

EVALUACIÓN DEL TIPO DE CALIBRADOR A UTILIZAR EN LA DETERMINACIÓN DE PROTEINURIA.

Br. Antúnez F., Q.F. Rocca A., Q.F. Yametti L., Prof. Raymondo S.

Facultad de Química, Cátedra de Análisis Clínicos, Hospital Maciel, Laboratorio Central; Montevideo, Uruguay.

Introducción:

El análisis de orina en el laboratorio clínico de hoy se realiza en un amplio porcentaje por métodos semicuantitativos de química seca, empleando tiras reactivas. Es habitual proseguir con la cuantificación de las proteinurias, determinación de rutina para el diagnóstico y monitoreo de las enfermedades renales primarias y secundarias, análisis de invalorable aporte en patologías de alta prevalencia en nuestro medio. En la cuantificación de las proteínas urinarias se presentan distintos inconvenientes, al no existir consenso con respecto a una técnica o metodología de referencia, al tipo de calibrador adecuado, presentándose en la mayoría de los casos pobre correlación entre una metodología y otra. Para el análisis de la correlación entre la química seca y la técnica del ácido sulfosalicílico (ASS) nos hemos planteado la hipótesis de que un pool de orinas patológicas (POP) sería un calibrador más conveniente que el pool de sueros (PS) tradicional.

Objetivo:

Investigar si la correlación entre el ASS y el valor obtenido por química seca mejora cuando se utiliza un calibrador de POP, frente a un PS.

Resultados:

Tabla I

Porcentaje de nitrógeno (%N) en las distintas porciones de la muestra del POP, según las distintas metodologías			
Tipo de muestra	Metodología	Determinación de	% Nitrógeno
Alicuota POP	Kjeldahl	Nitrógeno total	0.97
Precipitado de POP	Precipitación ácido túngstico; Kjeldahl	Nitrógeno proteico	0.10
Sobrenadante de POP	Precipitación ácido túngstico; Kjeldahl	Nitrógeno no proteico	0.88
Alicuota POP	Bioquímica (Jaffé, Ureasa, Uricasa)	Nitrógeno no proteico	0.80

Tabla II

Porcentaje de nitrógeno (%N) en las distintas porciones de la muestra del PS, según las distintas metodologías			
Tipo de muestra	Metodología	Determinación de	% Nitrógeno
Alicuota PS	Kjeldahl	Nitrógeno total	1.0
Precipitado de PS	Precipitación ácido túngstico; Kjeldahl	Nitrógeno proteico	1.0
Alicuota PS	Bioquímica (Biuret)	Nitrógeno proteico	1.0
Alicuota PS	Bioquímica (Jaffé, Ureasa, Uricasa)	Nitrógeno no proteico	0.02

Figura 1

Curva de calibración de ASS con PS y POP como calibradores

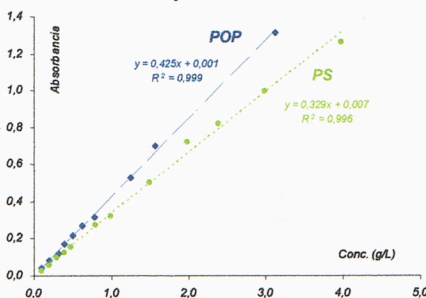
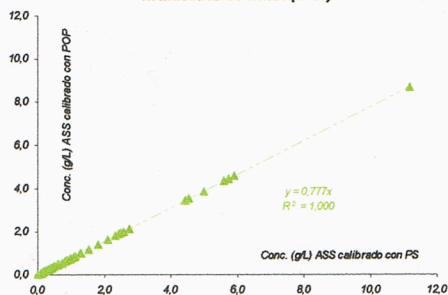


Figura 2

Correlación para ASS con calibrador PS y POP, en muestras de orinas (n=98)



Materiales:

Población: 98 pacientes atendidos en el Hospital Maciel.

Muestras: - orinas obtenidas de la primera micción matinal, sin conservador.
- sueros obtenidos por extracción de sangre en ayunas.

Calibradores: PS de muestras de suero (n=10); POP muestras de orinas (n=5); se almacenan fraccionado en freezer a -20° C.

Tiras reactivas: MCC Urine Reagent Strips for Urinalysis Instruments (MCC).

Equipos: Analizador ROCHE/HITACHI 704, Espectrofotómetro BTR 810, aparato de digestión Tecator 1007 Digestion System 6, aparato de destilación Tecator 1002 Kjeltec System, lector de tiras de orina Uritek 151 Teco Diagnostics.

Calibrador: Calibrator for Automated Systems (CFAS) de ROCHE.

Control de Calidad: International EQAS for Clinical Chemistry.

Análisis estadístico de datos: Curva de regresión lineal por el método de mínimos cuadrados, análisis de correlación, test no paramétrico de Wilcoxon para muestras pareadas y coeficiente de Spearman.

Métodos:

Proteínas por química seca: método del error de indicador con azul de tetrabromofenol.

Precipitación de proteínas: técnica de ácido túngstico; modificación de Folin-Wu.

Nitrógeno total, proteico y no proteico: método de Kjeldahl. Determinación de: a) nitrógeno total en alícuotas de PS y POP; b) nitrógeno proteico sobre proteínas precipitadas de PS y POP y c) nitrógeno no proteico en sobrenadantes de los precipitados proteicos.

Nitrógeno no proteico por análisis bioquímico en PS y POP: a) reacción de Jaffé para creatinina y b) enzimáticos de ureasa y uricasa para urea y ácido úrico respectivamente.

Proteínas por Biuret: se realizó sobre el calibrador PS.

Proteínas por ASS: relación muestra:ASS 3% (1:5), lectura a 630 nm, tiempo de lectura 5 minutos.

Proteínograma electroforético: en calibradores PS y POP, sobre membranas de acetato de celulosa (Biosystem); para POP concentrando la muestra en tubo Liquimax (Helena France SA) con relación 1:3.

Figura 3: Perfil proteico de los calibradores PS y POP

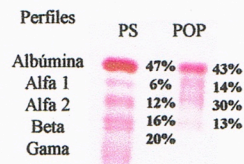


Tabla III: Correlación de resultados para muestras de orinas (n=98) para ASS y química seca.

Test no paramétrico de Wilcoxon para muestras pareadas y coeficiente de Spearman.		
Métodos comparados	Wilcoxon valor de P	Spearman (rs) con p<0,0001
ASS Calibrado PS - ASS Calibrado POP	<0,0001	1.0000
ASS Calibrado PS - Química seca (MCC)	0.0206	0.9029
ASS Calibrado POP- Química seca (MCC)	<0,0001	0.9029

Conclusión:

Si bien ambos calibradores son satisfactorios a los fines del estudio planteado, la calibración con POP demuestra un mayor grado de confianza ($p<0.0001$) entre el resultado de la tira reactiva MCC y la técnica de ASS.

Esta tendencia observada permitiría sugerir la conveniencia del empleo del POP como calibrador de la técnica de ASS.

Bibliografía:

- Penders J., Fiers T., Delanghe J. R., "Quantitative evaluation of urinalysis test strips", Clin. Chem. 48/12: 2236-2241, 2002.
- Marshall T., Williams K. M., "Total protein in urine: elimination of a differential response between the Coomassie Blue and Pyrogallol Red protein Dye-binding assays", Clin. Chem. 46/3: 392-398, 2000.
- Sastre Gonzalez F. (ed.), "Bioquímica Clínica, Semiología y diagnóstico: interpretación de los datos de laboratorio", 1ª Ed., 1994.
- Henry John Bernard; "Diagnóstico y Tratamiento Clínicos, por el Laboratorio", 9ª Ed., 1994.
- O. Folin, H. Wu; "A system of blood analysis"; The Journal of Biological Chemistry, V. 38, 81, 1991.