



## SIGNIFICACION CLINICA

### Proteínas en orina

Una cantidad de proteínas plasmáticas de pequeño peso molecular son filtradas normalmente en forma libre a través del glomérulo renal y luego son, en parte, reabsorbidas por los túbulos renales.

Hay condiciones fisiológicas o benignas donde se puede observar un aumento en la excreción urinaria de proteínas como en el ejercicio violento, fiebre, hipotermia, embarazo. La medición de las proteínas urinarias es importante en la detección de patología renal. La proteinuria en la enfermedad renal puede resultar de una disfunción glomerular o tubular. En el primer caso se da por un aumento en el pasaje a través de los capilares del glomérulo y caracterizada por la pérdida de proteínas plasmáticas de igual o mayor tamaño. En el segundo caso se da por una disminución en la capacidad de reabsorción de proteínas por los túbulos.

Entre las patologías en las que se produce un aumento en la excreción de proteínas urinarias se encuentran: síndrome nefrítico, síndrome nefrótico, hipergammaglobulinemia monoclonal, nefropatía diabética, infecciones del tracto urinario.

### Proteínas en líquido cefalorraquídeo (LCR)

La determinación de proteínas en LCR es útil para evaluar la permeabilidad de la barrera hematoencefálica en muchas enfermedades inflamatorias o infecciosas del SNC, como ocurre en las meningitis bacterianas, virales o de otros orígenes, encefalitis, poliomielititis, neurosífilis, esclerosis múltiple, hemorragia cerebral, tumores cerebrales o espinales. Otros desórdenes ocasionan una producción anormal de proteínas dentro del SNC como las enfermedades desmielinizantes. La sensibilidad del presente método lo hace apropiado para ser usado en líquidos biológicos tales como orina y líquido cefalorraquídeo donde la concentración de proteínas con respecto a la del plasma es demasiado baja como para determinarla por métodos empleados habitualmente para suero.

## FUNDAMENTOS DEL METODO

Las proteínas presentes en la muestra reaccionan en medio ácido con el complejo Rojo de Pirogalol-Molibdato originando un nuevo complejo coloreado que se cuantifica espectrofotométricamente a 600 nm.

## REACTIVOS PROVISTOS

**A. Reactivo A:** solución estabilizada de Rojo de Pirogalol 0,1 mmol/l, molibdato de sodio 0,1 mmol/l en buffer succinato 50 mmol/l.

**S. Standard:** solución de albúmina 100 mg/dl (1,0 g/l).

## REACTIVOS NO PROVISTOS

- Agua destilada.
- Solución fisiológica.

## INSTRUCCIONES PARA SU USO

**Reactivos Provistos:** listos para usar.

## PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro". Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos. Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

## ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

**Reactivos Provistos:** son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. El Reactivo A debe protegerse de la luz.

## INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua destilada, lecturas de absorbancia a 600 nm del Reactivo A superiores a 0,250 D.O. o inferiores a 0,030 D.O. son indicio de deterioro del mismo.

## MUESTRA

Orina o líquido cefalorraquídeo

**a) Recolección:** obtener orina ocasional o de 24 horas. Medir la diuresis.

En caso de que las muestras sean turbias, es conveniente centrifugarlas.

**b) Aditivos:** no se requieren.

**c) Sustancias interferentes conocidas:**

- la hemólisis puede ser causa de resultados falsamente aumentados tanto en orina como en LCR;
- los conservantes para orina tales como ácido clorhídrico, ácido benzoico o timol pueden ser causas de resultados falsamente disminuidos;
- algunas drogas o medicamentos pueden interferir en la reacción. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** la orina puede conservarse refrigerada (2-10°C) hasta 8 días o congelada (-20°C) hasta 3 meses. El LCR puede conservarse 3 días refrigerado (2-10°C) o 3 meses congelado (-20°C).

## MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro para lecturas a 600 nm (580-620 nm).
- Baño de agua a 37°C.
- Pipetas y micropipetas para medir los volúmenes indicados.

### PROCEDIMIENTO

Llevar a temperatura ambiente los reactivos y las muestras antes de iniciar el ensayo. En tres tubos o cubetas espectrofotométricas marcados B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), colocar:

	B	S	D
<b>Standard</b>	-	20 ul	-
<b>Muestra</b>	-	-	20 ul
<b>Reactivo A</b>	1 ml	1 ml	1 ml

Mezclar e incubar los tubos durante 10 minutos a 37°C. Leer en fotocolorímetro entre 580-620 nm o en espectrofotómetro a 600 nm, llevando a cero el aparato con el Blanco.

## ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de la reacción es estable durante 30 minutos por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de ese lapso.

## CALCULO DE LOS RESULTADOS

### 1) Proteínas en orina de 24 horas

$$\text{mg de proteínas /24 horas} = \frac{D}{S} \times V \times 1000$$

siendo:

V = volumen de la diuresis expresado en litros /24 horas  
1000 = mg/l del Standard

### 2) Proteínas en orina ocasional

$$\text{mg/dl proteínas} = \frac{D}{S} \times 100$$

### 3) Proteínas en líquido cefalorraquídeo

$$\text{mg/dl proteínas} = \frac{D}{S} \times 100$$

## METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**ProtIU/LCR Control 2 niveles**) con concentraciones conocidas de proteínas, con cada determinación.

## VALORES DE REFERENCIA

Orina de 24 horas: 30-140 mg/24 horas (hasta 160 mg/24 horas en embarazadas)

Orina ocasional: 25 mg/dl

LCR: 15-45 mg/dl en personas sanas. En personas de más de 60 años, este rango se extiende hasta 60 mg/dl.

Estos valores son orientativos. Es conveniente que cada laboratorio establezca sus propios rangos, dado que pueden variar de acuerdo a la población de pacientes y a las condiciones del laboratorio.

## CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

$$\text{Proteínas (mg/dl)} \times 10 = \text{Proteínas (mg/l)}$$

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Proteger el Reactivo A de la luz.

El material empleado debe estar libre de tensoactivos, caso contrario se obtendrán valores discordantes.

## PERFORMANCE

**a) Reproducibilidad:** procesando replicados de las mismas muestras en un mismo día se obtuvo:

Nivel	D.S.	C.V.
14 mg/dl	± 0,66 mg/dl	4,7 %
100 mg/dl	± 2,30 mg/dl	2,3 %

**b) Sensibilidad:** en espectrofotómetro a 600 nm, un Standard de 100 mg/dl proporciona una lectura de aproximadamente 0,200 D.O., lo que significa que para 0,001 D.O. el mínimo cambio de actividad detectable será de 0,5 mg/dl.

**c) Linealidad:** la reacción es lineal hasta 150 mg/dl de proteínas. Para valores superiores, diluir la muestra 1:2 ó 1:4 con solución fisiológica y repetir la determinación. Corregir los cálculos multiplicando por el factor de dilución empleado. Si se desea aumentar la sensibilidad analítica en muestras normales o levemente aumentadas, pueden emplearse 50 ul de muestra. En este caso, es preferible diluir el Standard 1:2 (1+1) con agua destilada, y usar este standard de 50 mg/dl en la prueba, de tal manera de ajustar la calibración a los valores normales bajos.

## PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

## PRESENTACION

- 1 x 100 ml (Cód. 1690007).
- 4 x 20 ml (Cód. 1009317).
- 4 x 20 ml (Cód. 1009282).
- 2 x 60 ml (Cód. 1009631).
- 2 x 55 ml (Cód. 1008161).

## BIBLIOGRAFIA

- Watanabe, N.; et al. - Clin. Chem. 32:1551, 1986.
- Fujita, Y.; Mori, I.; Kitano, S. - Benseki Kagaku 32:379, 1983.
- Watson, M.; Scott, M. - Clin Chem. 41/3:343, 1995.
- Killingsworth, L. - Clin. Chem. 28/5:1093, 1982.
- Orsonneau, J.; Douet, P.; Massoubre, C.; Lustenberger, P.; Bernard, S. - Clin. Chem. 35/11:2233, 1989.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.



# Proti U/LCR

Método colorimétrico quantitativo para a determinação de proteínas na urina e no líquido cefalorraquidiano

## SIGNIFICADO CLÍNICO

### Proteínas na urina

Uma quantidade de proteínas plasmáticas de baixo peso molecular são filtradas normalmente na forma livre através do glomérulo renal e logo após são rapidamente reabsorvidas, em parte, pelos túbulos renais.

Existem condições fisiológicas ou benignas onde pode-se observar um aumento na excreção urinária de proteínas, como: no exercício violento, febre, hipotermia, gravidez.

A determinação das proteínas urinárias é importante na detecção das patologias renais. A proteinúria na doença renal pode resultar de uma disfunção glomerular ou tubular. No primeiro caso, é causada por um aumento na passagem através dos capilares do glomérulo e caracterizada pela perda das proteínas plasmáticas de mesmo tamanho ou maior. No segundo caso, é causada por uma diminuição na capacidade de reabsorção de proteínas pelos túbulos. Entre as patologias onde é produzido um aumento de excreção de proteínas urinárias, podem ser citadas: síndrome nefrótica, síndrome nefrítico, hipergammaglobulinemia monoclonal, nefropatia diabética, infecções do trato urinário.

### Proteínas no líquido cefalorraquidiano (LCR)

A determinação de proteínas no LCR é útil para avaliar a permeabilidade da barreira hematoencefálica em muitas doenças inflamatórias ou infecciosas do SNC, como ocorre nas meningites bacteriana, virais ou de outras origens, encefalite, poliomielite, neurosífilis, esclerose múltipla, hemorragia cerebral, tumores cerebrais ou espinhais. Outras desordens ocasionam uma produção anormal de proteínas dentro do SNC, como nas doenças desmielinizantes.

A sensibilidade deste método torna-o apropriado para ser utilizado em líquidos biológicos tais como urina ou líquido cefalorraquidiano, onde a concentração de proteínas em referência à do plasma é demasiado baixa, bem como para determiná-las por métodos empregados habitualmente para soro.

## FUNDAMENTOS DO MÉTODO

As proteínas presentes na amostra reagem em meio ácido com o complexo Vermelho de Pirogalol-Molibdato, originando um novo complexo colorido que pode ser quantificado espectrofotometricamente a 600 nm.

## REAGENTES FORNECIDOS

**A. Reagente A:** solução estabilizada de vermelho de pirogalol 0,1 mmol/l, molibdato de sódio 0,1 mmol/l em tampão succinato 50 mmol/l.

**S. Padrão:** solução de albumina 100 mg/dl (1,0 g/l).

## REAGENTES NÃO FORNECIDOS

- Água destilada.
- Solução fisiológica.

## INSTRUÇÕES PARA USO

**Reagentes Fornecidos:** prontos para uso.

## PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

## ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

**Reagentes Fornecidos:** são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem.

O Reagente A deve ser protegido da luz.

## INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

Se o espectrofotômetro estiver zerado com água destilada, leituras de absorbância (600 nm) do Reagente A superiores a 0,250 D.O. ou inferiores a 0,030 D.O. são indícios de deterioração do mesmo.

## AMOSTRA

Urina ou líquido cefalorraquidiano

**a) Coleta:** obter urina ocasional ou de 24 horas. Medir a diurese.

Caso as amostras estejam turvas, é conveniente centrifugá-las.

**b) Aditivos:** não são necessários.

**c) Substâncias interferentes conhecidas:**

- a hemólise pode ser causa de resultados falsamente aumentados, tanto na urina quanto para o LCR;
- os conservantes para urina, como ácido clorídrico, ácido benzóico ou timol podem ser causa de resultados falsamente diminuídos;
- algumas drogas ou medicamentos podem interferir na reação. Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

**d) Estabilidade e instruções de armazenamento:** a urina pode ser conservada sob refrigeração (2-10°C) por até 8 dias ou congelada (-20°C) por até 3 meses.

O LCR pode ser conservado por 3 dias sob refrigeração (2-10°C) ou 3 meses congelado (-20°C).

## MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro para leituras a 600 nm (580-620 nm).
- Banho-maria a 37°C.
- Pipetas e micropipetas para medir os volumes indicados.

### PROCEDIMENTO

Levar os reagentes e amostras a temperatura ambiente antes de iniciar o ensaio. Em três tubos ou cubetas espectrofotométricas marcados B (Branco), P (Padrão) e D (Desconhecido), colocar:

	B	P	D
<b>Padrão</b>	-	20 ul	-
<b>Amostra</b>	-	-	20 ul
<b>Reagente A</b>	1 ml	1 ml	1 ml

Misturar e incubar os tubos durante 10 minutos a 37°C. Ler, em fotocolorímetro entre 580-620 nm ou em espectrofotômetro a 600 nm, levando o aparelho a zero com o Branco.

### ESTABILIDADE DA MISTURA DE REAÇÃO FINAL

A cor da reação é estável durante 30 minutos, portanto a absorbância deve ser lida durante este tempo.

### CÁLCULO DOS RESULTADOS

#### 1) Proteínas na urina de 24 horas

$$\text{mg de proteínas/24 horas} = \frac{D}{P} \times V \times 1000$$

sendo:

V = volume da diurese expresso em litros/24 horas

1000 = mg/l do Padrão

#### 2) Proteínas na urina ocasional

$$\text{mg/dl proteínas} = \frac{D}{P} \times 100$$

#### 3) Proteínas no líquido cefalorraquidiano

$$\text{mg/dl proteínas} = \frac{D}{P} \times 100$$

### MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Proti U/LCR Control 2 níveis**) com concentrações conhecidas de proteínas, com cada determinação.

### VALORES DE REFERÊNCIA

Urina de 24 horas: 30-140 mg/24 horas (até 160 mg/24 horas em mulheres grávidas)

Urina ocasional: 25 mg/dl

LCR: 15-45 mg/dl em pessoas saudáveis. Em pessoas com mais de 60 anos, esta faixa estende-se até 60 mg/dl.

Estes valores são para orientação. É conveniente que cada laboratório estabeleça suas próprias faixas, posto que podem variar conforme a população e às condições do laboratório.

### CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

Proteínas (g/dl) x 10 = Proteínas (g/l)

### LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. Proteger o Reagente A da luz.

O material utilizado deve estar livre de tensoativos, caso contrário observar-se-ão valores discordantes.

### DESEMPENHO

**a) Reprodutibilidade:** processando duplicatas de uma mesma amostra em um mesmo dia, obtiveram-se os seguintes valores:

Nível	D.P.	C.V.
14 mg/dl	± 0,66 mg/dl	4,7%
100 mg/dl	± 2,30 mg/dl	2,3%

**b) Sensibilidade:** em espectrofotômetro a 600 nm, um Padrão de 100 mg/dl proporciona uma leitura de aproximadamente 0,200 D.O., o que significa que para 0,001 D.O. a alteração de atividade mínima será de 0,5 mg/dl.

**c) Linearidade:** a reação é linear até 150 mg/dl de proteínas. Para valores superiores, diluir a amostra 1:2 ou 1:4 com solução fisiológica e repetir a determinação. Corrigir os cálculos multiplicando pelo fator de diluição utilizados. Se for necessário aumentar a sensibilidade analítica em amostras normais ou levemente aumentadas, pode-se utilizar 50 ul de amostra. Neste caso, é preferível diluir o Padrão 1:2 (1+1) com água destilada, e usar este padrão de 50 mg/dl no ensaio, de modo a ajustar a calibração aos valores normais baixos.

### PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para as instruções de programação, consultar o manual do usuário do analisador em uso.

### APRESENTAÇÃO

- 1 x 100 ml (Cód. 1690007).
- 4 x 20 ml (Cód. 1009317).
- 4 x 20 ml (Cód. 1009282).
- 2 x 60 ml (Cód. 1009631).
- 2 x 55 ml (Cód. 1008161).

### REFERÊNCIAS

- Watanabe, N.; et al. - Clin. Chem. 32:1551, 1986.
- Fujita, Y.; Mori, I.; Kitano, S. - Benseki Kagaku 32:379, 1983.
- Watson, M.; Scott, M. - Clin Chem. 41/3:343, 1995.
- Killingsworth, L. - Clin. Chem. 28/5:1093, 1982.
- Orsonneau, J.; Douet, P.; Massoubre, C.; Lustenberger, P.; Bernard, S. - Clin. Chem. 35/11:2233, 1989.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.



# Proti U/LCR

Quantitative colorimetric method for protein determination  
in urine and cerebrospinal fluid

## SUMMARY

### Proteins in urine

Small quantities of plasmatic proteins of low molecular weight are normally filtered through the renal glomeruli and then, in part, are reabsorbed by the renal tubules.

There are physiologic or benign conditions where an increase of protein urinary excretion may be found such as vigorous exercise, fever, hypothermia, pregnancy.

The measurement of urinary proteins is important in the renal pathology's detection. Proteinuria in renal disease may result in glomerular or tubular dysfunction. Glomerular dysfunction is due to an increase in the passage through glomerular capillaries and is characterized by a loss in plasmatic proteins with similar or larger size. Tubular dysfunction is due to a decrease of the tubule's protein absorption capacity. Among the pathologies that show an increase in the urinary protein excretion are found: nephritic syndrome, nephrotic syndrome, monoclonal hypergammaglobulinemia, diabetic nephropathy and infections in the urinary tract.

### Cerebrospinal fluid (CSF) Proteins

Protein determination in CSF is useful to assess the permeability of the hematoencephalic barrier in many inflammatory or infectious diseases of the Central Nervous System (CNS), as it is occur in bacterial meningitis, viral meningitis or meningitis from other origins, encephalitis, poliomyelitis, neurosyphilis, multiple sclerosis, brain hemorrhage, cerebral or spinal tumors. Other disorders, as demyelination diseases, cause an abnormal protein production within the CNS. The present method's sensitivity makes it suitable to be used in biological fluids such as urine and cerebrospinal fluid, where protein concentration in relation to plasma is too low to be determined using the conventional methods for protein test in serum.

## PRINCIPLE

Proteins present in sample react in acid media with the pyrogallol red-molybdate complex originating a new colored complex spectrophotometrically quantifiable at 600 nm.

## PROVIDED REAGENTS

**A. Reagent A:** 0.1 mmol/l Pyrogallol Red stabilized solution, 0.1 mmol/l sodium molybdate in 50 mmol/l succinate buffer.

**S. Standard:** 100 mg/dl (1.0 g/l) albumin solution.

## NON-PROVIDED REAGENTS

- Distilled water.
- Saline solution.

## INSTRUCTIONS FOR USE

**Provided Reagents:** ready to use.

## WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use.

Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

## STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

**Provided Reagents:** are stable in refrigerator at 2-10°C until the expiration date stated on the box. The Reagent A should be protected from light.

## INSTABILITY OR DETERIORATION OF REAGENTS

When the spectrophotometer has been set to zero with distilled water, Reagent A absorbance readings (at 600 nm) above 0.250 O.D. or below 0.030 O.D. indicate its deterioration.

## SAMPLE

Urine or cerebrospinal fluid

**a) Collection:** obtain occasional or 24-hour urine. Measure diuresis. If samples are turbid, it is convenient to centrifuge them.

**b) Additives:** not required.

**c) Known Interfering Substances:**

- hemolysis may cause falsely increased results in urine as well as in CSF.
- urine preservatives such as hydrochloric acid, benzoic acid or thymol may cause falsely decreased results;
- some drugs or medications may interfere in the reaction. See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

**d) Stability and storage instructions:** urine may be stored at 2-10°C for up to 8 days or at -20°C for up to 3 months. CSF may be stored for up to 3 days at 2-10°C or for up to 3 months frozen at -20°C.

## REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer for readings at 600 nm (580-620 nm).
- Water bath at 37°C.
- Pipettes and micropipettes for measuring the stated volumes

## PROCEDURE

Bring reagents and samples to room temperature before use. In three tests tubes or spectrophotometric cuvettes

labeled B (Blank), S (Standard), and U (Unknown), place:

	B	S	U
<b>Standard</b>	-	20 ul	-
<b>Sample</b>	-	-	20 ul
<b>Reagent A</b>	1 ml	1 ml	1 ml

Mix and incubate the tubes for 10 minutes at 37°C. Measure in photocolormeter between 580-620 nm or in spectrophotometer at 600 nm, setting the instrument to zero with the Blank.

### STABILITY OF FINAL REACTION

Reaction color is stable for 30 minutes. Therefore, read the absorbance within that period.

### CALCULATIONS

#### 1) 24-hour urine Proteins

$$\text{mg of Proteins/24 hours} = \frac{U}{S} \times V \times 1000$$

where:

V = diuresis volume expressed in liters/24 hours

1000 = mg/l Standard

#### 2) Proteins in occasional urine

$$\text{mg/dl proteins} = \frac{U}{S} \times 100$$

#### 3) Proteins in CFS

$$\text{mg/dl proteins} = \frac{U}{S} \times 100$$

### QUALITY CONTROL METHOD

Each time the test is performed, analyze two levels of a quality control material (**Proti U/LCR Control 2 niveles**) with known proteins concentration.

### REFERENCE VALUES

24-hour urine: 30-140 mg/24 hours (up to 160 mg/24 hours in pregnant women)

Occasional urine: 25 mg/dl

CSF: 15-45 mg/dl in healthy individuals. In persons over 60 years old, this range is extended up to 60 mg/dl.

These values should be considered as an orientation. Each laboratory should establish its own values, since they may vary according to the patients' population and laboratory conditions.

### SI SYSTEM UNITS CONVERSION

Proteins (g/dl) x 10 = Proteins (g/l)

### PROCEDURE LIMITATIONS

See Known interfering substances under SAMPLE. Protect the Reagent A from the light. The material used should be

free from surfactants. Otherwise, discordant values may be obtained.

### PERFORMANCE

**a) Reproducibility:** processing replicates of the same samples in one day, the following results were obtained:

Level	S.D.	C.V.
14 mg/dl	± 0.66 mg/dl	4.7 %
100 mg/dl	± 2.30 mg/dl	2.3 %

**b) Sensitivity:** in spectrophotometer at 600 nm, a 100 mg/dl Standard gives a reading of approximately 0.200 O.D. Thus, for 0.001 O.D. the smallest detectable activity change will be of 0.5 mg/dl.

**c) Linearity:** reaction is linear up to 150 mg/dl proteins. For higher values, dilute sample 1:2 or 1:4 with saline solution and repeat determination. Correct calculations multiplying by the dilution factor used. To increase the analytic sensitivity in normal or lightly increased samples, 50 ul sample may be used. In that case, it is advisable to dilute the Standard 1:2 (1+1) with distilled water and use this 50 mg/dl standard in the test to adjust the calibration to low normal values.

### PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

For programming instructions check the user manual of the autoanalyzer in use.

### WIENER LAB PROVIDES

- 1 x 100 ml (Cat. Nr. 1690007).
- 4 x 20 ml (Cat. Nr. 1009317).
- 4 x 20 ml (Cat. Nr. 1009282).
- 2 x 60 ml (Cat. Nr. 1009631).
- 2 x 55 ml (Cat. Nr. 1008161).

### REFERENCES

- Watanabe, N.; et.al. - Clin. Chem. 32:1551, 1986.
- Fujita, Y.; Mori, I.; Kitano, S. - Benseki Kagaku 32:379, 1983.
- Watson, M.; Scott, M. - Clin. Chem. 41/3:343, 1995.
- Killingsworth, L. - Clin. Chem. 28/5:1093, 1982.
- Orsonneau, J.; Douet, P.; Massoubre, C.; Lustenberger, P.; Bernard, S. - Clin. Chem. 35/11:2233, 1989.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.



Nr kat. 1690007 Nr kat. 1009631  
Nr kat. 1009282 Nr kat. 1008161  
Nr kat. 1009317

# Proti U/LCR

Ilościowa metoda kolorymetryczna dla oznaczania białek w moczu i płynie mózgowo-rdzeniowym

## WSTĘP

### Białko w moczu

Niewielka ilość białek osocza o niskiej masie cząsteczkowej przedostaje się przez barierę kłębuszków nerkowych a następnie częściowo wtórnie wchłania się z kanalików nerkowych.

Wydzielanie nerkowe białek zwiększa się fizjologicznie oraz w stanach chorobowych m. in.: przy dużym wysiłku, gorączce, hipotermii, ciąży.

Oznaczenie białka w moczu jest ważne w wykrywaniu chorób nerek. Proteinuria w chorobach nerek może wynikać z zaburzeń kłębuszków lub cewek nerkowych. W pierwszym przypadku wiąże się to ze zwiększoną przepuszczalnością kapilar kłębuszkowych i powoduje utratę białek osoczkowych o mniejszym lub większym rozmiarze. W drugim przypadku jest związane ze zmniejszonym wchłanianiem białek w kanalikach nerkowych.

Niektóre stany chorobowe ze zwiększonym wydzielaniem białka to: zespół nefrytyczny, zespół nerczycowy, monoklonalna hipergammaglobulinemia, nefropatia cukrzycowa oraz infekcje w drogach moczowych.

### Białko w płynie mózgowo-rdzeniowym (Cerebrospinal fluid, CSF)

Oznaczenie białka w CSF jest użytecznym narzędziem do określenia przepuszczalności bariery krew-mózg w chorobach zapalnych i infekcyjnych CSF takich jak bakteryjne zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, wirusowe zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych lub o innym pochodzeniu, zapalenie mózgu, poliomyelitis, kiła układu nerwowego, stwardnienie rozsiane, krwotok wewnątrzmożgowy, guzy mózgu i rdzenia kręgowego. W innych stanach takich jak choroby demielinizacyjne obserwuje się wzrost produkcji nieprawidłowych białek w CSF.

Czułość tej metody pozwala na wykonywanie oznaczeń w płynach biologicznych takich jak mocz i płyn mózgoworodzeniowy, gdzie stężenie białka w porównaniu do osocza jest zbyt niskie aby zastosować metody przeznaczone dla osocza.

## ZASADA DZIAŁANIA

Białka obecne w materiale badanym reagują w środowisku kwaśnym z kompleksem czerwonego molibdenianu pirogalolu (pyrogallol red-molybdate) tworząc nowy kompleks barwny mierzalny spektrofotometrycznie przy długości fali 600 nm.

## DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

**A. Odczynnik A:** 0,1 mmol/l roztwór stabilizowanej czerwieni pirogalolu (Pyrogallol Red), 0,1 mmol/l molibdenianu sodu w 50 mmol/l buforze bursztynianowym.

**S. Próba wzorcowa:** 100 mg/dl (1,0 g/l) roztwór albuminy.

## NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

- Woda destylowana.
- Roztwór soli fizjologicznej.

## INSTRUKCJA UŻYCIA

Dostarczane odczynniki: gotowe do użycia.

## OSTRZEŻENIA

Odczynniki diagnostyczne do zastosowania "in vitro". Stosować odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych.

Odczynniki i materiał badany odrzucać zgodnie z lokalnymi przepisami.

## TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

**Dostarczane odczynniki:** są trwałe w lodówce (2-10°C) do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu. Odczynnik A należy chronić przed światłem.

## BRAK TRWAŁOŚCI I POGORSZENIE JAKOŚCI ODCZYNNIKÓW

Przy spektrofotometrze ustawionym na zero na wodzie destylowanej absorbancja Odczynnika A przy długości fali 600 nm powyżej 0,250 O.D. lub poniżej 0,03 O.D. wskazuje na pogorszenie odczynnika.

## MATERIAŁ BADANY

Mocz lub płyn mózgowo-rdzeniowy.

**a) Pobranie:** dowolna próbka moczu lub 24 godzinna zbiórka. Zmierzyć diurezę. W przypadku zmętnienia materiału należy odwirować.

**b) Substancje dodatkowe:** nie wymagane.

**c) Znane interakcje:**

- Hemoliza może być przyczyną zwiększenia fałszywych wyników w moczu jak i w płynie mózgowo-rdzeniowym.

- Mocz z konserwantem takim jak kwas hydrochlorowy, kwas benzoowy lub tymol może być przyczyną fałszywych wyników.

- Niektóre używki lub leki mogą wpływać na przebieg reakcji. Zobacz źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie.

**d) Trwałość i instrukcja przechowywania:** mocz może być przechowywany w lodówce w (2-10°C) przez 8 dni lub w zamrażalniku w (-20°C) do 3 miesięcy. PMR przechowywać do 3 dni w lodówce (2-10°C) lub do 3 miesięcy zamrożony w (-20°C).

## WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczane)

- Spektrofotometr lub fotokolorymetr dla odczytu przy 600 nm (580-620 nm).

- Łażnia wodna o temp. 37°C.
- Pipety i mikropipety do pomiaru objętości.

## PROCEDURA

Odczynniki i próbki materiału doprowadzić do temperatury pokojowej przed rozpoczęciem analizy. W trzech probówkach do spektrofotometru lub kuwetach oznaczonych B (Blank - Próba ślepa), S (Standard - Próba wzorcowa), oraz U (Unknown - Nieznany materiał badany) umieścić:

	B	S	U
<b>Próba wzorcowa</b>	-	20 ul	-
<b>Próbka badana</b>	-	-	20 ul
<b>Odczynnik A</b>	1 ml	1 ml	1 ml

Zamieszać i inkubować próbki przez 10 minut w temp. 37°C. Odczytać absorbancję przy w fotokolorymetrze pomiędzy 580-620 nm lub w spektrofotometrze przy długości fali 600 nm, ustawiając wcześniej aparat na zero na Próbie Ślepej.

## TRWAŁOŚĆ REAKCJI KOŃCOWEJ

Barwa reakcji jest trwała przez 30 min. Absorbancja powinna zostać odczytana w tym przedziale czasowym.

## OBLICZENIA

### 1) Białko w zbiorce dobowej

$$\text{Białko mg/24 godziny} = \frac{U}{S} \times V \times 1000$$

gdzie:

V = objętość diurezy wyrażona w litrach/24 godz.

1000 = mg/l Próba wzorcowa

### 2) Białko w dowolnej próbce moczu

$$\text{białko mg/dl} = \frac{U}{S} \times 100$$

### 3) Białko w CFS

$$\text{białko mg/dl} = \frac{U}{S} \times 100$$

## METODA KONTROLI JAKOŚCI

W trakcie przeprowadzania badania, za każdym razem, należy przeprowadzać analizę jakości na dwóch poziomach (**Proti U/LCR Control 2 niveles**) ze znanym poziomem stężenia białek.

## WARTOŚCI REFERENCYJNE

Dobowa zbiórka moczu: 30-140 mg/24 godz. (do 160 mg/24 godz. u kobiet w ciąży)

Dowolna próbka moczu: 25 mg/dl

PMR: 15-45 mg/dl w zdrowej populacji. U osób powyżej 60 roku życia zakres zwiększa się do 60 mg/dl.

Wartości powyższe powinny być uważane za orientacyjne. Dla każdego laboratorium zaleca się ustanowienie własnych wartości dla własnej populacji pacjentów i warunków laboratorium.

## KONWERSJA JEDNOSTEK SI

Białko (g/dl) x 10 = Białko (g/l)

## OGRANICZENIA PROCEDURY

Zobacz znane interakcje w rozdziale MATERIAŁ BADANY. Chronić Odczynnik A przed światłem. Materiał powinien być wolny od czynników powierzchniowo czynnych. W przeciwnym razie, otrzymane wartości mogą być niezgodne.

