>1</sup>; Frías Figueroa, G; Toledano Hernández, A; Iglesias Benítez, A; González Reyes, E; Tejeda Gómez, Y; Gato Orozco, E; Fabre del Río, L; Castells Martínez, E; Almenares Guasch, P; Rego Díaz, A; Trujillo Guillama, A.

<sup>1</sup> Centro de Inmunoensayo/Departamento de Pesquiasaje neonatal, La Habana, Cuba, Correo electrónico: amarilys.frometa@cic.cu

### **Resumen:**

**Introducción:** SUMAutoLab es un analizador automático que puede ser utilizado en la pesquisa neonatal de enfermedades debido a errores congénitos del metabolismo. Por lo que es necesario una evaluación completa de este instrumento para demostrar la consistencia de los resultados producidos y su aceptabilidad en el laboratorio. **Objetivo:** Validar los ensayos neonatales de la tecnología SUMA en el analizador SUMAutoLab. **Materiales y métodos:** La evaluación se realizó en los ensayos: UMELISA TSH NEONATAL, UMELISA T4 NEONATAL, UMELISA 17OH Progesterona NEONATAL, UMTEST GAL y UMTEST PKU. Se determinaron los coeficientes de variación (CV) intra e interensayo, la recuperación, el límite de detección (LOD), el arrastre o *carry over* (CO) de las muestras. Finalmente, se realizó una comparación entre la tecnología semiautomática y SUMAutoLab utilizando 490 muestras de recién nacidos, mediante análisis de regresión lineal. **Resultados:** Los CV intra e interensayo estuvieron en el rango de 4-9% y 5-11%, respectivamente. El porcentaje de recuperación promedio para cada prueba fue superior al 90%. El CO no afectó significativamente los resultados. LOD fue calculado para cada ensayo. Se obtuvo una buena correlación para todas las pruebas ( $r^2 > 0.84$ ) al comparar la tecnología semiautomática con SUMAutoLab.

**Conclusiones:** Los ensayos de la tecnología SUMA para la pesquisa neonatal pueden ser realizados en el analizador SUMAutoLab. Además, el instrumento ofrece ventajas, tales como, utiliza bajos volúmenes de reactivos, reducción en el tiempo de procesamiento y el número de errores de manejo por parte de los operadores, lo que aumenta la confiabilidad en los resultados.

**Palabras clave:** tecnología SUMA, pesquisa neonatal, SUMAutoLab

## I. INTRODUCCION

La tecnología SUMA surgió como una tecnología semiautomática destinada principalmente a laboratorios de baja y media capacidad de procesamiento de muestras y creó las bases para establecer programas de pesquisa neonatal a gran escala para trastornos metabólicos y endocrinos en Cuba (1). Sin embargo, la tendencia global hacia la centralización del laboratorio de pesquisa, el aumento de la cantidad de muestras a procesar, han hecho necesaria la automatización de esta tecnología. Es por eso que se ha desarrollado un nuevo analizador automático de la tecnología SUMA para el tamiz neonatal.

Una evaluación completa de este instrumento es necesaria para demostrar su aceptabilidad en el laboratorio de pesquisa neonatal. Se deben evaluar determinados parámetros en los ensayos que demuestren la consistencia en los resultados producidos por este analizador. Este documento tiene como objetivo validar los ensayos de tecnología SUMA para el tamizaje de recién nacidos utilizando el analizador SUMAutoLab.

## I. MÉTODO

La tecnología SUMA es un sistema completo de reactivos e instrumentos para realizar ultramicroensayos de inmunoabsorción ligado a enzimas (UMELISA) o ultramicrotest (UMTEST) (2).

SUMAutoLab incluye la automatización total del pipeteo, incubación y medición. Presenta un brazo robótico para el manejo de líquidos con cuatro puntas de acero inoxidable revestidas de cerámica, un brazo robótico para transportar las placas a los diversos dispositivos, incubadoras de temperatura programables, agitadores, arandela de placas y lector de fluorescencia. El equipo está controlado por un *software* específico que programa de manera óptima las diferentes tareas y proporciona la información necesaria, tanto en la preparación como durante la ejecución.

La evaluación se realizó para los ensayos dirigidos a la pesquisa neonatal: UMELISA TSH NEONATAL, UMELISA T4 NEONATAL, UMELISA 17OH Progesterona NEONATAL, UMTEST GAL y UMTEST PKU.

