

MUCOPROTEÍNAS

Instrucciones de Uso

Ref.: 20

Finalidad . Sistema para determinación de las mucoproteínas en muestras de suero, por reacción de punto final.

[Solamente para uso diagnóstico in vitro.]

Principio . Las mucoproteínas (seromucoides) se separan de las proteínas coagulables por el calor por precipitación selectiva con solución de ácido perclórico. A continuación, se realiza precipitación de las mucoproteínas del filtrado con ácido fosfotúngstico y dosificación con el reactivo de Folin-ciocalteau, a través del contenido en tirosina.

Características del sistema . La concentración de ácido perclórico en condiciones equilibradas promueve una precipitación total de las proteínas y favorece la obtención de precipitado fino, aumentando la rapidez de la filtración.

El reactivo de Folin-Ciocalteau es preparado con sustancias de alto índice de pureza que le garantizan gran estabilidad, elevada sensibilidad y excelente desempeño.

La comparación entre las imprecisiones encontradas en la repetitividad y en la reproducibilidad demuestra que el sistema de medición es bastante robusto en las regiones de concentraciones significativas para uso clínico, indicando un desempeño seguro en el día a día.

Metodología . Winzler modificado.

Reactivos

1. [R1] - Ácido Perclórico - Conservar entre 15 - 25 °C.

Contiene ácido perclórico 750 mmol/L.

2. [R2] - Ácido Fosfotúngstico - Conservar entre 15 - 25 °C.

Contiene ácido fosfotúngstico 17 mmol/L y ácido clorhídrico 2,0 mmol/L.

3. [R3] - Carbonato de sodio - Stock - Conservar entre 15 - 25 °C.

Contiene carbonato de sodio 1,9 mol/L.

4. [R4] - Reactivo de Folin - Conservar entre 15 - 25 °C.

Contiene tungstato de sodio 300 mmol/L, molibdato de sodio 100 mmol/L, sulfato de litio 1,36 mol/L, ácido clorhídrico 1,25 mol/L y ácido fosfórico 800 mmol/L.

5. [CAL] - Patrón - Conservar entre 15 - 25 °C.

Tirosina 40 mg/dL. Equivale en la dosificación 5,0 mg/dL. Después del manejo, se sugiere almacenar bien tapado para evitar evaporación.

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

Precauciones y cuidados especiales

Se deben aplicar los cuidados habituales de seguridad en el manejo de reactivos.

El Reactivo de Folin es cáustico y puede producir quemaduras. Se debe tomar cuidado para evitar la ingestión y en caso de contacto con la piel, mucosa y los ojos, se deben lavar inmediatamente las partes afectadas con gran cantidad de agua y procurar auxilio médico.

El filtrado debe presentarse claro. Sin embargo, en caso de mucoproteínas elevadas, el filtrado puede presentarse ligeramente turbio. Es obligatorio el uso de papel de filtro altamente retenedor (como los recomendados) para la obtención de resultados correctos.

Material necesario y no suministrado

1. Baño maría mantenido a temperatura constante (37 °C).
2. Fotómetro capaz de medir, con exactitud, la absorbancia entre 640 y 700 nm.
3. Pipetas para medir muestras y reactivos.
4. Cronómetro.

Muestra

Se debe crear un Procedimiento Operacional Estándar (POE) que establezca procedimientos adecuados para la recogida, preparación y almacenamiento de la muestra. Subrayamos que los errores debidos a la muestra pueden ser mucho más grandes que los errores acacidos durante el procedimiento analítico.

Usar suero. El analito es estable por 7 días entre 2 - 8 °C. No usar plasma pues se obtienen resultados falsamente disminuidos.

Como ningún test conocido puede asegurar que muestras de sangre no transmiten infecciones, todas ellas deben ser consideradas como potencialmente infectivas. Así siendo, deberán ser manipuladas siguiendo, las normativas establecidas para bioseguridad.

Para deshacerse de los reactivos y del material biológico sugerimos aplicar las normativas locales, regionales o nacionales de protección ambiental.

Interferencias

Valores de bilirrubina de hasta 5 mg/dL, hemoglobina hasta 30 mg/dL y triglicéridos hasta 900 mg/dL no producen interferencias significativas.

Valores de bilirrubina superiores a 5 mg/dL, hemoglobina superiores a 30 mg/dL y triglicéridos superiores a 900 mg/dL producen resultados falsamente disminuidos.

Para evaluar la concentración aproximada de la hemoglobina en una muestra hemolizada se puede proceder como expuesto a continuación: Diluir 0,05 mL de la muestra en 2,0 mL de NaCl 150 mmol/L (0,85%) y medir la absorbancia en 405 ó 415 nm, ajustando el cero con agua desionizada o destilada.

$$\text{Hemoglobina (mg/dL)} \cong \text{Absorbancia}_{405} \times 601$$

$$\text{Hemoglobina (mg/dL)} \cong \text{Absorbancia}_{415} \times 467$$

Preparo del reactivo . Ver observaciones 1 y 2.

Carbonato de uso . Ref.: 20: Añadir el contenido del frasco nº 3 (50 mL) a 200 mL de agua destilada o desionizada y mezclar. Estable 6 meses en recipiente de plástico, entre 15 - 25 °C.

Ref.: 20E: Añadir el contenido del frasco nº 3 (200 mL) a 800 mL de agua destilada o desionizada y mezclar. Estable 6 meses en recipiente de plástico, entre 15 - 25 °C. Para preparar menor cantidad del reactivo, utilizar los volúmenes propuestos para el envase Ref.: 20.

Procedimiento

Desproteínización . En un tubo de ensayo colocar 4,0 mL de Ácido Perclórico (nº 1). Añadir gota a gota, 1,0 mL de suero mientras se agita. Agitar con fuerza y esperar 10 minutos. Añadir 2,5 mL de Cloruro de sodio 0,85%, agitar y filtrar inmediatamente a través de papel de filtro cuantitativo (Inlab tipo 50, Whatman nº 50, Green S807, SS 5893 ó Ederol nº 4). Ver observación 3.

Precipitación de las Mucoproteínas

	Test
Filtrado	3,0 mL
Ácido Fosfotúngstico (nº 2)	0,5 mL

Agitar y esperar 15 minutos. Centrifugar durante 5 minutos a 3500 rpm (3000 - 3500 rpm) y deshacerse de todo el sobrenadante.

Ácido Fosfotúngstico (nº 2)	0,1 mL
Água destilada ou desionizada	0,5 mL

El procedimiento que se acaba de indicar es necesario para evitar obtención de resultados falsamente elevados. Agitar, centrifugar durante 5 minutos a 3500 rpm (3000 - 3500 rpm) y deshacerse de todo el sobrenadante. Drenar el exceso de líquido, colocando el tubo invertido sobre una hoja de papel absorbente. Este será el tubo test de la colorimetría.

Colorimetría

	Blanco	Test	Patrón
Patrón (nº 5)	----	----	0,05 mL
Carbonato de uso	5,0 mL	5,0 mL	5,0 mL

Agitar el tubo test para disolver el precipitado.

Reactivo de Folin (nº 4)	0,2 mL	0,2 mL	0,2 mL
--------------------------	--------	--------	--------

Agitar inmediatamente y incubar en baño maría a 37 °C durante 15 minutos. El nivel del agua en el baño debe ser superior al nivel de los reactivos en los tubos de ensayo. Determinar las absorbancias del test y patrón en 680 nm o filtro rojo (640 a 700), ajustando el cero con el blanco. El color es estable por 120 minutos.

El procedimiento sugerido para la medición es adecuado para fotómetros cuyo volumen mínimo de solución para lectura es igual o menor que 5,0 mL. Se debe hacer una verificación de la necesidad de ajuste del volumen para el fotómetro utilizado. Los volúmenes de muestra y reactivo pueden ser modificados proporcionalmente sin perjuicio para el desempeño del test y el procedimiento de cálculo se mantiene inalterado. En caso de reducción de los volúmenes, es fundamental que se observe el volumen mínimo necesario para la lectura fotométrica. Volúmenes de la muestra menores que 0,01 mL son críticos en aplicaciones manuales y se deben usar con cautela porque aumentan la imprecisión de la medición.

Cálculos . Ver linealidad.

$$\text{En tirosina (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbancia del Test}}{\text{Absorbancia del Patrón}} \times 5$$

Ejemplo

$$\begin{aligned} \text{Absorbancia del Test} &= 0,227 \\ \text{Absorbancia del Patrón} &= 0,268 \end{aligned}$$

$$\text{En tirosina (mg/dL)} = \frac{0,227}{0,268} \times 5 = 4,2$$

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

$$\text{Factor de Calibración} = \frac{5}{\text{Absorbancia del Patrón}}$$

$$\text{En tirosina (mg/dL)} = \text{Absorbancia del Test} \times \text{Factor}$$

Ejemplo

$$\text{Factor} = \frac{5}{0,268} = 18,65$$

$$\text{En tirosina (mg/dL)} = 0,227 \times 18,65 = 4,2$$

Para calcular el valor en Mucoproteínas, multiplicar el valor en Tirosina (mg/dL) por la constante 23,8.

El resultado de la medición es lineal hasta 15 mg/dL. Para valores mayores, diluir el filtrado con agua desionizada o destilada, realizar nueva determinación y multiplicar el resultado obtenido por el factor de la dilución. Sugerimos diluir el filtrado 1:2 ó 1:3 con agua destilada o desionizada. Sugerimos la verificación de la linealidad metodológica y fotométrica como mínimo a cada seis meses, utilizando muestras con valores de hasta 15 mg/dL.

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)^{4,6} .

Valores de referencia . Estos valores se deben usar tan solo a modo de orientación. Se recomienda que cada laboratorio establezca, en la población atendida, su propia banda de valores de referencia.

En Tirosina: 1,9 a 4,9 mg/dL.

Características del desempeño⁷

Exactitud . En dos muestras con concentraciones de mucoproteínas iguales a 2,0 y 6,0 mg/dL se añadieron cantidades diferentes del analito obteniéndose recuperaciones entre 91 y 94%. El error sistemático proporcional medio obtenido en un valor de 2,0 mg/dL fue igual a 0,14 mg/dL ó 7,0%.

Especificidad . El método propuesto fue comparado con un método similar utilizando 80 muestras con valores situados entre 0,3 y 11,1 mg/dL. La comparación resultó en la ecuación de la regresión $y = 0,968x - 0,006$ y un coeficiente de correlación (r) igual a 0,99. El error sistemático total (constante y proporcional) verificado en el nivel de decisión (2,0 mg/dL) fue igual a 0,07 mg/dL ó 3,5%. Como las muestras fueron seleccionadas aleatoriamente en pacientes de ambulatorio y pacientes hospitalizados, se puede inferir que el método tiene una especificidad metodológica adecuada.

Repetitividad - Imprecisión intra-ensayo

	N	Media	DE	CV (%)
Muestra 1	20	3,4	0,10	3,0
Muestra 2	20	5,0	0,14	2,7

Reproducibilidad - Imprecisión Total

	N	Media	DE	CV (%)
Muestra 1	20	3,4	0,10	3,1
Muestra 2	20	5,0	0,19	3,9

Sensibilidad metodológica . Una muestra proteica no conteniendo mucoproteínas fue utilizada para calcular el limite de detección del ensayo habiendo sido encontrado un valor igual a 0,03 mg/dL, equivalente al promedio de 20 ensayos más dos desviaciones estándar. Utilizándose la absorbancia del patrón como parámetro, el limite de detección fotométrica es 0,018 mg/dL, correspondiendo a una absorbancia igual a 0,001.

Efectos de la dilución de la matriz . Dos muestras con valores iguales a 4,9 y 6,0 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 1,2 a 1,6 se hallaron recuperaciones entre 98 y 104%.

Observaciones

1. La limpieza y secado adecuado 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 vidrería, debe tener resistividad ≥ 1 megaohm.cm o conductividad ≤ 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. El filtrado debe presentarse claro. Sin embargo, en caso de mucoproteínas elevadas, el filtrado puede presentarse ligeramente turbio. Es obligatorio el uso de papel de filtro altamente retenedor (como los recomendados) para la obtención de resultados correctos.
4. Para una revisión de las fuentes fisiopatológicas de interferencia en los resultados y en la metodología se sugiere consultar www.fxl.org/.

Referencias

1. Inmetro - Boas Práticas de Laboratório Clínico e Listas de Verificação para Avaliação, Qualitymark eds, Rio de Janeiro, 1997.
2. Tonks DB. Quality Control in Clinical Laboratories, Warner-Chilcott Laboratories, Diagnostic Reagents Division, Scarborough, Canadá: 1972.
3. Weimer HE, Moshin JR. Ver Tuberc Pulmonary Diseases 1952; 68:594.
4. <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm> (acesso em 26/10/07).
5. Winzler RJ, Devor AW, Mehhl JW, Smythe IM. J Clin Invest 1948; 27:609.

6. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, Base de Datos de Variación Biológica. Disponível em: <<http://www.seqc.es/article/articleview/330/1/170>> (acesso em 04/2006).

7. Labtest: Datos de Archivo.

Presentación

Producto	Referencia	Contenido
Mucoproteínas	20	RI 1 1 X 100 mL
		RI 2 1 X 16 mL
		RI 3 1 X 50 mL
		RI 4 1 X 10 mL
		CAL 1 X 2 mL
	20E	RI 1 1 X 400 mL
		RI 2 1 X 60 mL
		RI 3 1 X 200 mL
		RI 4 1 X 40 mL
		CAL 1 X 4 mL

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

Servicio de Apoyo al Consumidor | e-mail: sac@labtest.com.br

Revisión: Octubre, 2004

Ref.: 170309

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

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

Ref.: 170309 |