

Proteínas totales en orina y LCR

Rojo pirogalol. Colorimétrico

Determinación cuantitativa de proteínas totales en orina y LCR

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 éstas 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 µmol/L 0,04 mmol/L |
| PROTEIN U & CSF CAL | Patrón primario acuoso de Albúmina/Globulina 1000 mg/L | |
| OPCIONAL: PROTEIN U & CSF CONTROL | Solución acuosa de Albúmina/Globulina. Ref: 1002451 | |

PREPARACIÓN

El reactivo y el patrón 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 ≥ 0,70.

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^(Nota 2).

| | Blanco | Patrón | Muestra |
|--------------------------------|--------|--------|---------|
| R (mL) | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| Patrón ^(Nota1) (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.

CÁLCULOS

Orina 24 h

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

LCR

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

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar el control para controlar el ensayo tanto en procedimiento manual como en automático. Debe usarse el control de Spinreact de Prot. Orina y LCR con Ref: 1002451.

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 MÉTODO

Rango de medida: desde el *límite de detección* de 9,44 mg/L hasta el *límite de linealidad* de 4000mg/L.

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

Precisión:

| Media (mg/L) | Intraserie (n= 20) | | | Interserie (n= 20) | | |
|--------------|--------------------|------|------|--------------------|------|-------|
| | 220 | 536 | 1014 | 216 | 499 | 1018 |
| SD | 3,7 | 4,0 | 5,2 | 18,3 | 26,1 | 166,1 |
| CV (%) | 2,28 | 0,75 | 0,51 | 7,35 | 5,22 | 16,43 |

Sensibilidad analítica: 1mg/L = 0,00026 (A).

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

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r)²: 0,9338

Ecuación de la recta de regresión: y = 0,4294x - 5,4159

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Hemólisis^{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.**

BIBLIOGRAFÍA

- 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.

PRESENTACIÓN

Ref: 1001024

Cont.

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

Ref: 1001025

R: 2 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL

Protéines totales dans l'urine et dans le LCR

Rouge pyrogallol. Colorimétrieque

Détermination quantitative de protéines totales dans l'urine et dans le LCR IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

Les protéines présentes dans l'échantillon réagissent e milieu acide avec le rouge pyrogallol et le molybdate, en formant un complexe coloré.

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de protéines dans l'échantillon testé^{1, 2}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'urine des personnes sains ne contient pas de protéines, ou en contient en petites quantités; normalement, le glomérule évite le passage de ces protéines du sang au filtre glomérulaire.

Les altérations glomérulaires provoquent l'augmentation de la perméabilité des protéines plasmatiques, ce qui entraîne la protéinurie, qui indique la présence de protéines dans l'urine.

La présence importante de protéines indique une maladie rénale.

Des concentrations élevées de protéines dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) peuvent être dues à des infections ou à une pression intracrânienne élevée^{1, 5, 6}.

Le diagnostic clinique doit prendre en compte les données de laboratoire et les données cliniques.

REACTIFS

| | | |
|-------------------------------------|--|--------------------------|
| R | Rouge pyrogallol Molybdate de sodium | 50 µmol/L 0,04 mmol/L |
| PROTÉINE U & CSF CAL | Patron primaire de détection d'albumine/globuline | 1000 mg/L |
| OPTIONNEL: PROTÉINE U & CSF CONTROL | Solution aqueuse d'albumine/globuline. Réf: 1002451 | |

PREPARATION

Le réactif et l'étalon sont prêts à l'emploi.

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption (A) du blanc à 598 nm ≥ 0,70.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 598 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

- Urine de 24 h: Stable 8 jours à 2-8°C.
- Liquide céphalo-rachidien (LCR): Stable 4 jours à 2-8°C

PROCEDURE

- Conditions de test:
Longueur d'ondes: 598 nm
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température: 37°C /15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipetter dans des tubes à essai (Remarque 2):

| | Blanc | Étalon | Echantillon |
|--------------------------|-------|--------|-------------|
| R (mL) | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| Étalon (Remarque 1) (µL) | -- | 20 | -- |
| Echantillon (µL) | -- | -- | 20 |

- Mélanger et incuber 5 min à 37°C ou 10 min à température ambiante (15-25°C).
- Lire l'absorption (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes.

CALCULS

Urine 24 h

$$\frac{(A) \text{ Échantillon} - (A) \text{ Blanc}}{(A) \text{ Étalon} - (A) \text{ Blanc}} \times 1000 \times \text{vol. (L) urine 24h} = \text{mg protéines /24 h}$$

LCR

$$\frac{(A) \text{ Échantillon} - (A) \text{ Blanc}}{(A) \text{ Étalon} - (A) \text{ Blanc}} \times 1000 (\text{Étalon conc.}) = \text{mg/L de protéines}$$

CONTROLE DE QUALITE

Il est recommandé d'utiliser le contrôle pour contrôler le dosage dans les procédures manuelles et automatiques. Le contrôle Spinreact de l'urine et du LCR doit être utilisé avec la réf: 1002451.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE⁵

Urine: < 100 mg/24 h (chez les femmes enceintes < 150 mg/24 h)

LCR: Enfants 300 -1000 mg/L

Adultes 150 - 450 mg/L

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de 9,44 mg/L jusqu'au la limite de linéarité de 4000 mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du NaCl 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision:

| Moyenne (U/L) | Intra-série (n= 20) | | | Inter-série (n= 20) | | |
|---------------|---------------------|------|------|---------------------|------|-------|
| | 220 | 536 | 1014 | 216 | 499 | 1018 |
| SD | 3,7 | 4,0 | 5,2 | 18,3 | 26,1 | 166,1 |
| CV (%) | 2,28 | 0,75 | 0,51 | 7,35 | 5,22 | 16,43 |

Sensibilité : 1 mg/L = 0,00026 (A).

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r)²: 0,9338.

Equation de la Coubre de régression: y= 0,4294x - 5,4159.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Hémolyse^{1, 2}. Différentes drogues ont été décrites, ainsi que d'autres substances pouvant interférer dans la détermination des protéines^{3, 4}.

REMARQUES

- PROTEIN U & CSF CAL: Etant donné la nature du produit, il est conseillé de le manipuler avec une extrême prudence. En effet, il peut être facilement contaminé.
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.**

BIBLIOGRAPHIE

- 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. Prinston 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.

PRESENTATION

Réf: 1001024



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

Réf: 1001025

R: 2 x 150 mL. CAL: 1 x 5 mL

Proteínas totais na urina e LCR

Vermelho de pirogalol. Colorimétrico

Determinação quantitativa de proteínas totais na urina e LCR

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DO MÉTODO

As proteínas presentes na amostra reagem em meio ácido com o vermelho de pirogalol e o molibdato, formando um complexo com coloração.

A intensidade da coloração formada é proporcional à concentração de proteínas na amostra ensaiada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A Urina de pessoas sãs não contém proteínas ou contém apenas pequenas quantidades; normalmente o glomérulo evita a passagem destas do sangue para o filtrado glomerular. Alterações glomerulares causam o aumento da permeabilidade das proteínas plasmáticas o que ocasiona a proteinúria, que indica presença de proteínas na urina.

A presença persistente de proteinúria indica doença renal. Concentrações elevadas de proteínas no líquido cefalorraquidiano (LCR) podem ser devidas a infecções ou a pressão intracraniana elevada^{1,5,6}.

O diagnóstico clínico deve realizar-se tendo em conta todos os dados clínicos e de laboratório.

REAGENTES

| | | |
|---|---|--------------------------|
| R | Vermelho de pirogalol Molibdato de sódio | 50 µmol/L 0,04 mmol/L |
| PROTEÍNA U & CSF CAL | Padrão primário aquoso de Albumina/Globulina | 1000 mg/L |
| OPCIONAL: PROTEÍNA U & CSF CONTROL | Solução aquosa de albumina/globulina. Ref: 1002451 | |

PREPARAÇÃO

O reagente eo padrão estão prontos para utilização.

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis, até à data de validade indicada na etiqueta, quando mantidos os frascos bem fechados a 2-8°C, protegidos da luz, e evitando a sua contaminação. Não utilizar reagentes fora do prazo de validade.

