

Evaluación de la performance del reactivo Microalbúmina Turbitest AA de Wiener lab.

Meichtry, V.; Tallano, C.; Capriotti, G.A.; Torruella, M.
Centro de Investigación y Biotecnología, Wiener lab., Rosario, Argentina.

La microalbuminuria es un parámetro importante en el seguimiento de pacientes diabéticos ya que permite la detección temprana de complicaciones renales en una etapa en la cual no existen evidencias clínicas de nefropatía y el proceso puede revertirse si se implementan medidas terapéuticas adecuadas. Constituye además un factor de riesgo independiente de enfermedad cardiovascular en pacientes con y sin diabetes.

El reactivo Microalbúmina Turbitest AA Wiener lab. se basa en un método inmunoturbidimétrico cuantitativo en donde la albúmina presente en la muestra (orina) reacciona con el anticuerpo específico formando inmunocomplejos insolubles. La turbidez causada por los mismos es proporcional a la concentración de albúmina y se puede medir espectrofotométricamente.

Objetivo

Evaluar la performance analítica del reactivo Microalbúmina Turbitest AA Wiener lab. para la determinación cuantitativa de microalbúmina (MALb) en orina.

Materiales y métodos

La evaluación fue realizada en analizadores Konelab 20 y 60i utilizando una curva de calibración no lineal de seis puntos. Las diferentes concentraciones de los mismos se obtuvieron a partir de diluciones seriadas de un único calibrador (Microalbúmina Calibrador Turbitest AA). En el estudio de linealidad y efecto

prozona se utilizaron protocolos internos de evaluación realizando diluciones a partir de una muestra de elevada concentración de albúmina. En cuanto a la precisión, se siguió el protocolo EP15-A del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), empleando muestras de orina con diferentes concentraciones de albúmina.

La comparación de métodos se realizó según el protocolo EP9 del CLSI. Se evaluaron muestras de pacientes con concentraciones que cubrieran todo el rango de medición. Se eligieron dos métodos de referencia: Tina quant Albúmina (Roche) y Quantex Microalbúmina (Biokit). Se evaluaron además diferentes controles comerciales. Para un con-

tinuo seguimiento del reactivo se participa actualmente en el programa de calidad externo del College of American Pathologists (CAP).

Resultados

Linealidad

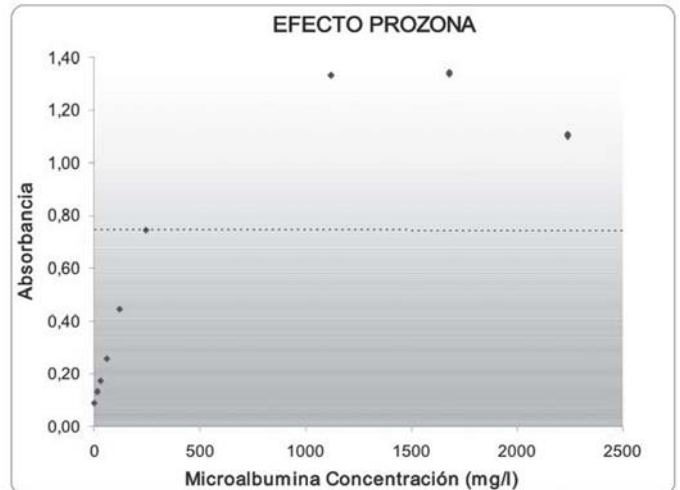
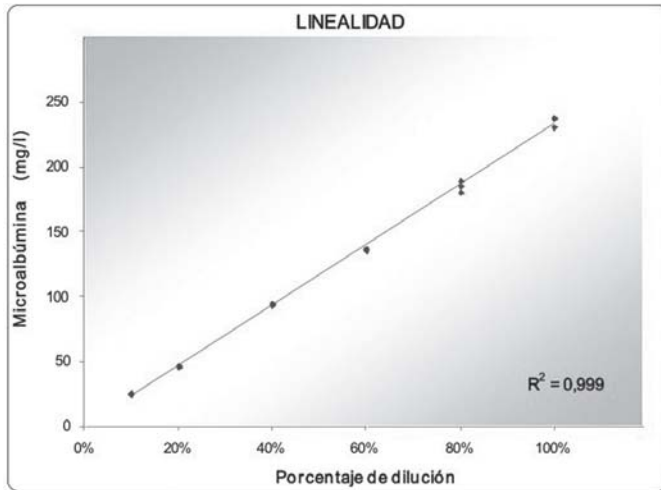
El sistema mostró un comportamiento lineal en todo el rango de medición (0 a 230 mg/l).

Efecto Prozona

No se evidenció fenómeno de prozona hasta una concentración de 2400 mg/l de microalbúmina.

Precisión

Se obtuvieron coeficientes de variación



total (CVT) aceptables para los diferentes niveles de MAIb evaluados. Para muestras normales el CVT fue menor al 10% y para muestras patológicas menor al 5%.

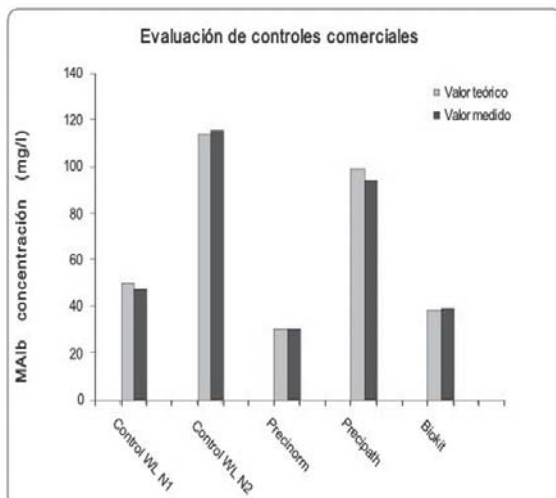
Evaluación de controles comerciales
Para los controles ensayados, los desvíos relativos porcentuales (DRP) respecto del valor teórico fueron menores al 10%.

Comparación de métodos
Se observó una buena correlación con los dos métodos comparativos utilizados.

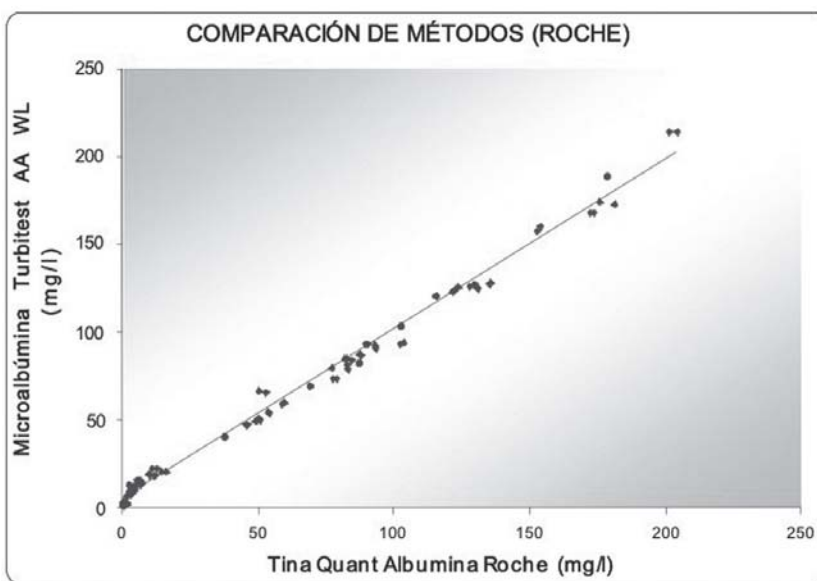
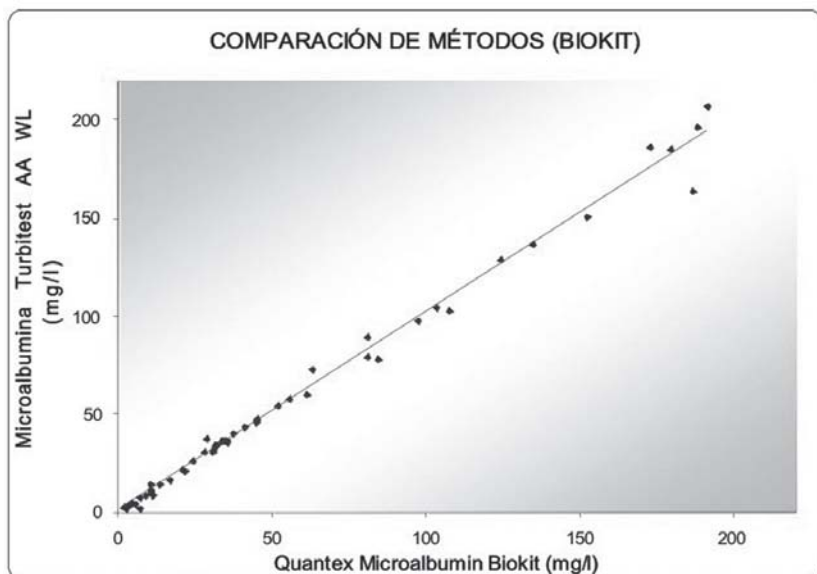
Conclusión

El reactivo Microalbúmina Turbitest AA Wiener lab. mostró una adecuada performance analítica con resultados confiables y precisos que se correlacionan muy bien con los métodos comparativos utilizados.

PRECISION					
Media (mg/l)	n	Intracorrida		Total	
		S.D. (mg/l)	C.V. (%)	S.D. (mg/l)	C.V. (%)
9,6	20	0,34	3,56	0,70	7,3
38,1	20	0,26	0,69	0,86	2,3
74,6	20	0,62	0,84	1,54	2,1
161,4	20	1,80	1,11	4,64	2,9



EVALUACION DE CONTROLES COMERCIALES			
CONTROLES	Valor teórico (mg/l)	Valor medido (mg/l)	DRP (%)
Microalbúmina Control nivel 1 Turbitest AA Wiener lab.	50,0	47,8	-4,4
Microalbúmina Control nivel 2 Turbitest AA Wiener lab.	113,6	115,8	2,0
Precinorm PUC Roche	30,6	30,4	-0,8
Precipath PUC Roche	99,6	94,4	-5,2
Quantex Microalbumin Control Biokit	39,0	39,3	0,7



Anticoagulantes y su efecto en el hemograma

De Vuono, D.; Capriotti G.
Centro de Investigación y Biotecnología
Wiener lab., Rosario - Argentina

El control de las variables preanalíticas en hematología es un factor crucial para asegurar resultados lo más exactos posibles. Factores preanalíticos como la toma de muestra, transporte, sustancias interferentes y el paciente mismo son causas comunes de resultados inexactos. Una inapropiada toma y procesamiento de muestra puede influenciar el resultado analítico. Minimizando los errores en cualquier etapa de la fase preanalítica, el laboratorio puede mejorar la calidad de los resultados analíticos, reducir el número de especímenes recolectados nuevamente y mejorar el tiempo de procesamiento e informe de resultados.

El EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) es el anticoagulante usado por los laboratorios de hematología debido a que los componentes celulares y morfología de las células son preservadas. Las sales de EDTA (disódicas, dipotásicas, y tripotásicas) son utilizadas como anticoagulantes en tubos de colección, en lugar del ácido libre que es insoluble en medios acuosos. El EDTA anticoagula la sangre quelando el calcio. El calcio es necesario en la cascada de coagulación y su remoción inhibe y detiene una serie de eventos, tanto intrínsecos y extrínsecos, que causan la coagulación. El EDTA dipotásico es el anticoagulante actualmente recomendado por el Consejo Internacional de Estandarización en Hematología (ICSH) y el CLSI. El EDTA dipotásico es recomendado debido a su buena solubilidad y resultados estables de hematocrito.

En algunos individuos, el EDTA puede generar recuentos inexactos de plaquetas. Es

Método comparativo	n	Pendiente	Ordenada al origen	$S_{(y/x)}$	R^2
BIOKIT	61	1,02	1,39	5,13	0,992
ROCHE	49	0,97	5,76	4,94	0,992



Proporción Parámetro	35 ul Anticoagulante W + 4,5 ml sangre			35 ul Anticoagulante W 2,5 ml sangre			35 ul Anticoagulante W 1,0 ml sangre		
	Media	DR%	P	Media	DR%	P	Media	DR%	P
WBC (x10 ⁹ /L)	5,61	-	-	5,45	-2,9	0,0000	5,46	-2,7	0,0017
RBC (x10 ¹² /L)	4,19	-	-	4,06	-3,2	0,0010	4,01	-4,3	0,0000
PLT (x10 ⁹ /L)	363,3	-	-	340	-6,4	0,0000	332,5	-8,5	0,0000
HGB (g/dL)	13,2	-	-	12,8	-3,2	0,0002	12,7	-4,1	0,0001
HCT (%)	38,7	-	-	37,5	0	0,0013	37	-4,5	0,0001
MCV (fL)	92,3	-	-	92,4	0,1	0,4013	92,2	-0,2	0,3419
RDW (%)	12,8	-	-	12,8	-0,4	0,7390	12,9	0,6	0,5086
LYMPH % (%)	44,8	-	-	45,3	1,1	0,3679	45,3	1,2	0,3106
GRAN % (%)	46,6	-	-	45	-3,4	0,0548	44,6	-4,3	0,0768
MID (%)	8,6	-	-	9,7	12,4	0,0977	10,1	16,9	0,0859

tas anomalías, agregados plaquetarios y satelitismo plaquetario, pueden ser resultados de cambios en la estructura de la membrana, que ocurren cuando el ión calcio es removido por el agente quelante, permitiendo la unión de anticuerpos preformados.

El mezclado apropiado de sangre entera asegura que el EDTA se disperse por toda la muestra. Los tubos de colección por vacío con EDTA deben ser mezclados de 8 a 10 veces por inversión inmediatamente después de la punción. Los microcontenedores con EDTA 10 veces o más, también por inversión y deben ser invertidos unas 20 veces previas al análisis.

En base a todo lo anterior, se realizaron pruebas recolectando muestras de pacientes en tubos con diferentes relaciones sangre / anticoagulante. Se utilizó **Anticoagulante W** de Wiener lab. en la proporción indicada en el manual de instrucciones (35 ul de anticoagulante para 4,5 ml de sangre entera) y también en otras dos proporciones incorrectas (35 ul de anticoagulante para 2,5 ml de sangre entera y 35 ul de anticoagulante para 1 ml).

Cada set de muestras se procesó 10 veces, se calculó la media, el SD y el CV%. Luego se compararon las medias para cada combinación de muestra / anticoagulante, para cada parámetro, mediante una prueba t para muestras apareadas. Este procedimiento se realizó para 4 muestras diferentes.

Resultados

En la tabla se observa que los resultados obtenidos en las 4 muestras fueron muy similares, encontrándose en todos los casos, diferencias estadísticamente significativas, según el parámetro, con mayor o menor importancia clínica. Sólo se muestran los resultados de una de las muestras.

En las subpoblaciones, no tanto en linfocitos o granulocitos como en células medias, a medida que aumenta la cantidad de anticoagulante respecto a la de sangre, los desvíos relativos (DR%) respecto a la proporción recomendada van aumentando. En el caso de linfocitos y granulocitos estos desvíos relativos no son significativos ni clínica ni estadísticamente. En cambio, para células medias, vemos que van aumentando conforme la relación anticoagulante / sangre aumenta, hasta hacerse significativa (DR% > 15%) clínicamente pero no estadísticamente ($p > 0,05$).

En todos los parámetros, excepto MCV (volumen corpuscular medio) y RDW (amplitud de distribución eritrocitaria), hubo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$), aunque no clínicas. Tanto para MCV como RDW, p fue mayor a 0,05 y cada uno de los parámetros se ubicó dentro de lo especificado.

Conclusiones

Los recuentos de WBC (glóbulos blan-

cos), RBC (glóbulos rojos), PLT (plaquetas), HGB (hemoglobina) y HCT (hematocrito) fueron significativamente diferentes estadísticamente respecto a los obtenidos con una relación anticoagulante / sangre correcta. Sin embargo estas diferencias fueron mínimas (en torno al 3,5%) y sin relevancia clínica. No hubo diferencias significativas estadísticamente en los porcentajes de linfocitos, granulocitos y células medias, aunque en el caso de estas últimas la diferencia sí fue clínicamente relevante.

La relación anticoagulante / muestra no sólo afecta los parámetros relativos a las tres subpoblaciones, sino a los demás relacionados tanto con plaquetas como con glóbulos rojos.

La magnitud de la afectación es mayor cuanto más diferencia existe respecto a la relación apropiada.

Referencias

- Van Cott E, Lewandroski K, Patel S, Grzybek D, Patel H, Fletcher S, Kratz A. - *Laboratory Hematology* 9:10-14 (2003).
- Tyndall L, Innamoratto S. - *Lab Notes* 14:1-7 (2004).
- Bush V, Mangan L. - *Lab Notes* 1 (2003)
- O' Broin S, Kelleher B, O' Connor G, Mc Cann S. - *Clin. Lab. Haem.* 19: 159-160 (1997).
- Stott R, Hortin G, Wilhite T, Miller S, Smith C, Landt M. - *Clin Chem* 41/2: 306-311 (1995).