

Protein in urine and CSF

Pyrogallol red. Colorimetric

Quantitative determination of total urinary and CSF protein IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Protein react in acid solution with pyrogallol red and molybdate to form a colored complex.

The intensity of the color formed is proportional to the protein concentration in the sample^{1,2}.

CLINICAL SIGNIFICANCE

In healthy persons, the urine contains no protein or only a trace amount of protein; normally the glomeruli prevent passage of protein from the blood to the glomerular filtrate. Glomerular injury causes increased permeability to plasma proteins, resulting in proteinuria, which refers to the presence of protein in the urine.

A persistent finding of proteinuria is the single most important indication of renal disease.

Elevated concentration of protein in cerebro-spinal fluid (CSF) can be caused by infections and intracranial pressure^{1,5,6}.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R	Pyrogallol red	50 mmol/L
	Sodium molybdate	0.04 mmol/L
PROTEIN U & CSF CAL	Albumin/Globulin aqueous primary standard 1000 mg/L	

PREPARATION

The reagents are ready to use.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 598 nm \geq 0.30.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 598 nm.
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment.

SAMPLES

- Urine 24 h: Stability 8 days at 2-8°C.
- Cerebrospinal fluid (CSF): Stable 4 days at 2-8°C.

PROCEDURE

- Assay conditions:
Wavelength:598 nm
Cuvette: 1 cm light path
Temperature37°C / 15-25°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water.
- Pipette into a cuvette:

	Blank	Standard	Sample
R (mL)	1.0	1.0	1.0
Standard ^(Note 1-2) (µL)	--	20	--
Sample (µL)	--	--	20

- Mix and incubate for 5 min at 37°C or 10 min at room temperature (15-25°C).
- Read the absorbance (A) of the samples and Standard, against the Blank. The color is stable for at least 30 minutes.

CALCULATIONS

Urine 24 h

$$\frac{(A)_{\text{Sample}}}{(A)_{\text{Standard}}} \times 1000 (\text{Standard conc.}) \times \text{vol. (L) urine 24 h} = \text{mg protein/24 h}$$

CSF

$$\frac{(A)_{\text{Sample}}}{(A)_{\text{Standard}}} \times 1000 (\text{Standard conc.}) = \text{mg/L protein in the sample}$$

QUALITY CONTROL

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES⁵

Urine:	< 100 mg/24 h (< 150 mg/24 h in pregnancy)
Children	300 -1000 mg/L
Adults	150 - 450 mg/L

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: Up to linearity limit of 4000 mg/L.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

Accuracy: Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

Hemolysis^{1,2}.

A list of drugs and other interfering substances with protein determination has been reported by Young et al.^{3,4}.

NOTES

- PROTEIN U & CSF CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contaminated easily.
- Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
- Spinreact has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

BIBLIOGRAPHY

- Orsonneau JL et al. An improved Pyrogallol Red-Molybdate Method for Determining Total Urinary Protein. Clin Chem 1989 (35):2233-2236.
- Koller A. Total serum protein. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1316-1324 and 418.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PACKAGING

Ref: 1001024 R: 2 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL

Ref: 1001025 Cont. R: 2 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL

Proteínas en orina y LCR

Rojo pirogalol. Colorimétrico

Determinación cuantitativa de proteínas totales en orina y LCR IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Las proteínas presentes en la muestra reaccionan en medio ácido con el rojo pirogalol y el molibdato, formando un complejo coloreado.

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de proteínas en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La orina de personas sanas no contiene proteínas ó sólo pequeñas cantidades; normalmente el glomérulo evita el paso de estas de la sangre al filtrado glomerular.

Alteraciones glomerulares causan el aumento de la permeabilidad de las proteínas plasmáticas lo que ocasiona la proteinúria, que indica presencia de proteínas en orina.

La presencia persistente de proteinúria indica enfermedad renal. Concentraciones elevadas de proteínas en líquido cefalorraquídeo (LCR) pueden ser debidas a infecciones o a presión intracraneal elevada^{1,5,6}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R	Rojo pirogalol Molibdato sódico	50 mmol/L 0,04 mmol/L
PROTEIN U & CSF CAL	Patrón primario acuoso de Albúmina/Globulina 1000 mg/L	

PREPARACIÓN

Los reactivos están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 598 nm $\geq 0,30$.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ó analizador para lecturas a 598 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

- Orina de 24 h: Estable 8 días a 2-8°C.
- Líquido cefalorraquídeo (LCR): Estable 4 días a 2-8°C

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 598 nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en tubos de ensayo:

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón ^(Nota1-2) (µL)	--	20	--
Muestra (µL)	--	--	20

- Mezclar e incubar 5 min a 37°C ó 10 min a temperatura ambiente (15-25°C).

- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

CALCULOS

Orina 24 h

$$\frac{(A)Muestra}{(A)Patrón} \times 1000 \times \text{vol. (L) orina 24h} = \text{mg proteínas /24 h}$$

LCR

$$\frac{(A)Muestra}{(A)Patrón} \times 1000 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/L de proteínas}$$

CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA⁵

Orina: < 100 mg/24 h (en mujeres embarazadas < 150 mg/24 h)

LCR: Niños 300 -1000 mg/L

Adultos 150 - 450 mg/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL METODO

Rango de medida: Hasta el límite de linealidad de 4000 mg/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Exactitud: Los reactivos de SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Hemolisis^{1,2}. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de las proteínas^{3,4}.

NOTAS

- PROTEIN U & CSF CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFIA

- Orsonneau JL et al. An improved Pyrogallol Red-Molybdate Method for Determining Total Urinary Protein. Clin Chem 1989; 35:2233-2236.
- Koller A. Total serum protein. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1316-1324 and 418.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACION

Ref: 1001024 Cont. R: 2 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL

Ref: 1001025 Cont. R: 2 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL