MONLAB

MonlabTest®

Proteínas Totales en Orina y LCR MonlabTest®

CE IVD

Rojo pirogalol. Colorimétrico.

Determinación cuantitativa de proteínas totales en orina y LCR

Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*. Conservar a 2-8ºC

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 o solo 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 proteinuria, que indica presencia de proteínas en orina.
La presencia persistente de proteinuria 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
PROT. U & CSF CAL	Patrón primario acuoso de Albúmina/Globulina 1000 mg/L	
OPCIONAL: PROTEIN U & CSF CONTROL	Solución acuosa de Albúmina/Globulina. (MO-165416)	

PRECAUCIONES

R: H371.Puede provocar daños en los órganos. Contiene: Metanol (CH_3OH.)
CAL: H412-Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.
Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

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 2-8ºC, 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 o 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 2-8ºC.
- Líquido cefalorraquídeo (LCR): Estable 4 días a 2-8ºC

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:
   Longitud de onda: .....598 nm
   Cubeta: .....1 cm paso de luz
   Temperatura .....37ºC / 15-25ºC
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
3. 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

4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37ºC o 10 minutos a temperatura ambiente (15-25ºC).
5. 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 PROTEÍNAS EN ORINA Y LCR MonlabTest (MO-165416).
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 REFERENCIA[5]

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:

	Intraserie (n= 20)			Interserie (n= 20)		
Media (mg/L)	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 MonlabTest (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).
Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:
Coeficiente 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

Hemolisis[1,2]. Se han descrito varias drogas y otras substancias que interfieren en la determinación de las proteinas[3,4].

NOTAS

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

BIBLIOGRAFÍA

1. Orsonneau JL et al. An improved Pyrogallol Red-Molybdate Method for Determining Total Urinary Protein. Clin Chem 1989; 35:2233-2236.
2. 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.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

MO-165105	R: 2 x 50 mL CAL: 1 x 5 mL

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS IVD

	Fabricante	IVD	Uso de diagnóstico *in vitro*
	No reutilizar		Consultar las instrucciones de uso
Σ n	Contiene suficiente para <n> test		Manténgase fuera de la luz del sol
REF	Código		Límite de temperatura
LOT	Número de lote		Fecha de caducidad

MONLAB, SL Cobalto, 74 08940 Cornellà de Llobregat (Spain) Tel. +34 93 433 58 60 Fax +34 93 436 38 94 mn.pedidos@monlab.es www.monlab.es

MONLAB

MonlabTest®

Total Proteins in Urine and CSF MonlabTest®

CE

IVD

Pyrogallol red. Colorimetric.

Quantitative determination of total urinary and CSF protein

Only for professional *in vitro* diagnostic use. 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 cause 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 Sodium molybdate	50 µmol/L 0,04 mmol/L
PROTEIN U & CSF CAL	Albumin/Globulin aqueous primary standard	1000 mg/L
OPTIONAL: PROTEIN U & CSF CONTROL	Aqueous Albumin / Globulin solution. (MO-165416)	

PRECAUTIONS

R: H371.May cause damage to organs. Contains: Methanol (CH_3OH).
CAL: H412-Harmful to aquatic life with long lasting effects.
Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.

PREPARATION

Reagent and standard provided 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 2-8ºC 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 ≥ 0,70.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Matched cuvettes 1,0 cm light path.
- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 598 nm.
- General laboratory equipment.

SAMPLES

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

PROCEDURE

1. Assay conditions:
   Wavelength: .....598 nm
   Cuvette: .....1 cm light path
   Temperature: ..... 37ºC / 15-25ºC
2. Adjust the instrument to zero with distilled water.
3. Pipette into a cuvette (Note 2):

	Blank	Standard	Sample
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Standard (Note 1) (µL)	--	20	--
Sample (µL)	--	--	20

4. Mix and incubate for 5 minutes at 37ºC or 10 minutes at room temperature (15-25ºC).
5. 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

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

CSF

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

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the control to control the assay in both manual and automatic procedures. The Urine and CSF Protein Control MonlabTest must be used (MO-165416).
Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES[5]

Urine: < 100 mg/24 h (< 150 mg/24 h in pregnancy)

CSF:
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: From detection limit 9,44 mg/L to linearity limit of 4000 mg/L.
If the concentration is greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.
Precision:

	Intra-assay (n= 20)		
Media (mg/L)	220	536	1014
SD	3,7	4,0	5,2
CV (%)	2,28	0,75	0,51

Inter-assay (n= 20)		
216	499	1018
18,3	26,1	166,1
7,35	5,22	16,43

Sensitivity: 1mg/L = 0,00026 (A).
Accuracy: Results obtained using MonlabTest reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).
The results obtained using 50 samples were the following:
Correlation coefficient $(r)^2$: 0,9338
Regression equation: y = 0,4294x – 5,4159
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[3,4].

NOTES

1. PROTEIN U & CSF CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contaminated easily.
2. Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
3. MONLAB has instruction sheets for several automatic analyzers.

BIBLIOGRAPHY

1. Orsonneau JL et al. An improved Pyrogallol Red-Molybdate Method for Determining Total Urinary Protein. Clin Chem 1989 (35):2233-2236.
2. 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.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PACKAGING

MO-165105	R: 2 x 50 mL CAL: 1 x 5 mL

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS

	Manufacturer	IVD	For *in vitro* diagnostic use only
	Don't re-use		Consult instructions for use
Σ n	Contains sufficient for <n> tests		Keep out of the sunlight
REF	Catalogue Code		Temperature limitation
LOT	Lot Number		Use by

MONLAB, SL Cobalto, 74 08940 Cornellà de Llobregat (Spain) Tel. + 34 93 433 58 60 Fax +34 93 436 38 94 mn.pedidos@monlab.es www.monlab.es