

Reactivo de Microproteínas

Método del Cloruro de Bencetonio

RESUMEN DEL PRODUCTO

Estabilidad	:	Hasta fecha caducidad a 2-25°C
Intervalo Lineal	:	0,05 - 2,0 g/L (50 - 2000 mg/L)
Tipo de muestra	:	Orina o CSF
Método	:	Turbidimétrico
Preparación del reactivo	:	Suministrado listo para su uso.

IVD

USO PREVISTO

Este reactivo está pensado para la determinación cuantitativa de proteínas en la orina y en el líquido cefalorraquídeo (CSF) en sistemas tanto automáticos como manuales.

RELEVANCIA CLÍNICA^{1,2}

El papel del sistema renal en la conservación de las proteínas plasmáticas se ha reconocido desde hace algún tiempo. En condiciones fisiológicas normales, las proteínas de pequeño peso molecular tales como la insulina atraviesan los glomérulos en cantidades relativamente grandes. Las proteínas de tamaño intermedio tales como la transferrina y la albúmina también los atraviesan, pero solamente en cantidades relativamente pequeñas.

La mayor parte de estas proteínas se reabsorben en los túbulos renales de modo que la orina normal contiene menos de 150 mg de proteína por día. Esto incluye asimismo a la proteína de origen no sérico secretada normalmente por el túbulo distal (mucoproteína) y los conductos colectores. La presencia de niveles elevados de proteína urinaria (proteinuria), generalmente superiores a 0,15 g cada 24 horas (150 mg/24 horas), indican casi siempre una enfermedad.

La proteinuria se puede clarificar como proteinuria renal o proteinuria con función renal normal. La proteinuria renal se puede clasificar adicionalmente en proteinuria glomerular o tubular. La proteinuria glomerular se debe a un aumento de la permeabilidad glomerular (síndrome nefrótico) y puede observarse en la nefritis glomerular o aparecer como complicación secundaria en otras enfermedades tales como la nefropatía diabética. Habitualmente la albúmina es la proteína predominante de la orina. La proteinuria tubular puede deberse a un daño tubular renal por cualquier causa, especialmente debida a una pielonefritis. La proteinuria tubular provoca moderados aumentos del nivel de las proteínas de bajo peso molecular si la permeabilidad glomerular es normal. La proteinuria en presencia de una función renal normal puede ser el resultado de aumentos fisiológicos de la excreción de proteínas o de la producción de cantidades anormalmente grandes de proteínas de bajo peso molecular. Se observa un aumento de la excreción de proteínas durante el transcurso de un embarazo normal, tras un ejercicio extenuante o tras un mantenimiento prolongado de una postura vertical. Los aumentos de los niveles de proteínas de bajo peso molecular pueden deberse a la producción de la proteína Bence Jones, a una hemoglobinuria como consecuencia de una hemólisis grave o a una mioglobinuria como resultado de un daño muscular grave.

METODOLOGÍA

Los métodos empleados para la determinación del contenido total de proteínas en la orina incluyen procedimientos de unión a un tinte, químicos y turbidimétricos, constituyendo estos últimos la técnica más comúnmente utilizada³. La popularidad de los procedimientos turbidimétricos puede atribuirse a la simplicidad de uso y a su mayor sensibilidad.

El kit de microproteínas de Thermo es un procedimiento turbidimétrico en el que se emplea cloruro de bencetonio como agente desnaturizante de las proteínas. Las proteínas presentes en la orina se desnaturizan por acción del cloruro de bencetonio, produciendo la formación de una suspensión fina que se cuantifica mediante turbidimetría a 405 nm. El reactivo se ha modificado a fin de evitar el problema del efecto de alta concentración (gancho), según el cual las concentraciones muy altas de proteínas en la orina pueden causar un cero aparente o una lectura baja.⁴

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

Ingredientes activos

Reactivo 1:

	Concentración
Tampón de carbonato	99,8 mmol/L
Cloruro sódico	140 mmol/L
EDTA	32 mmol/L

Reactivo 2:

Cloruro de bencetonio	20 g/L
-----------------------	--------

SÍMBOLOS EN EL ETIQUETADO DEL PRODUCTO

EC REP	Representante autorizado		Limitación de temperatura
IVD	Para uso en diagnósticos in vitro		Usar hasta/Fecha de caducidad
LOT	Código de lote/Número de lote		PRECAUCIÓN. Consulte las instrucciones de uso.
REF	Número de catálogo		Fabricado por
	Consulte las instrucciones de uso		
	Xi - Irritante		
REAG 1	Reactivo 1	REAG 2	Reactivo 2

Los reactivos también contienen tensioactivos y estabilizantes necesarios para un rendimiento óptimo del reactivo.

AVISO: No pipetear con la boca. En caso de contacto, lave abundantemente las áreas afectadas con agua. El reactivo contiene azida de sodio que puede reaccionar con las tuberías de cobre y de plomo. Añada una gran cantidad de agua antes de verterlo. Para información adicional consulte la Hoja de Datos de Seguridad del Reactivo de Microproteínas.

R36 Irrita los ojos.

S23 No respirar los vapores.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Los reactivos son provisto listo para su uso.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Cuando se almacena entre 2 y 25°C, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del frasco y de la caja del kit.

TOMA Y MANEJO DE LAS MUESTRAS

Cuando se almacenan a 4°C, las muestras de orina son estables durante 2 - 3 días⁵. En caso de que se prevea un retraso en el transporte hasta el laboratorio, se recomienda el uso de un conservante químico tal como mertiolato (0,24 mmol/L).

EQUIPOS ADICIONALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

- Un analizador químico clínico capaz de mantener una temperatura constante y de medir la absorbancia entre 405 y 415 nm.
- Consumibles específicos del analizador, por ejemplo: copas de muestra.
- Material de control de ensayos normales y anormales.
- Patrones de proteínas de la orina tales como los Patrones de microproteínas de Thermo (Nº de catálogo: TR50943).

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Se recomiendan los siguientes parámetros del sistema. El Grupo de Soporte Técnico suministra aplicaciones para los instrumentos individuales tras solicitud.

PARÁMETROS DEL SISTEMA

Temperatura	Constante (Véase la nota 2)
Longitud de onda primaria	405 nm (405-415 nm)
Tipo de ensayo	Turbidimétrico
Dirección	Incremento
Muestra: Proporción de reactivo	1 : 45
p.ej. Vol de muestra:	8 µL
Vol. de reactivo A	300 µL
Vol. de reactivo B	60 µL
Tiempo de Retraso (muestra + R1)	30 segundos
Tiempo de incubación	360 segundos
Límites del blanco de reactivo	Bajo 0,00 AU
(405 nm, paso de luz de 1cm)	Alto 2,00 AU
Linealidad	0,05 - 2,0 g/L
	(50 - 2000 mg/L)

CALCULO DE RESULTADOS

Los resultados, expresados en g/L o mg/L, son calculados automáticamente.

EXCRECIÓN DE PROTEÍNAS URINARIAS DURANTE 24 HORAS

- Mida y registre el volumen de orina durante 24 horas en litros.
- Determine la concentración de proteínas en g/L o en mg/L empleando el procedimiento anterior.
- Multiplique la concentración de proteínas por el volumen de orina recogido durante 24 horas. Este valor representa la excreción de proteínas/24 horas.

Ejemplo:

Volumen de orina de 24 horas = 1,12 litros
Concentración de proteínas en la orina = 0,13 g/L ó 130 mg/L

Excreción de proteínas urinarias durante 24 horas

$0,13 \times 1,12 = 0,146 \text{ g/24 horas}$
 $130 \times 1,12 = 146 \text{ mg/24 horas.}$

NOTAS

- Los volúmenes del reactivo y de la muestra se pueden alterar de forma proporcional para adaptarse a los diferentes requerimientos del espectrofotómetro.
- La temperatura de la reacción no es crítica, no obstante, la temperatura del espectrofotómetro se debería mantener constante entre temperatura ambiente y 37°C.
- La absorbancia final debe medirse antes de 10 minutos.
- Conversión unitá: $\text{g/L} \times 1000 = \text{mg/L}$

CALIBRACIÓN

Para la calibración deben emplearse patrones de proteínas de la orina tales como los Patrones de microproteínas de Thermo (Nº de catálogo: TR50943). Thermo recomienda calibrar cada análisis empleando al menos 5 patrones, referidos a un material del NIST material y con un valor comprendido entre 0,1 y 2,4 g/L (100 a 2400 mg/L). Para la frecuencia de calibración de los instrumentos automatizados, consulte las especificaciones del fabricante del instrumento.

No obstante, la estabilidad de la calibración depende del funcionamiento óptimo del instrumento y del uso de reactivos que se hayan almacenado según las recomendaciones de la sección de estabilidad y almacenamiento de esta hoja de datos. Se recomienda recalibrar en cualquier momento si ocurre alguno de estos sucesos:-

- El número de lote del reactivo cambia.
- Se realiza un mantenimiento preventivo o se sustituye un componente crítico.
- Los valores de control han cambiado o se encuentran fuera de escala y un nuevo vial de control no rectifica el problema.

CONTROL DE CALIDAD

Para asegurar un control de calidad adecuado, se deberían introducir controles normales y anormales como muestras desconocidas:-

Al menos cada ocho horas.

- Cuando se use una nueva botella de reactivo.
- Después de realizar un mantenimiento preventivo o de sustituir un componente crítico.

