

Uso previsto

Para la determinación cuantitativa de proteína total en orina. **Rx Only.**

Importancia clínica

La presencia de proteínas en la orina es un indicador muy sensible de trastornos renales. Existen cuatro formas en las que pueden presentarse mayores cantidades de proteína: aumento de la permeabilidad glomerular; reabsorción tubular defectuosa; aumento de la concentración plasmática de una proteína anormal de bajo peso molecular y la secreción anormal de proteínas en el tracto urinario.¹ La albuminuria, el aumento de la cantidad de albúmina en la orina, se ha reconocido como un indicador temprano de daño renal en la diabetes que puede revertirse si se detecta y trata a tiempo.²

Historia del método

Se han descrito varios métodos para la determinación de concentraciones de proteína en fluidos biológicos. Estos métodos se basan en procedimientos colorimétricos, turbidimétricos, electroforéticos o inmunológicos.^{3,4} Los métodos de unión de colorantes se caracterizan por tener buena precisión y sensibilidad. El método con azul de Coomassie⁵ es muy sensible, pero los reactivos manchan el vidrio y el plástico.

Este método se basa en el procedimiento desarrollado por Fujita⁶ y Watanabe.⁷ Es un método colorimétrico de unión de tinte sensible que emplea el rojo de pirogalol. El método rara vez mancha las cubetas o los tubos de plástico y puede automatizarse.

Principio

El rojo de pirogalol se combina con ácido de molibdeno a un pH bajo. Cuando el complejo se combina con proteínas, se forma un color azul-púrpura. El aumento de absorbancia a 600 nm es directamente proporcional a la concentración de proteína en la muestra.

Reactivos

1. REACTIVO DE MICROPROTEÍNAS: Contiene disolución amortiguadora, rojo de pirogalol 0,067 mmol/L, estabilizador de molibdato de sodio 0,153 mmol/L, tensioactivos y conservante.
2. SOLUCIÓN ESTÁNDAR DE PROTEÍNAS: Contiene albúmina 50 mg/dL en solución salina con azida sódica al 0,05% como conservante.

Preparación de los reactivos

El reactivo de microproteínas y la solución estándar de proteínas se proporcionan listos para usar.

Almacenamiento de reactivos

Almacene el reactivo de microproteínas y el estándar de proteínas refrigerados (a una temperatura de entre 2-8°C). El reactivo y el estándar son estables hasta la fecha de caducidad que se muestra en las etiquetas.

Precauciones

1. El reactivo de microproteínas está indicado exclusivamente para el diagnóstico *in vitro*.
2. Deben respetarse las precauciones normales para la manipulación de reactivos de laboratorio.
3. El estándar de proteína contiene azida de sodio. No ingerir. Puede reaccionar con tuberías de plomo o cobre para formar azidas metálicas altamente explosivas. Al desecharlo, vierta grandes cantidades de agua para evitar que la azida se acumule.

Deterioro del reactivo/estándar

El reactivo y el estándar deben ser claros. No los use si están turbios. Si no se logran los valores de control analizados, puede indicar el deterioro del reactivo o del estándar. No lo utilice si la absorbancia del reactivo a 600 nm es inferior a 0,100.

Extracción y almacenamiento de muestras

Se recomienda que la recolección de muestras se lleve a cabo de conformidad con el documento NCCLS M29-T2. Las muestras que contengan partículas visibles deben clarificarse mediante centrifugación antes de la prueba.

ORINA: Las pruebas se realizan en muestras de 24 horas. La orina no debe recolectarse durante los períodos de ejercicio debido a su efecto sobre la concentración de albúmina. Las determinaciones de proteínas deben realizarse con muestras recientes. Si la prueba no se puede realizar con orina reciente, las muestras se pueden almacenar a una temperatura

de -20°C durante un año como máximo.⁸ NOTA: La hemoglobina puede aumentar los valores de proteína total recuperados, NO UTILICE muestras que contengan sangre.

Interferencias

Se recomienda no utilizar muestras de orina con conservantes añadidos, ya que se ha demostrado que algunos conservantes añadidos, como el HCL y el ácido benzoico, interfieren en el ensayo de proteínas y dan falsos resultados bajos.⁷ Se descubrió que la bilirrubina hasta un nivel de 20 mg/dL y el ácido ascórbico hasta un nivel de 3,0 mg/dL no interfieren con el ensayo. (Desviación inferior al 3,0% para muestras en el rango de 130,0-132,0 mg/dL e inferior al 17% para muestras medidas en el rango de 9,2-12,5 mg/dL). Dado que la hemoglobina es una proteína, aumentará los valores de proteína total recuperados. Se descubrió que la variación del pH no afecta a la determinación de la proteína total. No se evaluaron los efectos de la variación de la gravedad específica. Algunos fármacos y medicamentos pueden interferir, véase Fujita.⁶

Materiales suministrados

1. Reactivo de microproteínas
2. Solución estándar de proteínas

Materiales necesarios, pero no suministrados

1. Dispositivos de pipeteo de precisión.
2. Tubos de ensayo/gradilla
3. Baño María o Bloque Térmico (37°C)
4. Temporizador.
5. Espectrofotómetro capaz de leer a 600 nm.

Procedimiento (Automatizado)

Los procedimientos de aplicación están disponibles para diversos instrumentos automatizados discretos. Póngase en contacto con el Servicio Técnico.

Procedimiento (manual)

1. Etiquete los tubos de ensayo como "En blanco", "Estándar", "Control", "Muestras", etc.
2. Pipetee 1,0 mL de reactivo de microproteínas en cada tubo.
3. Deje que los tubos se calienten a 37°C.
4. Pipetee 0,02 mL (20 uL) de agua desionizada, estándar, controles y muestras en los tubos debidamente etiquetados.
5. Permita que los tubos se incuben a 37°C durante 5 minutos.
6. Después de 5 minutos, ajuste el espectrofotómetro a 600 nm y ponga a cero el instrumento con el tubo EN BLANCO.
7. Lea y registre la absorbancia (Abs) del estándar, los controles y las muestras.
8. Para determinar la concentración de microproteínas de las muestras, véase la sección "Cálculos".

Calibración

Utilice un estándar de proteína acuosa (identificable en NIST SRM 927c).

Control de calidad

La práctica estándar para el control de calidad debe aplicarse a este procedimiento. Se deben utilizar controles de orina disponibles comercialmente (2 niveles) para monitorear las variaciones diarias aceptables. Un nivel satisfactorio de rendimiento se logra cuando los valores del analito obtenidos se encuentran dentro del rango aceptable establecido por el laboratorio.

Cálculos

Los valores de proteína se expresan en mg/dL.

$$\text{Proteína (mg/dL)} = \frac{\text{Abs Desc}}{\text{Abs Std}} \times \text{Conc. de Std.}$$

Donde:

Abs Desc = La absorbancia de la muestra desconocida

Abs Std. = La absorbancia del estándar

Conc. de Std. = Concentración del estándar (50 mg/dL)

Ejemplo:

Abs Desc = 0,085

Abs Std = 0,195

Conc. de Std. = 50 mg/dL

Conjunto de reactivos Microproteínas Pointe

$$\text{Proteína (mg/dL)} = 0,085 \times 50 = 21,8 \text{ mg/dL} \\ 0,195$$

Para determinar la proteína en orina de 24 horas, mida el volumen total de orina de 24 horas en mL (TV) y analice el contenido de proteína en orina (mg/dL). Calcule la proteína en orina de 24 horas, utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Proteína (mg/día)} = \text{Proteína (mg/dL)} \times \frac{\text{TV}}{100}$$

Donde: TV = volumen total de orina de 24-hr. en mL
100 = convierte mL/día a dL/día

Unidades S.I.

Para convertir los resultados en unidades S.I., multiplique la concentración de microproteínas (mg/dL) por 0,0100. Por ejemplo, concentración de microproteínas = 21,8 mg/dL x 0,0100 = 0,218 g/L.

Valores esperados ^{6,7}

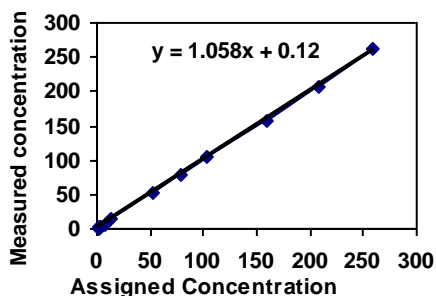
Proteína de orina de 24 horas 28 - 141 mg/día
Orina aleatoria Menos de 10 mg/dL

NOTA: Cada laboratorio debe confirmar la validez de los rangos de intervalo enumerados para la población a la que atiende.