Los coeficientes de variación intra ensayo (CV) se determinaron mediante 20 mediciones de la misma muestra. Los CV inter ensayo se determinaron en diez ensayos independientes. Para la determinación del límite de detección (LOD) se definió como Límite de blanco (LOB) + 3 SD (3).

El arrastre o *carry over* (CO) se provocó utilizando el procedimiento de tres pasos, como se describe a continuación (4). Primeramente, las puntas se expusieron a soluciones de analito altamente concentradas para permitir la adsorción del mismo a las puntas. Después, las puntas se lavaron siguiendo un procedimiento de lavado estándar y, finalmente, se expusieron a una solución tampón libre de analito para permitir que ocurriera CO de la sustancia remanente. El CO se cuantificó como la relación de la concentración de analito, que se detecta en una solución después de la medición de una muestra con una concentración alta del mismo.

La correlación de Pearson fue utilizada para calcular la correlación entre tecnología semiautomática con SUMAutoLab.

## II. RESULTADOS

Para evaluar la precisión, se analizaron muestras que representaban 3 niveles diferentes de concentración de analito (T4, TSH, 17OHP, GAL, Phe). Los CV intra e inter-ensayo estuvieron en el rango de 4-9% y 5-11%, respectivamente, dependiendo de las concentraciones evaluadas. En la tabla 1 se muestran los resultados.

Tabla1 Perfil de Precisión

Variación intra ensayo (CV)														
<i>nmol 17OHP/L</i>			<i>mIU TSH/L</i>			<i>mmol TGAL/L</i>			<i>μmol Phe/L</i>			<i>nmol T4/L</i>		
Media	DE	CV	Media	DE	CV	Media	DE	CV	Media	DE	CV	Media	DE	CV
13,90	0,90	6,55	15,14	0,93	6,14	0,2	0,02	8,90	238,5	16,07	6,74	29,79	2,82	8,24
38,97	2,48	6,15	24,64	1,26	5,10	0,6	0,04	7,33	471,2	31,50	6,68	136,85	5,80	7,45
107,55	3,90	3,70	45,19	2,17	4,81	1,7	0,09	5,74	1556,4	128,10	8,23	187,28	11,38	6,26
Variación inter ensayo (CV)														
Media	DE	CV	Media	DE	CV	Media	DE	CV	Media	DE	CV	Media	DE	CV
13,90	1,16	8,57	15,14	1,18	7,78	0,29	0,02	9,06	238,56	22,81	9,56	29,79	2,72	10,66
38,97	3,72	8,20	24,64	1,55	6,29	0,60	0,04	7,26	471,25	40,77	8,65	136,85	6,36	9,77
107,55	5,18	4,81	45,19	2,67	5,90	1,70	0,10	5,85	1556,48	97,00	10,60	187,28	11,70	8,49

Todas las concentraciones son expresadas en sangre total, excepto para la T4 total que está expresada en suero.  
SD, desviación estándar; CV (%), coeficiente de variación = (SD / media) x 100.

La recuperación analítica se realizó utilizando sangre total obtenida de donantes voluntarios sanos. Se prepararon tres controles sanguíneos, ajustados al 55% de hematocrito, a los cuales se le añadió cantidades conocidas de cada analito (T4, TSH, 17OHP, GAL, Phe). Los resultados se promediaron en cuatro repeticiones. El porcentaje de recuperación para cada ensayo fue superior al 90%, con porcentajes individuales que fluctuaron entre 90 y 109%. En la Tabla 2 se muestran los resultados.

Tabla 2 Recuperación Analítica

<b>Diagnosticadores SUMA</b>	<b>Esperado</b>	<b>Observado</b>	<b>Recuperación(%)</b>
UMELISA TSH NEONATAL mIU/L	16,6	15,90	95,76
	26,1	24,76	94,85
	48,31	46,44	96,12
UMELISA T4 NEONATAL nmol/L	35,4	32,7	92,4
	83,7	90,9	108,6
	155,4	154,4	99,4
UMELISA 17OHP NEONATAL nmol/L	20	18,24	91,20
	45	41,92	93,16
	120	114,48	95,40
UMTEST GAL mmol/L	0,31	0,33	105,35
	0,62	0,61	97,71
	1,68	1,77	105,51
UMTEST PKU μmol/L	280	254,85	91,02
	550	495,32	90,06
	1363	1495,64	109,73

El límite de detección (LOD), definido como la concentración más baja de analito en una muestra que se puede detectar con una probabilidad del 95% y se calculó como:  $LOD = \text{límite de blanco (LOB)} + 3 \times SD$  (donde LOB = percentil 95 de una distribución de muestras blanco; SD = estimación SD agrupada de mediciones en muestras enriquecidas)

Tabla 3 Límite de detección de los ensayos neonatales en el SUMAutoLab

Diagnosticadores SUMA	Intervalo de medición	Valores determinados en SUMAutoLab
		LOD
UMELISA TSH NEONATAL mIU/L	0-150	1
UMELISA T4 NEONATAL nmol/L	0-400	9,2
UMELISA 17OHP NEONATAL nmol/L	0-300	3,8
UMTEST GAL mmol/L	0-4	0,09
UMTEST PKU μmol/L	0-2800	75

El efecto *carry over* (CO) o de arrastre se provocó utilizando una solución madre altamente concentrada de cada analito para maximizar el CO potencial. La solución madre se aspiró y se mantuvo en las puntas durante 5 s. Para provocar CO desde la superficie exterior, las puntas se mantuvieron sumergidas en las soluciones madre durante 5 s. En experimentos iniciales, observamos que el procedimiento de lavado tiene una gran influencia sobre el CO, debido al uso de agua ya que esta solución de lavado no es suficientemente fuerte para eliminar los rastros de analitos. Por lo tanto, para mejorar el procedimiento de lavado, se integró una etapa de descontaminación con hipoclorito de sodio al 0,5%. Los valores de CO obtenidos fueron 0,98 mIU TSH / L; 9,5 nmol de T4 / L; 4,5 nmol 17 OHP / L; 0,1 mmol de TGAL / L y 78,9 μmol de Phe / L.

Los resultados de la comparación del procedimiento semiautomático y el automatizado indican buena correlación de Pearson. Se obtuvo un coeficiente superior a 0,90 para los respectivos procedimientos donde la pendiente, el intercepto y el coeficiente de correlación lineal se muestran en la Tabla 4. Los valores del coeficiente de correlación de Pearson por encima de 0,7 indican la existencia de una correlación positiva alta y los valores superiores a 0.9 indican que hay una correlación positiva muy alta entre las variables analizadas.

Tabla 4 Comparación de SUMAutoLab con la tecnología semiautomática por regresión lineal

<b>Diagnosticadores SUMA</b>	<b>N</b>	<b>Y-intercepto</b>	<b>pendiente</b>	<b>r<sup>2</sup></b>
UMELISA TSH NEONATAL	490	0,20	0,90	0,92
UMELISA T4 NEONATAL	437	15,38	0,94	0,78
UMELISA 17OHP NEONATAL	490	1,20	0,90	0,91
UMTEST GAL	490	0,43	0,85	0,8
UMTEST PKU	490	41,98	0,96	0,95

### III. CONCLUSIONES

Los ensayos para la detección de enfermedades debido a errores congénitos del metabolismo muestran buen desempeño al ser evaluados en el SUMAutoLab, lo cual indica que este instrumento puede ser utilizado en la rutina del laboratorio de pesquisa neonatal. Además, el mismo ofrece ventajas, tales como, utiliza bajos volúmenes de reactivos, reducción en el tiempo de procesamiento y el número de errores de manejo por parte de los operadores, lo que aumenta la confiabilidad en los resultados.

### REFERENCIAS

1. Fernández JA, Díaz J. Some theoretical considerations on the active inquiry. Revista Cubana de Medicina General Integral.2009; 25(4):107-116.
2. González Reyes E et al. SUMA Technology and Newborn Screening Tests for Inherited Metabolic Diseases in Cuba: An Overview of the First 30 Years Journal of Inborn Errors of Metabolism & Screening. 2016, Volume 4: 1–9.
3. CLSI. Protocols for determination of limits of detection and limits of quantitation; Approved guideline. CLSI document EP17-A.
4. Iten M and et al. Reduction of Carry over in Liquid-Handling systems with a decontamination step integrated in the washing procedure. Journal of Laboratory Automation.2010; 15: 379-389.