## CHARAKTERYSTYKA TESTU

**a) Powtarzalność:** badanie tych samych próbek powtórzono tego samego dnia i otrzymano następujące wyniki:

Poziom	S.D.	C.V.
14 mg/dl	± 0,66 mg/dl	4,7 %
100 mg/dl	± 2,30 mg/dl	2,3 %

**b) Czułość:** w spektrofotometrze przy długości fali 600 nm Próba wzorcowa 100 mg/dl daje odczyt około 0,200 O.D. Dlatego dla 0,001 O.D. najmniejsza zmiana aktywności wynosi 0,5 mg/dl.

**c) Linijność:** reakcja jest linijna do 150 mg/dl białek. Dla wyższych wartości rozcieńczyć materiał badany 1:2 lub 1:4 roztworem soli fizjologicznej a następnie powtórzyć oznaczenie. Uwzględnić rozcieńczenie w obliczeniach mnożąc wyniki przez współczynnik zastosowanego rozcieńczenia. Celem zwiększenia czułości analitycznej w materiale o prawidłowym zakresie lub lekko podniesionych wartościach można zastosować 50 µl materiału badanego. W takim przypadku zaleca się rozcieńczyć Próbę wzorcową 1:2 (1+1) z wodą destylowaną i użyć 50 mg/dl Próby wzorcowej w teście dostosowując kalibrator do niższego zakresu prawidłowych wartości.

## PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Celem programowania zapoznać się z instrukcją obsługi używanego analizatora automatycznego.

## WIENER LAB DOSTARCZA

- 1 x 100 ml (Nr kat. 1690007).
- 4 x 20 ml (Nr kat. 1009317).
- 4 x 20 ml (Nr kat. 1009282).
- 2 x 60 ml (Nr kat. 1009631).
- 2 x 55 ml (Nr kat. 1008161).


## ŹRÓDŁA


- Watanabe, N.; et al. - Clin. Chem. 32:1551, 1986.
- Fujita, Y.; Mori, I.; Kitano, S. - Benseki Kagaku 32:379, 1983.
- Watson, M.; Scott, M. - Clin Chem. 41/3:343, 1995.
- Killingsworth, L. - Clin. Chem. 28/5:1093, 1982.
- Orsonneau, J.; Douet, P.; Massoubre, C.; Lustenberger, P.; Bernard, S. - Clin. Chem. 35/11:2233, 1989.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.





## SÍMBOLOS // SÍMBOLOS // SYMBOLS // OZNACZENIA

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits. // Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.


 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"// Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"// This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices// Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea// Representante autorizado na Comunidade Europeia// Authorized Representative in the European Community// Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Uso diagnóstico "in vitro"// Uso médico-diagnóstico "in vitro"// "In vitro" diagnostic medical device// Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos// Conteúdo suficiente para <n> testes// Contains sufficient for <n> tests// Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Fecha de caducidad// Data de validade// Use by// Użyć przed


 Límite de temperatura (conservar a)// Limite de temperatura (conservar a)// Temperature limitation (store at)// Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 No congelar// Não congelar// Do not freeze// Nie zamrażać

 Riesgo biológico// Risco biológico// Biological risks// Ryzyko biologiczne

 Volumen después de la reconstitución// Volume após a reconstituição// Volume after reconstitution// Objętość po rozpuszczeniu

 Contenido// Conteúdo// Contents// Zawartość

 Número de lote// Número de lote// Batch code// numer serii

 Elaborado por:// Elaborado por:// Manufactured by:// Wytwórca

 Nocivo// Nocivo// Harmful// Substancja szkodliwa

 Corrosivo / Cáustico // Corrosivo / Caústico // Corrosive / Caustic// Substancja żrąca

 Irritante// Irritante// Irritant// Substancja drażniąca


 Consultar instrucciones de uso// Consultar as instruções de uso// Consult instructions for use// Przed użyciem zapoznać się z instrukcją


 Calibrador// Calibrador// Calibrator// Kalibrator

 Control// Controle// Control// Próba kontrolna

 Control Positivo// Controle Positivo// Positive Control// Próba kontrolna dodatnia

 Control Negativo// Controle Negativo// Negative Control// Próba kontrolna ujemna

 Número de catálogo// Número de catálogo// Catalog number// Numer katalogowy

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.  
Riobamba 2944  
2000 - Rosario - Argentina  
<http://www.wiener-lab.com.ar>  
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola  
Bioquímica  
Producto Autorizado A.N.M.A.T.  
PM-1102-1128

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina