

**Finalidad** . Sistema de punto final para la determinación de proteínas en orina y líquido cefalorraquídeo.

**Uso profesional.**

**[Solamente para uso diagnóstico in vitro.]**

**Principio** . El rojo de pirogalol reacciona con el molibdato de sodio formando un complejo que, cuando combinado con la proteína en medio ácido desarrolla un complejo de color azul, con un máximo de absorción en 600 nm. La absorbancia resultante es directamente proporcional a la concentración de la proteína en la muestra.

**Características del sistema** . Varios métodos fueron desarrollados para determinar la proteína urinaria, pero la gran mayoría no es completamente satisfactoria porque la banda de linealidad de la curva de calibración es estrecha, o porque no presentan una repetitividad adecuada.

Percibiendo estas necesidades Labtest optimizó un reactivo que proporciona una excelente sensibilidad y presenta respuesta semejante para albúmina y globulina, siendo capaz de detectar concentraciones tan pequeñas cuanto 2,0 mg/dL.

También algunos reactivos coloran las cubetas y tubos de los aparatos interfiriendo en la repetitividad. La optimización de la concentración de pirogalol-molibdato asociada a la utilización de un surfactante disminuye significativamente la adherencia del reactivo en la pared de la cubeta en analizadores automáticos y semiautomáticos, contribuyendo para el desempeño del reactivo Sensiprot Labtest.

El método propuesto utiliza la técnica manual y es fácilmente aplicable en analizadores automáticos y semiautomáticos capaces de medir con exactitud la absorbancia en 600nm.

**Metodología** . Rojo de pirogalol.

## Reactivos

### 1. **[R1]** - Reactivo de Color - Almacenar entre 2-8 °C.

Contiene rojo de pirogalol  $\geq 60 \mu\text{mol/L}$ ; molibdato de sodio  $\geq 40 \mu\text{mol/L}$ ; oxalato de sodio 1 mmol/L; tampón 50 mmol/L, pH 2,5; octil fenol polioxietanol 0,1% y preservativos.

### 2. **[CAL]** - Estándar - 50 mg/dL - Almacenar entre 2-8 °C.

Contiene azida sodica 0,05%.

Los reactivos no abiertos, conservados en las condiciones especificadas, son estables hasta la fecha de expiración impresa en su rótulo. Durante el manipuleo, los reactivos están sujetos a contaminaciones de naturaleza química y microbiana que pueden provocar disminución de la estabilidad.

## Precauciones y cuidados especiales

Los cuidados habituales de seguridad deben ser aplicados en la manipulación del reactivo. El Estándar de proteína contiene azida sódica que es tóxica. Hay que tener cuidado para evitar la ingestión y en caso de contacto con los ojos y mucosas se debe lavar inmediatamente con gran cantidad de agua y buscar ayuda médica.

No utilizar el Reactivo de Color cuando su absorbancia medida contra agua en 660 nm sea mayor que 0,290 o cuando se muestre turbio o con señales de contaminación.

## Materiales necesarios y no provistos

1. Baño de agua mantenido a la temperatura constante (37 °C).
2. Fotómetro capaz de medir con exactitud la absorbancia en 600 nm.
3. Pipetas para medir la muestra y reactivo.
4. Cronómetro.

## Muestra

Orina y líquido cefalorraquídeo. Todas las muestras deben ser centrifugadas para se obtener mejores resultados.

La orina de 24 horas es la muestra comúnmente empleada, pero la proteína puede ser determinada en una muestra ocasional. Si la orina no fuera analizada luego después de la recolección, puede ser almacenada por hasta 1 año a 20 °C negativos.

Muestras con resultados positivos empleando cintas reactivas deberán ser adecuadamente diluidas para que se queden dentro de la banda de valores medidos.

El líquido cefalorraquídeo no debe tener hemólisis. La proteína es estable por cuatro días entre 2-8 °C y 6 meses por 20 °C negativos.

Como ningún test conocido puede asegurar que las muestras de sangre no transmiten infecciones, todas ellas deben ser consideradas como potencialmente infecciosas. Por lo tanto, al manipularlas se deben seguir las normas establecidas para bioseguridad.

Para desechar los reactivos y el material biológico sugerimos aplicar las normas locales, provinciales o federales de protección ambiental.

## Interferencias

Fosfato inorgánico, calcio, magnesio, creatinina, urea y glucosa producen interferencias positivas inferiores al 5%.

Ácido úrico, citrato de sodio, oxalato de sodio y ascorbato producen interferencias negativas inferiores al 5%.

La hemólisis produce resultados falsamente elevados. La presencia de detergente en lo material puede introducir alteraciones significativas en los resultados.

## Procedimiento

Tomar 3 tubos de ensayo y proceder como sigue:

	Blanco	Prueba	Estándar
Muestra	----	0,05 mL	----
Água desionizada	0,05 mL	----	----
Estándar (n°2)	----	----	0,05 mL
Reactivo de Color (n°1)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Mezclar y poner en baño de agua (37 °C) por 5 minutos y leer las absorbancias de la prueba y del Estándar en 600nm (580 a 620 nm), elevando el aparato a cero con el blanco. La absorbancia es estable 30 minutos.

## CÁLCULOS

$$\text{Proteína (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbancia de la Prueba}}{\text{Absorbancia del Estándar}} \times 50$$

### Ejemplo

$$A \text{ Prueba} = 0,085 \quad A \text{ Estándar} = 0,417$$

$$\text{Proteína (mg/dL)} = \frac{0,085}{0,417} \times 50 = 10,2$$

Debido a la gran reproducibilidad que puede ser obtenida con la metodología, se puede utilizar el método del factor.

$$\text{Factor de calibración} = \frac{50}{\text{Absorbancia del Estándar}}$$

### Ejemplo

$$\text{Factor} = \frac{50}{0,417} = 120$$

$$\text{Proteína (mg/dL)} = 0,085 \times 120 = 10,2$$

$$\text{Orina (mg/24 horas)} = \frac{\text{mg/dL} \times \text{volumen (en mL)}}{100}$$

## Calibración

### Trazabilidad del Sistema

La concentración de proteínas en el Estándar (N°2) es trazable al Standard Reference Material (SRM) 927 del National Institute of Standards and Technology (NIST).

## Calibraciones manuales

Obtener el factor de calibración utilizando el Estándar (N°2) al usar un nuevo lote de reactivos o cuando el control interno de la calidad lo indique.

## Sistemas automáticos

Blanco de reactivos: agua o solución de cloruro de sodio 150 mmol/L (0,85%);

Usar el Estándar (N°2);

## Intervalos de calibración

Calibración en 2 puntos al cambiar de lote o cuando el control de calidad lo indique.

## Linealidad

La reacción es lineal hasta 100 mg/dL. Para valores mayores, diluir la muestra con NaCl 150 mmol/L (0,85%), realizar nueva determinación y multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

Se recomienda diluir las muestras con concentraciones cerca del límite de linealidad para confirmación de los resultados.

**Control interno de la calidad** . El laboratorio debe mantener un programa de control interno de calidad que defina con claridad los reglamentos aplicables, objetivos, procedimientos, criterios para especificaciones de la calidad y límites de tolerancia, acciones correctivas y registro de las actividades. Controles deben ser utilizados para evaluar la imprecisión e desviaciones de calibración.

Se sugiere que las especificaciones para el coeficiente de variación máximo y el error total sean basados en los componentes de la variación biológica (VB)<sup>6,7</sup>.

**Intervalo de referencia** . Los intervalos se deben usar únicamente como orientación. Se recomienda que cada laboratorio establezca en la población atendida su propio rango de valores de referencia.

**Líquor** . Adultos 15 a 45 mg/dL

Niños y Adolescentes <sup>8</sup>	
Edad	mg/dL
0 a 30 días	0 a 153
31 a 90 días	15 a 93
Hasta 2 años	15 a 48
Acima de 2 años	15 a 45

**Orina (Todas las Edades)** . 1 a 15 mg/dL  
28 a 141 mg/24 horas

**Conversión mg/dL para Unidades SI** . g/L = mg/dL x 0,01

## Características del desempeño<sup>9</sup>

**Exactitud** . En dos muestras con concentraciones de proteína iguales a 23 y 35 mg/dL fueron adicionadas cantidades diferentes de proteína obteniéndose una recuperación entre 100 y 111%. El error sistemático proporcional medio obtenido en un valor de 30 mg/dL fue igual a 1,8 mg/dL o 6,0%.

**Especificidad** . El método propuesto fue comparado con un método similar utilizando 40 muestras con valores entre 4,8 y 96,2 mg/dL. La comparación resultó en la ecuación de la regresión  $y = 0,881x + 4,152$  y un coeficiente de correlación (r) igual a 0,988. El error sistemático total (constante y proporcional) verificado en el valor de 30 mg/dL fue igual a 0,567 mg/dL o 1,89%. Como las muestras fueron seleccionadas aleatoriamente en pacientes de ambulatorio y pacientes hospitalizados, se puede inferir que el método tiene una especificidad adecuada.

### Repetitividad - imprecisión intra-ensayo

	N	Media	DE	CV (%)
Muestra 1	20	5,6	0,33	5,7
Muestra 2	20	29,3	0,24	0,8
Muestra 3	20	84,2	0,77	0,9

### Reproducibilidad - imprecisión total

	N	Media	DE	CV (%)
Muestra 1	20	5,5	0,65	11,8
Muestra 2	20	28,9	0,39	1,4
Muestra 3	20	82,4	2,79	3,4

**Límite de detección** . Una muestra no conteniendo proteína fue utilizada para calcular el límite de detección del ensayo encontrándose un valor igual a 2,0 mg/dL, equivalente a la media de 20 ensayos más dos desviaciones standard. Utilizándose la absorbancia del patrón como parámetro se verificó que el límite de detección fotométrica es de 0,12 mg/dL, correspondiendo a una absorbancia igual a 0,001.

**Efectos de la dilución de la matriz** . Dos muestras con valores iguales a 78 y 97 mg/dL fueron utilizadas para evaluar la respuesta del sistema en las diluciones de la matriz con NaCl 150 mmol/L (0,85%). Usando factores de dilución que variaron de 2 hasta 8 se encontraron recuperaciones entre 95 y 105%.

**Significado clínico** . En condiciones normales, hay una pequeña excreción de proteínas en la orina, pudiendo llegar a 140 mg/24 horas o 15 mg/dL. Individuos sanos pueden mostrar aumento de la proteinuria después de ejercicio físico vigoroso o en la deshidratación. También pueden ocurrir aumentos en casos de hemorragias y en estados febriles.

La detección de una cantidad anormal de proteínas en la orina es un indicador confiable de enfermedad renal, debiendo realizarse una medida cuantitativa de la excreción en 24 horas. En base a los datos de varios ensayos y al examen clínico la proteinuria puede caracterizarse como de patrón glomerular o patrón tubular, de acuerdo con la porción del nefrón primariamente afectado. No obstante, estos patrones anatómicos pueden confluir a medida que la enfermedad renal progresa. Un tercer tipo se denomina proteinuria de sobrecarga cuando el material proteico se origina de fuentes extra-renales, como la hemoglobina decurrente de la hemólisis intravascular o la inmunoglobulina del mieloma.

La nefropatía diabética franca está acompañada usualmente de proteinuria intensa (3 a 4 g/24 horas). Concentraciones elevadas de proteína en el LCR ocurren (1) en la punción lumbar traumática por contaminación con sangre periférica, (2) en el

aumento de permeabilidad de la barrera hemoencefálica, principalmente por infecciones de las meninges, (3) en la obstrucción de la circulación, (4) en la síntesis aumentada de las proteínas dentro del sistema nervioso central, como en la esclerosis múltiple y neurosífilis, (5) en condiciones degenerativas como Síndrome de Parkinson y Esclerosis Lateral Amiotrófica.

### Observaciones

1. La limpieza y secado adecuados del material utilizado son factores fundamentales para la estabilidad de los reactivos y obtención de resultados correctos.

2. El laboratorio clínico tiene como objetivo fornecer resultados exactos y precisos. La utilización de agua de calidad inadecuada es una causa potencial de errores analíticos. El agua desionizada o destilada utilizada en el laboratorio debe tener la calidad adecuada para cada aplicación. Así, para preparar reactivos y usar en las mediciones y para su uso en enjuague final de la vidriería, debe tener resistividad  $\geq 1$  megaohm.cm o conductividad  $\leq 1$  microsiemens/cm y concentración de silicatos  $< 0,1$  mg/L. Cuando la columna desionizadora está con su capacidad saturada, se produce agua alcalina con liberación de varios iones, silicatos y sustancias con gran poder de oxidación o reducción que deterioran los reactivos en pocos días o incluso horas, alterando los resultados de modo imprevisible. Por lo cual es fundamental establecer un programa de control de la calidad del agua.

3. La contaminación de la vidriería con detergentes puede interferir con la reacción.

4. Para una revisión de las fuentes fisiopatológicas y medicamentosas de interferencia en los resultados y en la metodología se sugiere consultar <http://www.fxol.org/>.

### Referencias

- Dilena BA, Penberthy LA, Fraser CG. Clin Chem 1983; 29:553-7.
- McElderry LA, Tarbitt IF, Cassells-Smith AJ. Clin Chem 1982; 28:356-60.
- Pesce MA, Strand CS. Clin Chem 1973; 19:1265-67.
- Watanabe N, Kamel S, Ohkubo A, Yamakna M. Clin Chem 1986; 32:1551-54.
- Westgard JO, Groth T. Clin Chem 1981; 27:493-501.
- Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, Base de Datos de Variación Biológica. Disponible en: <http://www.seqc.es/article/articleview/330/1/170> (acceso en 04/2006).
- <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm> (acceso en 09/2007).
- Soldin SJ, Brugnara C, Wong EC: Pediatric Reference Intervals, 5a. edição Washington: AACCPress, 2005. p.165.
- Labtest: Datos de archivo.

## Presentación

Producto	Referencia	Contenido
Sensiprot	36-50	 1 X 50 mL
		 1 X 5 mL
	36-200	 2 X 100 mL
		 1 X 5 mL
Sensiprot Labmax 560/400	36-4/18	 4 X 18 mL
		 1 X 5 mL
Sensiprot CS 400/800	36-2/40	 2 X 40 mL
		 1 X 5 mL

Están disponibles aplicaciones para sistemas automáticos y semi-automáticos.

El volumen por ensayo en aplicaciones automáticas, depende de los parámetros de programación de cada instrumento.

## Informaciones al consumidor

### [Términos y Condiciones de Garantía]

Labtest Diagnóstica garantiza el desempeño de este producto, dentro de las especificaciones, hasta la fecha de expiración indicada en los rótulos, siempre que los cuidados de utilización y almacenamiento indicados en los rótulos y en estas instrucciones, sean seguidos correctamente.



### Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296 / 0001 - 38  
Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP 33400-000  
Lagoa Santa - Minas Gerais Brasil - [www.labtest.com.br](http://www.labtest.com.br)

Customer Service | e-mail: [customerservice@labtest.com.br](mailto:customerservice@labtest.com.br)

Revisión: Septiembre, 2012  
Ref.: 100517

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.  
Reproducción bajo previa autorización

## Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro . Symbols used with ivd devices

	<b>Conteúdo suficiente para &lt; n &gt; testes</b> Contenido suficiente para < n > tests Contains sufficient for < n > tests		<b>Consultar instruções de uso</b> Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		<b>Controle</b> Control Control		<b>Tóxico</b> Tóxico Poison
	<b>Data limite de utilização (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa)</b> Estable hasta (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Use by (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		<b>Número de catálogo</b> Número de catálogo Catalog Number		<b>Controle negativo</b> Control negativo Negative control		<b>Reagente</b> Reactivo Reagent
	<b>Material Calibrador</b> Material Calibrador Calibrator Material		<b>Adições ou alterações significativas</b> Cambios o suplementos significativos Significant additions or changes		<b>Controle positivo</b> Control positivo Positive control		<b>Fabricado por</b> Elaborado por Manufactured by
	<b>Material Calibrador</b> Material Calibrador Calibrator Material		<b>Produto diagnóstico in vitro</b> Dispositivo de diagnóstico in vitro In vitro diagnostic device		<b>Controle</b> Control Control		<b>Número de lote</b> Denominación de lote Batch code
	<b>Limite de temperatura (conservar a)</b> Temperatura limite (conservar a) Temperature limitation (store at)		<b>Liofilizado</b> Liofilizado Lyophilized		<b>Risco biológico</b> Riesgo biológico Biological risk		<b>Período após abertura</b> Período post-abertura Period after-opening
	<b>Representante Autorizado na Comunidade Europeia</b> Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		<b>Corrosivo</b> Corrosivo Corrosive		<b>Marca CE</b> Marcado CE CE Mark		<b>Uso veterinário</b> Uso veterinário Veterinary use
	<b>Instalar até</b> Instalar hasta Install before						

Ref.: 140214 |