Los resultados de control que caen fuera de los límites superior o inferior de los intervalos establecidos indican que el ensayo puede estar fuera de control.

En tales situaciones se recomiendan las siguientes acciones correctoras:

- Repetir los mismos controles.
- Si los controles repetidos están fuera de los límites, preparar suero de control fresco y repetir la prueba.
- Si los resultados aún están fuera de control, recalibrar con calibrador fresco, y después repetir la prueba.
- Si los resultados aún están fuera de control, realizar una calibración con reactivo recién preparado, y después repetir la prueba.
- Si los resultados aún están fuera de control, contacte con el Servicio Técnico o con su distribuidor local.

LIMITACIONES

- No se observó efecto "gancho" con muestras con concentraciones de proteínas hasta un nivel de 60 g/L.
- Para una revisión completa de los factores que afectan a la determinación de las proteínas en la orina consulte la publicación de Young.⁶
- Se observó interferencia por hemoglobina con una concentración de 20 mg/dL.
- No se observa interferencia debida a la bilirrubina hasta un nivel de 26 $\mu\text{mol/L}$ (1,5 mg/dL).

VALORES ESPERADOS

Normalmente la excreción urinaria de proteínas es inferior a 0,15 g/24 horas (150 mg/24 horas). Los valores superiores indican casi siempre una enfermedad¹.

Los valores indicados son representativos del intervalo esperado para este procedimiento y únicamente deberían servir como guía. Se recomienda que cada laboratorio verifique este intervalo o derive un intervalo de referencia para la población que atiende.⁷

DATOS DE FUNCIONAMIENTO

Los siguientes datos se obtuvieron usando el Reactivo de Microproteínas en un analizador químico clínico automatizado con un buen mantenimiento. Los usuarios deberían establecer un comportamiento del producto en su analizador específico usado.

IMPRECISIÓN

Dentro de un ensayo	NIVEL I	NIVEL II	NIVEL III
Número de puntos de datos	20	20	20
Media (g/L / mg/L)	0,184 / 184	0,510 / 510	1,750 / 1750
SD (g/L / mg/L)	0,009 / 9	0,024 / 24	0,034 / 34
CV (%)	4,9	4,7	1,9

Entre días

	NIVEL I	NIVEL II	NIVEL III
Número de puntos de datos	20	20	20
Media (g/L / mg/L)	0,182 / 182	0,505 / 505	1,757 / 1757
SD (g/L / mg/L)	0,010 / 10	0,022 / 22	0,029 / 29
CV (%)	5,5	4,4	1,7

EXACTITUD

Los estudios de comparación se llevaron a cabo usando otro método de cloruro de benecetio disponible comercialmente como referencia. Se analizaron muestras de orina normales y anormales en paralelo y los resultados se compararon mediante una regresión por mínimos cuadrados. Se obtuvieron las siguientes estadísticas:

Número de pares de muestras	63
Intervalo de los resultados de las muestras	0,01 - 1,58 g/L (10 - 1580 mg/L)
Media de los resultados	0,42 g/L (420 mg/L)
Media de los resultados del Microproteínas	0,44 g/L (440 mg/L)
Pendiente	1,14
Ordenada en el origen	-0,04 g/L (-40 mg/L)
Coefficiente de correlación	0,992

LINEALIDAD

Cuando se realiza según las recomendaciones, el ensayo resulta lineal hasta 2,0 g/L (2000 mg/L).

SENSIBILIDAD

Cuando se emplea según el procedimiento recomendado, el reactivo es sensible hasta un nivel de 0,05 g/L (50 mg/L).

BIBLIOGRAFÍA

- Zilva JF, Pannall PR. "Plasma Proteins and Immunoglobulins" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Lloyd-Luke 1979; Chap XIV:305-29.
- First MR. "Renal Function" in Clinical Chemistry theory, analysis and correlation. Kaplan LA, Amadeo JP (Ed). CV Mosby Co. 1984; Chap 23:418.
- Koller A. "Total Urine Protein" in Clinical Chemistry theory, analysis and correlation Kaplan LA, Amadeo JP (Ed). CV Mosby Co. 1984; Chap 60: 1319-20.
- Watkins I, Jenkins L. Clinical Chemistry 1987; 33:21 27-8.
- Shephard MDS, Mazzachi RD. The Clinical Biochemist 1983; 4: 61-7.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition 1990; 3: 296-300.
- Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.



Fisher Diagnostics
a division of Fisher Scientific Company, LLC
a part of Thermo Fisher Scientific Inc.
Middletown, VA 22645-1905 USA
Phone: 800-528-0494
540-869-3200
Fax: 540-869-8132



MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

REF

Información de Pedidos

No de Catalogue

REAG 1

REAG 2

TR50001

1 x 125 mL

1 x 25 mL