

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