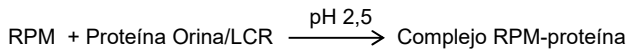


PROTEIN (URINE AND CSF) 

<p>REF 1162005 2 x 50 mL</p> <p>CONTENIDO R1. Reactivo 2 x 50 mL CAL. Patrón 1 x 3 mL</p> <p>Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i></p>	<p>PROTEINAS ORINA Y LCR <i>Método colorimétrico</i> PUNTO FINAL</p>
--	---

FUNDAMENTO


El método¹ mide el desplazamiento del pico máximo de absorción de 460 a 600 nm del complejo formado a pH ácido entre el rojo pirogalol-molibdato (RPM) y los grupos amino básicos de las proteínas de la orina y del líquido cefalorraquídeo (LCR). La intensidad del complejo coloreado formado es proporcional a la concentración de proteína en la muestra.



COMPOSICION DE LOS REACTIVOS

- R1** Reactivo pirogalol. Tampón succinato 60 mmol/L pH 2,5, rojo pirogalol 0,06 mmol/L, molibdato sódico 0,04 mmol/L, SDS 0,08 mmol/L. **X_n. R20/22 S:24/25.**
- CAL** Patrón de Proteínas. Albúmina/Globulina 200 mg/dL (2 g/L). Mezcla tamponada (80/20) en una matriz artificial. Biocidas. El valor de concentración es trazable al Material de Referencia Certificado 927.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

 Conservar **R1** a 15-30°C, y **CAL** a 2-8°C una vez abierto. Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Mantener los frascos cerrados, protegidos de la luz y evitar la contaminación durante su uso. **Descartar si se observan signos de deterioro:**

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia del Blanco (A) a 600 nm > 0,200 en cubeta de 1 cm.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

El Reactivo y el Patrón están listos para su uso.

MUESTRAS

Orina recogida sin conservantes y LCR (ver Notas). Las muestras turbias deberán centrifugarse antes del ensayo. Las proteínas en orina son estables unos 8 días a 2-8°C y hasta 3 meses a -20°C. Las proteínas en LCR son estables unos 3 días a 2-8°C y hasta 3 meses a -20°C.

INTERFERENCIAS

- Bilirrubina (< 5 mg/dL) no interfiere.
- Hemoglobina interfiere.
- Otros medicamentos y sustancias pueden interferir³.
- Las interferencias positivas en orinas de pacientes tratados con aminoglucósidos, gentamicina o tobromicina ensayadas con otros métodos de pirogalol han mostrado no tener ninguna influencia con esta formulación específica.²
- Los LCR contaminados por hematíes ocasionados por una punción lumbar traumática o por una hemorragia intracerebral aumentan la concentración de proteína en unos 10 mg/L por cada 1000 eritrocitos.⁵

EQUIPO ADICIONAL

- Fotómetro o colorímetro para mediciones a 600 ± 20 nm.
- Unidad termostatazada ajustable a 37°C.
- Pipetas de volumen variable para reactivos y muestras.

TECNICA

1. Equilibrar reactivos y muestras a temperatura ambiente.
2. Pipetear en tubos rotulados:

TUBOS	Blanco	Muestra	CAL.Patrón
R1. Reactivo	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Muestra	-	20 µL	-
CAL.Patrón	-	-	20 µL

3. Mezclar e incubar los tubos 5 minutos a 37°C ó 10 minutos a temperatura ambiente.
4. Leer la absorbancia (A) de la muestra y el patrón a 600 nm frente al blanco de reactivo.

El color es estable 30 minutos protegido de la luz.

CALCULOS

Orina (muestras 24-h)

$$\frac{A \text{ Muestra}}{A \text{ Patrón}} \times V \times 2000 = \text{mg/24-h proteínas}$$

V = Litros orina/ 24-h
2000 = mg/L patrón

Orina (muestras simples), LCR

$$\frac{A \text{ Muestra}}{A \text{ Patrón}} \times C \text{ Patrón} = \text{mg/dL proteínas (ver Notas)}$$

Muestras con concentraciones de proteínas superiores a 400 mg/dL deben diluirse 1:2 con solución salina y repetir el ensayo. Multiplicar el resultado por 2.



VALORES DE REFERENCIA⁴

Orina

Adultos	Muestras 24-h : < 150 mg/ 24-h Muestras simples: < 25 mg/dL
---------	--

LCR

Adultos	< 45 mg/dL
Niños	< 100 mg/dL

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

El empleo de un calibrador para calcular los resultados permite obtener una exactitud independiente del sistema o instrumento empleado.

Para un control de calidad adecuado, se incluirán en cada serie controles de orina valorados (normales y elevados) que se tratarán como muestras problema.

Si los resultados obtenidos se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y la técnica usada.

Cada laboratorio debe establecer su propio Control de Calidad y sus medidas correctoras cuando los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

SIGNIFICADO CLINICO

La medición de proteínas totales en orina está siendo reemplazada por la determinación de albúmina al ser la proteína urinaria predominante y haberse demostrado su mayor sensibilidad y especificidad para los cambios de permeabilidad glomerular.

La presencia de un aumento en la excreción de albúmina urinaria es un indicio de aumento en la tasa de filtración transcápilar siendo esta por lo general un marcador de la enfermedad microvascular, si bien puede también verse alterada por factores fisiológicos (ejercicio, diuresis o posturales) como consecuencia de la dinámica intrarenal alterada.

El proceso reabsortivo tubular es saturable y cualquier aumento en la permeabilidad capilar o en la concentración plasmática (p.e., proteína de Bence-Jones) o, descenso en la capacidad reabsortiva como resultado de una lesión tubular proximal (p.e., por drogas nefrotóxicas) puede traducirse en proteinuria.

La excreción persistente de albúmina urinaria precede y es altamente predictiva de nefropatía diabética, enfermedad renal terminal, y retinopatía proliferativa en la diabetes de tipo I.⁵

La medición de proteínas en LCR se emplea para diferenciar la meningitis séptica de la aséptica. Concentraciones superiores a 1 g/L se consideran con frecuencia diagnósticas de la meningitis bacteriana, fúngica o tuberculosa.⁶

NOTAS

- Muestras comunmente empleadas : recogida de 24-h; nocturna (8÷12-h); clínica o laboratorio (1÷2-h), y primera muestra matinal. Debido a la alta variación diurna e intraindividual conviene ensayar tres muestras distintas.
- Para aumentar la sensibilidad en el rango normal analizar 50 µL de muestra y diluir el patrón 1:4 (1+3) en solución salina, empleando la nueva concentración de 50 mg/dL para los cálculos.
- Este ensayo permite ser adaptado a distintos instrumentos automáticos. Cualquier adaptación a un instrumento deberá ser validada con el fin de demostrar que se cumplen las características analíticas del método. Se recomienda validar periódicamente el instrumento. Consultar con su distribuidor para cualquier dificultad en la adaptación del método.

- El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

CARACTERISTICAS ANALITICAS

- **Límite detección** : 8 mg/dL

- **Linealidad** : Hasta 400 mg/dL

- **Precisión** :

mg/dL	Intraserial		Interserial	
Media	73	279	73	279
DE	1,0	2,0	2,0	5,0
CV%	1,35	0,67	3,09	1,84
N	10	10	10	10

- **Sensibilidad** : 2,3 mA / mg/dL proteínas.

- **Correlación**. Este ensayo (y) fue comparado con un método comercial similar (x). Los resultados fueron los siguientes:

$$N = 50 \quad r = 0,99 \quad y = 0,95x - 0,01$$

Las características analíticas han sido generadas usando un instrumento automático. Los resultados pueden variar según el instrumento utilizado.

REFERENCIAS

1. Orsonneau, J.L., Dovet, P., Massoubre, C., Lustenberger, P., y Bernard, S. Clin. Chem. 35: 2233 (1989).
2. Koerbin, G., Taylor, L., Dutton, J., Marshall, K, Low, P., y Potter, J.M. Clin. Chem. 47: 2183 (2001).
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
4. Tietz. N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1995).
5. Greenlee, S.E. Infect. Dis. Clin. North Am. 4: 583 (1990).
6. Viberti, G.C., Hill, R.D., y Jarret, R.J. Lancet, I : 1430 (1982). Bonadio, W.A. Pediatr. Infect. Dis. J. 11: 423 (1992).