Rendimiento

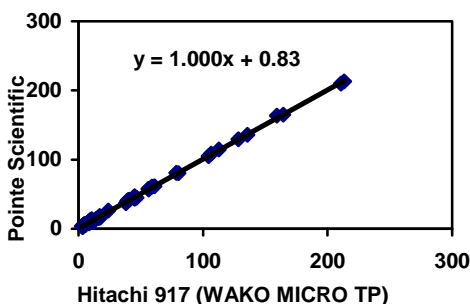
- Rango del ensayo: El procedimiento de microproteínas tiene un rango de ensayo de 2,0 - 250 mg/dL. Las muestras que superen los 250 mg/dL deben diluirse con un volumen idéntico de solución salina isotónica y volver a analizarse. Multiplique el resultado por 2 para compensar la dilución.
- La linealidad se realizó, utilizando once concentraciones conocidas que oscilan entre 1,23 y 259,43 mg/dL. El estudio se realizó en un analizador Roche Hitachi 917. Se muestra la recuperación gráfica.

Gráfico de linealidad



- Sensibilidad: Basado en una resolución de absorbancia del instrumento de 0,001, este procedimiento tiene una sensibilidad de 0,250 mg/dL. Se determinó que el límite de detección era de 2,0 mg/dL cuando la absorbancia se leyó bicromáticamente a 600/700 nm (analizador químico Hitachi 917).
- Comparación: Los estudios entre el presente método y un método similar (Wako Autokit Micro TP realizado en el Hitachi 917) determinaron un coeficiente de correlación de 0,9997 y una ecuación de regresión de $y = 1,000x + 0,83$. En el estudio, se utilizaron 55 muestras con un rango de 2,5 - 213,3 mg/dL. Se muestra la recuperación gráfica.

Gráfico de correlación



- Precisión: Estudios realizados en un analizador Roche Hitachi 917. La precisión del ensayo se evaluó, siguiendo una modificación del protocolo NCCLS EPT-T2. Los datos de precisión intraserial se obtuvieron, analizando tres muestras en réplicas de 20 en el mismo día. Los datos de serie a serie se obtuvieron analizando tres muestras en réplicas de cinco durante un período de tres días.

Orina intraserial (N=20)			Orina de serie a serie (N=20)		
Media	D.S.	% C.V	Media	D.S.	% C.V
8,7	0,7	8,6	10,2	0,9	8,6
121,8	2,1	1,7	127,0	1,6	1,2
240,3	1,7	0,7	242,5	2,4	1,0

Referencias

- Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry. W.B. Saunders, Philadelphia p. 608, 1986.
- Viberti, G.C., Pickup, J.C., Jarrett, R.J., Keon, H., N Engl J Med. 300:638-41 1979.
- Grant, G.H., Kachmer, J.F.: Fundamentals of Clinical Chemistry. N.W. Tietz, Editor, W.B. Saunders, Philadelphia, pp. 358-374, 1976.
- Cannon, D.C., Olitzky, I., Inkpen, J.A.: Clinical Chemistry – Principles and Technics, 2nd Ed., R.J. Henry, D.C. Cannon, J.W., Winkelman, Editors, Harper & Row, New York, pp. 442-431, 1974.
- Pesce, M.A., Strande, C.S., Clin Chem 19:1265-1267, 1973.
- Fujita, Y., Mori, I., Kitano, S. Color reaction between pyrogallol red-molybdenum (VI) complex and protein. Bunseki Kagaku 32: E379-E386, 1983.
- Watanabe, N., Kamel, S., Ohkubo, A., Yamakna, M., Clin Chem 32:1551-1554, 1986.
- Tietz, N.W.; Clinical Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunders, Phil. P.470, 1990.

Clave de símbolo

Usar antes de (AAAA-MM-DD)	LOT Lote y código de lote
REF Número de catálogo	Fabricante
IVD Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	Limitación de temperatura
Consultar instrucciones de uso	Rx Only: Venta exclusiva con receta médica
Marca CE	EC REP Representante autorizado en la Comunidad Europea

REF P7582 Fabricado por
HORIBA Instruments Incorporated
5449 Research Drive
Canton, MI 48188



Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated: Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Representante Europeo Autorizado:
Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53
1030 Brussels, BÉLGICA

Tel.: (+32)2.732.59.54 Fax: (+32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Certificado para emplear reactivos

Los reactivos Pointe están certificados para ser fabricados de acuerdo con los parámetros especificados. Cualquier producto de reactivo Pointe que no cumpla con las especificaciones hasta la fecha de vencimiento indicada se reparará de inmediato sin cargo.

Rev. 06/23 P803-P7582-01-ES