Indicadores de deterioração dos reagentes:

- Presença de partículas e turvação.
- Absorvância (A) do Branco a 598 nm $\geq 0,70$.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ou analisador para leituras a 598 nm.
- Cuvetes de 1,0 cm de passo de luz.
- Equipamento habitual de laboratório.

AMOSTRAS

- Urina de 24 h: Estável 8 dias a 2-8°C.
- Líquido cefalorraquidiano (LCR): Estável 4 dias a 2-8°C

PROCEDIMENTO

- Condições do ensaio:
Comprimento de onda: 598 nm
Cuvete: 1 cm passo de luz
Temperatura: 37°C / 15-25°C
- Ajustar o espectrofotómetro a zero frente a água destilada.
- Pipetar em tubos de ensaio^(Nota 2):

| | Branco | Padrão | Amostra |
|--------------------------------|--------|--------|---------|
| R (mL) | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| Padrão ^(Nota1) (µL) | -- | 20 | -- |
| Amostra (µL) | -- | -- | 20 |

- Agitar e incubar 5 min a 37°C ou 10 min a temperatura ambiente (15-25°C).
- Ler a absorvância (A) do Padrão e da amostra, frente ao branco de reagente. A cor é estável por 30 minutos.

CALCULOS

Urina 24

$$\frac{(A) \text{ Amostra} - (A) \text{ Branco}}{(A) \text{ Padrão} - (A) \text{ Branco}} \times 1000 \times \text{vol. (L) Urina 24h} = \text{mg proteínas /24 h}$$

LCR

$$\frac{(A) \text{ Amostra} - (A) \text{ Branco}}{(A) \text{ Padrão} - (A) \text{ Branco}} \times 1000 (\text{Conc. Padrão}) = \text{mg/L de proteínas}$$

CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-se usar o controlo para controlar o ensaio nos procedimentos manuais e automáticos. O controlo Spinreact da urina e do LCR deve ser usado com Ref: 1002451.

Cada laboratório deve dispor do seu próprio controlo de qualidade e estabelecer correções caso os controlos não cumpram com as tolerâncias.

VALORES DE REFERENCIA⁵

Urina: < 100 mg/24 h (em mulheres grávidas < 150 mg/24 h)

Crianças 300 -1000 mg/L

Adultos 150 - 450 mg/L

Estes valores são orientativos. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CARACTERÍSTICAS DE METODO

Intervalo de medida: A partir do limite de deteção de 9,44 mg/L até ao limite de linearidade de 4000mg/L.

Se a concentração da amostra é superior ao limite de linearidade, diluir 1/2 com NaCl 9 g/L e multiplicar o resultado final por 2.

Precisão:

| Media (U/L) | Intra-ensaios (n= 20) | | | Inter-ensaios (n= 20) | | |
|-------------|-----------------------|------|------|-----------------------|------|-------|
| | 220 | 536 | 1014 | 216 | 499 | 1018 |
| SD | 3,7 | 4,0 | 5,2 | 18,3 | 26,1 | 166,1 |
| CV (%) | 2,28 | 0,75 | 0,51 | 7,35 | 5,22 | 16,43 |

Sensibilidade analítica: 1 mg/L = 0,00026 (A).

Exatidão: Os reagentes de SPINREACT (y) não apresentam diferenças sistemáticas significativas quando se comparam com outros reagentes comerciais (x).

Os resultados obtidos com 50 amostras foram os seguintes:

Coefficiente de regressão (r)²: 0,9338.

Equação da reta de regressão: y = 0,4294x – 5,4159.

As características do método podem variar segundo o analisador utilizado.

INTERFERÊNCIAS

Hemólises^{1,2}. Estão descritas várias drogas e outras substâncias que interferem na determinação das proteínas^{3,4}.

NOTAS

- PROTEIN U & CSF CAL: Devido a natureza do produto, aconselha-se manejá-lo com muito cuidado uma vez que se pode contaminar com muita facilidade.
- Usar pontas de pipeta descartáveis limpas para a sua dispensação.
- SPINREACT dispõe de instruções detalhadas para a aplicação deste reagente em diferentes analisadores.

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.

APRESENTAÇÃO

Ref: 1001024

Cont.

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

Ref: 1001025

R: 2 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL