

HOSPITAL INFANTIL DOCENTE "A. A. ABALLÍ"

Proteinuria en la infancia

Estudio comparativo entre los métodos cualitativos del sulfosalicílico y papel indicador, y los cuantitativos de Shevky-Stafford y Biuret*

Por los Dres.:

JOSÉ DANIEL COTAYO LLIZO,** MANUEL PÉREZ-STABLE,***

Téc. LÁZARA ROMERO****

Daniel Cotayo Llizo, J. D. et al. *Proteinuria en la infancia. Estudio comparativo entre los métodos cualitativos del sulfosalicílico y papel indicador, y los cuantitativos de Shevky-Stafford y Biuret.* Rev Cub Ped 47: 6, 1975.

Se determinó la excreción proteica urinaria en 30 pacientes con síndrome nefrótico, en 31 con glomerulonefritis difusa aguda en sus estadios iniciales, en 12 portadores de infección urinaria aguda y en 10 niños sanos. La excreción se expresó: en gramos por día, miligramos por metro cuadrado por día, miligramos por minutos y miligramos por kilogramos por día, así como la concentración, en gramos, por litro. Para las determinaciones cualitativas se utilizaron los métodos del papel indicador Combistix y del ácido sulfosalicílico al 20%; se realizó un estudio comparativo entre ambos, y se llegó a la conclusión de que el segundo es superior. Para la determinación cuantitativa se utilizaron los métodos del biuret y de Shevky-Stafford, y se compararon ambos, sin hallar diferencia estadística significativa en esta serie; se recomienda el método del biuret por ser de uso generalizado y existir informes de que resulta más fiel, según lo revisado en la literatura médica. En esta serie las proteinurias del síndrome nefrótico, de la glomerulonefritis difusa aguda y de la infección urinaria, así como la de los niños sanos, se encontraron dentro de los límites dados por otros autores. Se destaca la importancia de esta determinación en el diagnóstico, pronóstico y evolución de las nefropatías en la infancia.

* Trabajo presentado en la XVIII Jornada Nacional de Pediatría, diciembre 12, 13 y 14 de 1974, Cienfuegos, Las Villas.

Esta investigación es parte del trabajo para optar por el título de especialista de 1er. grado en pediatría del doctor José Daniel Cotayo Llizo.

** Residente de segundo año en pediatría, hospital "A. A. Aballí".

*** Especialista de segundo grado en pediatría. Jefe del departamento de nefrología, hospital "A. A. Aballí", Calzada de Bejucal s/n, La Habana.

**** Estudiante de bioquímica farmacéutica, Facultad de Ciencias, Universidad de La Habana.

"La espuma que aparece en la superficie de la orina indica enfermedad de los riñones y dolencia prolongada".

Aforismo hipocrático (citado por Kark)¹

INTRODUCCION

Han pasado cerca de 150 años desde que Richard Bright estudiaba la proteinuria observando la aparición del coágulo que se formaba al añadir una o dos gotas de

vinagre a una pequeña cantidad de orina que hervía en una cuchara de peltre sobre la llama de una vela de sebo.² No fue *Bright*, sin embargo, el primero en probar la aparición de proteinuria en enfermos. En 1964 *Fredericus Dekkers*, de Leyden, Holanda, demostró que la orina de algunos "tísicos" coagulaba durante la ebullición al añadirle acético.³ *Domingo Cotugno*,⁴ el famoso médico napolitano, describió en 1795 pacientes con hidropesía cuyas orinas coagulaban por el mismo método, y *Wells*,⁴ unos años más tarde, en 1806 y 1811, relacionó las orinas coagulables de ciertos pacientes con la patología renal hallada en la autopsia.

Desde la época de *Bright* se reconoció la importancia que tiene la proteinuria como síntoma de enfermedad renal, y se mantuvieron los métodos para investigarla dentro de límites relativamente sencillos. El desarrollo explosivo de la técnica durante las dos últimas décadas ha puesto a disposición del clínico procedimientos muchísimo más complejos, los que permiten una mejor evaluación de los pacientes con nefropatías. Tales son, por ejemplo: la cromatografía en columna de Sephadex, electroforesis de zona en medio sólido, inmunoelectroforesis por difusión en gel, cromatografía en acetato de celulosa, etc. Estos procedimientos, por su misma complejidad, quedan reservados a laboratorios muy especializados, por lo que el médico práctico mantendrá el empleo de los métodos clásicos durante mucho tiempo, ya que como decía *Addis*² "debe por sí mismo mirar la orina" si es que desea, de verdad, hallar algo en su enfermo con mal de *Bright*.

Ha sido precisamente esa idea, que el clínico "mire la orina", la que nos ha estimulado a comparar los resultados obtenidos con distintos métodos sencillos para la estimación cualitativa y cuantitativa de la proteinuria en las nefropatías más fre-

cuentes de los niños, métodos de fácil aplicación en cualquier laboratorio clínico, por modestos que sean sus recursos.

MATERIAL Y METODO

Casos estudiados.

Incluimos en nuestro estudio 31 niños que padecían glomerulonefritis difusa aguda, 30 con síndrome nefrótico, de los cuales, en 2, era de origen congénito, 12 con infección urinaria y a 10 supuestamente saludables.

El diagnóstico de glomerulonefritis difusa aguda se hizo basado en características que todos los pediatras aceptan como típicas de dicha enfermedad^{5,7} y que pueden resumirse así: 1) aparición súbita de una hematuria macroscópica o microscópica en un niño sin antecedentes personales de patología renal, ni familiares con nefropatía hereditaria; 2) edemas de extensión variable con hipertensión arterial o sin ésta; 3) resultados de laboratorio que favorecieran ese diagnóstico, como urea elevada, eritrosedimentación acelerada, título alto de antiestreptolisina O, aclaramiento de creatinina endógena bajo, etc.; 4) antecedentes de infección reciente en vías aéreas superiores o piel. Se catalogó como hipertenso a todo niño con cifras tensionales por encima de dos desviaciones tipo de la media para su edad.⁸

En 27 pacientes el diagnóstico fue confirmado por el estudio del tejido renal obtenido mediante biopsia percutánea bajo control fluoroscópico televisado;⁹ la mayoría fueron realizadas por el doctor *Borrego*, residente de este hospital, y algunas por nosotros.

Se incluyó en el grupo de pacientes con síndrome nefrótico a todo niño en el que en algún momento de su evolución se comprobó la asociación de un síndrome clínico caracterizado fundamentalmente por edemas, con alteraciones urinarias donde

lo más importante era la proteinuria masiva, y un síndrome humoral dado por hipoproteinemia, hipoalbuminemia y elevación del colesterol sanguíneo o no.^{5,10-16} Un tanto arbitrariamente se aceptaron como cifras compatibles con el diagnóstico de este síndrome las siguientes: proteinuria de 1 g por metro cuadrado de superficie corporal por día, hipoproteinemia de 6 g o menos, hipoalbuminemia de 3 g o menos e hipercolesterolemia de 250 mg o más por 100 ml de plasma.

El criterio seguido para diagnosticar a un paciente como portador de una infección urinaria aguda fue el enunciado en las Normas de Pediatría,⁵ es decir, la presencia de síntomas clínicos, aunque a veces no aparecen, que la hicieron sospechar, con la comprobación, mediante análisis de laboratorio complementario, de una bacteriuria patológica que es determinada por más de cien mil bacterias por ml de orina, unida casi siempre a leucocitaria anormal, de más de 10 leucocitos por mm³ de orina sin centrifugar, o más de 10 leucocitos por campo, lo que se determina con el empleo del mayor objetivo seco, de 40X, en el sedimento de orinas centrifugadas. Estos índices permiten afirmar que en alguna parte del tracto urinario, sin especificar localización, existe colonización y proliferación bacteriana.¹⁷

En la mayoría de los pacientes se obtuvo muestra de orina por punción vesical suprapúbica; en todas ellas, además del cultivo, se hizo conteo de leucocitos en cámara de Neubauer y se sometió el sedimento a la coloración de Gram. Estos últimos análisis fueron hechos por el doctor Parra,¹⁸ residente de nuestro hospital.

Se consideraron como supuestamente sanos: 1) niños en los que la anamnesis no registraba enfermedad renal previa ni antecedentes de nefropatías hereditarias en su familia; 2) examen físico dentro de límites normales, con peso y talla comprendi-

dos entre los percentiles 10 y 90; 3) buen estado de salud aparente durante por lo menos el último mes anterior a la prueba; 4) conteo de leucocitos en orinas sin centrifugar por debajo de 10 por mm³, prueba del sulfosalicílico y urocultivos negativos.

Recolección de las muestras.

Las orinas se recogieron en frascos de 500 ml previamente esterilizados; se utilizó como preservativo en todos ellos unos 100 mg de cristales de timol.¹⁹ Se conservaron en frío, a temperaturas entre 4° y 10° C, hasta el momento del examen. El tiempo de recolección varió entre 12 y 24 horas, y su duración dependió, sobre todo, de la edad del niño, ya que mientras más pequeño era el paciente, más difícil resultaba recogerle la orina a lo largo de todo un día. La ingestión de líquidos se limitó a las requeridas por la sensación de sed del niño.

Manipulación de las muestras en el laboratorio.

Primero se midió en una probeta graduada el volumen de orina eliminada y se determinó la densidad con densímetro clínico. El volumen/minuto se obtuvo al dividir los ml de orina recogidos entre los minutos que duró la recolección. Unos 50 ml de orina se filtraron por papel Whatman No. 1; el filtrado fue destinado a las siguientes determinaciones de proteínas: 1) por medio del papel indicador de proteínas (*Combistix*, Ames Co. Inc., Elkhart, Indiana, USA); 2) ácido sulfosalicílico;²⁰ 3) por el método de Shevsky-Stafford;^{21,22} 4) por el del Biuret.²³

Técnicas seguidas para la determinación de las proteínas.

1. *Papel indicador de proteínas (Combistix).* En un tubo de ensayo se vierten

unos 5 ml de orina y se introduce el papel, el que se retira inmediatamente. Los resultados se expresan tal como viene indicado en la tabla de colores adjunta al frasco, de la siguiente manera: negativo, trazas, 30 mg, 100 mg, 300 mg y más de 1000 mg %. Se obtenía información, además, sobre los otros dos parámetros incluidos en la tira de papel: pH y glucosuria.

2. *Acido sulfosalicílico al 20%*.²⁰ Se tomaban dos tubos de ensayo y se vertía en cada uno de ellos unos 3 ml de orina. A uno se le adicionaban paulatinamente 3 gotas del ácido sulfosalicílico; se dejaba en reposo durante 2 ó 3 minutos y se observaba entonces la turbiedad producida, la que se comparaba con la que presentaba la orina sin el ácido. Para que nos sirviera de orientación en las diluciones a hacer con la orina, para la determinación de las proteínas por los métodos de Shevky-Stafford^{21,22} y Biuret,²³ se hizo una valoración de los resultados un tanto compleja,^{21,22} pero que en la práctica ha funcionado bien. La ausencia de turbiedad se dio como negativa; turbiedad difícilmente discernible, pero neta se catalogó como 1x; y turbiedad homogénea, intensa y total, coagulando en masa la orina con la adición de una sola gota del ácido, como 7x. Entre esos extremos se clasificó como turbiedad 2x, cuando ésta era evidente, pero no se comprobaban grumos; 3x, cuando se observaban pequeños grumos; 4x, cuando éstos eran algo mayores; 5x, cuando los grumos formados se precipitaban rápidamente con las 3 gotas del ácido; y 6x, cuando bastaban para ello sólo 1 ó 2 gotas.

Con la intención de expresar esos resultados en forma semicuantitativa que pudiera compararse con otros métodos,^{20,26} se consideró que una reacción negativa significaba ausencia de proteínas en la orina; las trazas equivalían a una concentración de unos 10 mg %; 1x, de 10 a

50 mg; 2x, de 50 a 100 mg; 3x, de 100 a 250 mg; y 4x, más de 250 mg %.

3. *Método de Shevky-Stafford*.^{21,22} Si la turbiedad de la orina con el sulfosalicílico se encontraba entre los grados de trazas y 3x, se vertían en el tubo de Shevky-Stafford²² 1 ml de la orina filtrada; después se añadía el reactivo de Tsuchiya²¹ hasta la marca de 6,5 ml, se mezclaban ambos líquidos por inversión tres veces y se dejaba en reposo durante un minuto. Se centrifugaba a continuación la orina a 2000 revoluciones por minuto durante 10 minutos. Si la turbiedad con el sulfosalicílico era muy intensa, se hacía una dilución de la orina al 1 x 10 con agua destilada, y se procedía entonces como se acaba de describir. Los mg de proteínas en los 1 ml de orina a que corresponde el volumen en ml del precipitado depositado en el fondo del tubo se hallan en la tabla de conversión.²⁷ En forma aproximada puede deducirse la proteinuria por litro para lo que se multiplica el volumen del precipitado en ml por el factor 7.2.²¹

Reactivo de Tsuchiya.^{21,22} Se vierten en un balón aforado y se mezclan: 1,5 g de ácido fosfotúngstico, 5 ml de ácido clorhídrico y alcohol de 95° hasta la marca de 100 ml.

d) *Método del Biuret*.²³ En un tubo de centrifuga, graduado, de 15 ml, se vierte la orina; se mide cuidadosamente con una pipeta el volumen utilizado, el que depende de la turbiedad observada con el sulfosalicílico.²³

Cuando ésta era de 1x se empleaban 5 ml de orina; si 2x, 4 ml; si 3x, 3 ml; si 4x, 2 ml; si 5x, 1 ml; y si 6x, 0,5-ml. Se agrega entonces al tubo un volumen igual de ácido tricloroacético al 10% y se deja en reposo la mezcla durante 10 minutos, al cabo de los cuales se centrifuga a 2000 revoluciones por minuto durante

20 minutos; el líquido sobrenadante se desecha. Se dejaba escurrir el líquido de las paredes, para lo que se colocaba el tubo invertido sobre un papel de filtro. Una vez hecho esto se añadía hidróxido de sodio al 3% hasta la marca de 5 ml y se agitaba hasta lograr la completa disolución del precipitado. Si al cabo de un tiempo prudencial quedaba algo sin diluir, esto se lograba mediante la ayuda de una varilla de cristal, la que después era lavada con una gota de hidróxido de sodio al 3%. Se adicionaba entonces 1 ml del reactivo de Benedict cualitativo, dejando todo en reposo durante 20 minutos.

La lectura se hace contra un blanco de 5 ml de hidróxido de sodio al 3% con 1 ml de reactivo de Benedict cualitativo, antes de las 4 horas de hacer la mezcla. Nosotros utilizamos un fotocolorímetro Coleman Junior a 545 nm o un Beckman DU a 515 nm. Los tubos de ensayo con los reactivos deben preservarse de la luz directa del sol. La temperatura ideal para esta reacción es 22°C.²⁴

Si la muestra de orina arrojaba una positividad de 7x con el sulfosalicílico se procedía de la siguiente manera: a 0.2 ml de orina filtrada se añaden 4.8 ml de cloruro de sodio al 0.9%. De esa solución se toman 2.5 ml, los que se mezclan con 2.5 ml de hidróxido de sodio al 6% en el tubo de centrifuga graduado de 15 ml. Se añade entonces 1 ml de reactivo de Benedict cualitativo, haciendo la lectura como se describió antes.

La conversión a miligramos de proteínas se hace por medio de la curva de calibración construida al efecto,^{23,25} para lo que se tiene en cuenta el volumen de orina tomado para el análisis. La curva nos da los miligramos de proteínas en cada ml de solución. Si se toman 5 ml de orina habrá, pues, que dividir entre 5; si 4, entre 4; si 3, entre 3, etc., para saber lo que tiene cada ml de la muestra. Si se

toman 0.5 ml de orina, por el contrario, habrá que multiplicar por 2, y si 0.2 ml habrá que multiplicar por 10, ya que en realidad lo que se utiliza es sólo 0.1 ml de orina.

Construcción de la curva de calibración para la determinación de las proteínas urinarias.^{23,25} Se tomó como concentración conocida de proteínas la del suero, *Lab-Throl* (*Dade Reagents Inc.*, Miami, Fla., USA), que contiene 7.1 g de proteínas en 100 ml. Se tomó 1 ml de una dilución al 1 x 10 de ese suero en agua destilada. Ese ml, que contenía 7.1 mg de proteínas, sirvió de patrón. Las cantidades tomadas de esa solución patrón de proteínas aparecen en el cuadro 1, las que se completaron hasta 2.5 ml con solución de cloruro de sodio al 0.9%; posteriormente se le añadieron 2.5 ml de hidróxido de sodio al 6% a todos los tubos. Hecho esto se agregó 1 ml de reactivo de Benedict cualitativo a cada uno de los tubos, y se dejaron en reposo 20 minutos; las lecturas se hicieron en el fotocolorímetro frente a un blanco formado por 5 ml de hidróxido de sodio al 3% y 1 ml de Benedict cualitativo. Los resultados se leyeron en porcentajes de trasmisión.

*Reactivo de Benedict cualitativo.*²⁶ Dissolver 100 g de carbonato de sodio anhidro y 173 g de citrato de sodio bihadratado en unos 700 ml de agua bidestilada. Dissolver 17.30 g de sulfato de cobre pentahidratado en unos 100 ml de agua destilada. Se añade esta última solución a la de citrato y carbonato, y se mezclan constantemente. Luego se completa hasta un litro con agua bidestilada.

Acido tricloroacético al 10%. Se pesan 10 g de ácido tricloroacético, los que se introducen en un balón aforado. Se completa hasta 100 ml con agua destilada.

Debe guardarse en frío. No debe usarse después de los 3 meses de preparado.

Soluciones de hidróxido de sodio al 3 y al 6%. Pesar las cantidades requeridas de la sal, y completar el volumen hasta 100 ml con agua destilada.

Si se conservan en frasco de vidrio deben desecharse estas soluciones a los 3 meses de preparadas, pues una vez envejecidas, es posible que el blanco preparado con ellas muestre menos transmisión que las soluciones proteicas débiles.²³

Concentración de las orinas en niños normales para la determinación de las proteínas. Esto resulta imprescindible, dada la baja concentración proteica de las orinas normales. Hemos seguido el método de McFarlane.²⁹ Toda la orina emitida en 12 horas era filtrada por un papel Whatman

No. 1, la que era vertida totalmente en un tubo de celofán Visking de 2 pulgadas de ancho. Sus extremos se cerraban mediante unas pinzas Kocher con sus ramas insertas en tubos de goma. Una vez lleno el tubo de celofán, con la orina, se humedecían sus paredes con agua destilada; se introducía en un vaso de precipitados de suficiente capacidad, el cual llenábamos hasta el borde con azúcar blanca. Aproximadamente a las 5 ó 6 horas deteníamos la concentración, cuyo grado se calculaba fácilmente, para lo que se medía el volumen de orina remanente en el tubo. Ato seguido determinábamos la cantidad de proteínas por el método del Biuret, en 5 ml de orina que utilizábamos (cuadros II, III, IV y V).

CUADRO I

CONSTRUCCION DE LA CURVA DE CALIBRACION PARA LA DETERMINACION DE LAS PROTEINAS URINARIAS POR EL METODO DEL BIURET. FOTOCOLORIMETRO BECKMAN DU 545 nm

Sol. patrón	Proteínas mg/ml	NaOH al 6% ml	CiNa 0.9% ml	Benedict ml	Trasmisión en %
0,02 ml	0,142	2,5	2,48	1	98
0,04 ml	0,284	2,5	2,46	1	96
0,06 ml	0,426	2,5	2,44	1	94
0,08 ml	0,568	2,5	2,42	1	92
0,10 ml	0,710	2,5	2,40	1	90
0,20 ml	1,420	2,5	2,30	1	82
0,40 ml	2,840	2,5	2,10	1	67
0,60 ml	4,260	2,5	1,90	1	56
0,80 ml	5,68	2,5	1,70	1	45
1,00 ml	7,10	2,5	1,50	1	37
1,20 ml	8,52	2,5	1,30	1	31
1,40 ml	9,94	2,5	1,10	1	26
1,60 ml	11,36	2,5	0,90	1	21

CUADRO II

PROTEINURIA EN EL SINDROME NEFROTICO

Pacientes	Edad	Sexo	Raza	Ede- mas	SS g/l	B g/l	B g/ día	B mg/ min	B mg/ m ² /día	B mg/ kg/día
1	10 a	M	B	sí	34,2	49,80	7,1	4,98	5 453	173
2	14 a	M	B	sí	11,8	9,00	6,7	4,68	4 785	145
3	2 a	M	B	no	—	—	—	—	—	—
4	10 a	F	M	sí	10,2	9,96	5,2	3,58	4 444	148
5	2 a	M	M	sí	0,9	0,88	0,09	0,06	14,7	6,4
6	8 a	M	B	no	0,17	0,09	0,04	0,03	57	2,3
7	11 a	F	M	no	1,56	1,26	0,91	0,63	777	26
8	8 a	M	B	sí	0,51	1,08	0,62	0,43	601	23
9	8 a	M	B	sí	1,45	1,26	1,12	0,78	1 244	48
10	3 a	M	N	sí	1,14	0,89	0,89	0,62	1 390	59
11	4 m	M	B	sí	6,50	4,60	0,67	0,46	2 680	167
12	9 a	F	M	sí	3,77	4,09	4,46	3,10	4 684	178
13	10 a	F	B	sí	11,80	9,60	3,36	2,34	2 688	88
14	5 a	M	B	sí	12,00	7,30	3,45	2,40	3 631	138
15	11 m	M	B	sí	0,24	0,67	0,66	0,46	1 736	91
16	11 a	F	B	sí	12,70	10,20	12,60	8,77	8 400	233
17	11 a	M	B	sí	34,20	37,40	14,80	10,34	9 876	280
18	2 a	F	B	sí	0,29	0,29	0,57	0,40	1 036	47
19	5 a	F	B	sí	12,67	10,55	4,80	3,30	6 486	282
20	4 a	M	B	no	—	—	—	—	—	—
21	2 a	M	B	sí	6,25	4,00	0,80	0,56	1 480	61
22	3 a	M	B	no	—	—	—	—	—	—
23	8 a	M	B	no	—	—	—	—	—	—
24	4 a	M	B	no	—	—	—	—	—	—
25	14 a	M	B	sí	12,60	10,50	8,16	5,67	6 900	115
26	8 a	M	B	no	—	—	—	—	—	—
27	6 a	F	B	no	—	—	—	—	—	—
28	11 a	F	B	no	—	—	—	—	—	—
29	11 a	M	N	sí	18,50	22,60	7,50	5,20	6 818	250
30	6 a	M	B	no	0,33	0,21	0,08	0,054	91	3,5
Promedios:					6,98	8,92	3,84	2,69	3 421	118

SS: Shevky-Stafford. B: Biuret. Edad: cuando se hizo el análisis.

CUADRO III

PROTEINURIA EN LA GLOMERULONEFRITIS DIFUSA AGUDA

Pacientes	Edad	Sexo	Raza	POI	SS g/l	B g/l	B g/día	B mg/min	B mg/m ² /día	B mg/kg/día
1	9 a	M	B	2x	1,19	1,10	1,72	1,20	1 720	63
2	14 a	M	B	2x	n.r.	0,10	0,06	0,01	44	1,4
3	5 a	M	B	tra	0,60	0,33	0,31	0,22	387	15,5
4	6 a	F	N	neg	0,17	0,17	0,26	0,17	306	12,3
5	3 a	F	B	con	0,08	0,14	0,06	0,036	80	3,5
6	6 a	M	B	tra	0,21	0,08	0,46	0,035	57	2,2
7	6 a	F	B	con	1,37	2,58	1,08	0,70	1 150	45
8	7 a	M	B	1x	neg	neg	—	—	—	—
9	11 a	F	B	con	neg	neg	—	—	—	—
10	6 a	M	M	con	5,31	5,76	5,32	3,70	6 258	253
11	4 a	M	B	1x	0,15	0,08	0,01	0,012	23	0,9
12	11 a	M	B	3x	0,22	0,13	0,12	0,081	105	3,87
13	2 a	M	M	ves	1,01	0,95	0,41	0,310	640	31
14	8 a	M	N	ves	0,15	0,21	0,21	0,170	252	9,6
15	5 a	F	N	tra	0,31	0,13	0,04	0,031	58	2,6
16	8 a	F	B	dos	n.r.	0,25	0,04	0,03	38	1,5
17	5 a	M	N	1x	1,14	1,07	0,88	0,61	1 350	58,6
18	7 a	M	B	tra	0,16	0,10	0,11	0,076	95	3,2
19	8 a	F	N	tra	n.r.	0,14	0,12	0,085	126	4,8
20	5 a	F	B	tra	n.r.	0,42	0,21	0,15	254	10,3
21	6 a	M	B	tra	0,50	0,25	0,33	0,23	403	16,5
22	5 a	M	B	2x	0,14	0,16	0,09	0,062	110	4,5
23	14 a	M	B	3x	1,00	0,67	0,80	0,56	645	21
24	5 a	M	B	4x	0,22	0,36	0,21	0,147	263	10,8
25	9 a	M	N	tra	neg	neg	—	—	—	—
26	3 a	F	B	2x	neg	neg	—	—	—	—
27	1 a	M	M	con	0,35	0,13	0,02	0,014	45	1,6
28	11 a	F	N	ves	n.r.	0,23	0,12	0,081	109	3,8
29	11 a	M	N	tra	n.r.	0,07	0,08	0,056	58	1,8
30	8 a	M	B	tra	4,27	1,31	1,29	0,91	970	37
31	9 a	M	N	1x	1,2	5,25	0,30	0,21	266	9,1
7 a ← Promedios →					0,72	0,83	0,51	0,37	585	23

POI: examen corriente o parcial de orina al ingreso

tra: trazas de proteínas

con: contiene proteínas

dos: proteínas dosificables

n.r.: no realizado

SS: método de Shevsky-Stafford

B: método del Biuret

neg: negativo, no contiene proteínas

ves: vestigios de proteínas.

CUADRO IV

PROTEINURIA EN LA INFECCION URINARIA AGUDA (METODO DEL BIURET)

Caso	Edad	Sexo	Raza	Uroc	g/l	g/d	mg/min	mg/m ² /d	mg/kg/d
1	6 a	F	B	Coli	0,16	0,111	0,10	180	7,2
2	5 a	F	B	Coli	0,18	0,117	0,18	130	5,0
3	10 a	F	B	Coli	0,02	0,020	0,014	25	0,70
4	1 a	F	B	Coli	—	—	—	—	—
5	5 a	M	B	Coli	0,10	0,070	0,05	100	4,1
6	1 a	F	B	Coli	0,06	0,020	0,013	22	0,9
7	1 a	F	B	Coli	0,04	0,036	0,020	45	1,8
8	8 a	F	B	Coli	0,04	0,070	0,05	62	2,3
9	5 a	F	B	Coli	—	—	—	—	—
10	6 a	M	M	Prot	0,09	0,054	0,045	67	3,3
11	1 a	M	B	Coli	0,50	0,170	0,125	85	17
12	10 a	F	B	Coli	0,24	0,100	0,074	100	4
6 a ← Promedios →					0,12	0,07	0,06	68	3,8

CUADRO V

PROTEINURIA EN NIÑOS SANOS (METODO DEL BIURET)

Caso	Edad	Sexo	Raza	g/l	g/d	mg/min	mg/m ² /d	mg/kg/d
1	11 a	M	B	0,032	0,031	0,022	25	0,84
2	13 a	F	B	0,030	0,023	0,016	17	0,57
3	8 a	F	B	0,012	0,007	0,005	7	0,23
4	11 a	F	B	0,036	0,026	0,018	22	0,74
5	10 a	F	B	0,023	0,011	0,007	11	0,40
6	8 a	F	B	0,014	0,008	0,005	8	0,29
7	5 a	M	B	0,017	0,013	0,009	16	0,65
8	7 a	M	B	0,028	0,023	0,016	25	0,92
9	8 a	M	B	0,020	0,011	0,010	11	0,51
10	6 a	M	N	0,023	0,014	0,009	16	0,60
9 a ← Promedios →				0,023	0,017	0,012	16	0,58

RESULTADOS

Se expresaron para los distintos métodos en gramos por litro, gramos por día, mili-

gramos por minuto, miligramos por metro cuadrado de superficie corporal por día y miligramos por kilogramo de peso cor-

poral por día, que son las formas más comunes de informar la proteinuria, aunque personalmente preferimos hacerlo solamente en mg/min o mg/m²/día.

De los 30 pacientes con síndrome nefrótico (cuadro II) y que fueron estudiados, se demostró proteinuria en 22, de los cuales, todos, menos 3, tenían edemas en el momento de hacer dicha investigación. Los otros 8 pacientes en los que las pruebas fueron negativas se encontraban en remisión clínica y bioquímica. Las excreciones mínimas diarias de proteínas en la orina por el método del Biuret fueron: de 11, 57 y 91 mg/m²/día y las máximas de 9 876, 8 400 y 6 900, lo que representó un promedio de 3 421 mg/m²/día.

La edad promedio de comienzo de la enfermedad, en este grupo de pacientes, fue de 2.8 años; la distribución por sexo fue: 21 varones y 9 hembras; y por razas: 21 de la blanca, 3 de la negra y 3 de la mestiza. La biopsia renal realizada en 23 pacientes mostró lesiones mínimas en 16, lo que representó el 70% de las mismas.

De los 31 casos de glomerulonefritis difusa aguda (cuadro III) se encontró proteinuria en 27. En los 4 restantes no pudo demostrarse, aunque debemos reconocer que no fue iterativo el análisis, y que en sólo un caso dejó de hallarse mediante el examen corriente de orina hecho al ingreso. Los valores mínimos de proteinuria por el método del Biuret fueron de 23, 38 y 44; y los máximos, de 1 150, 1 350, 1 720 y 6 258 mg/m²/día.

La edad promedio de estos pacientes fue de 7.0 años. Predominó el sexo masculino, ya que 21 eran varones y había sólo 10 hembras. Respecto a la raza, 19 eran de la blanca, 9 de la negra y 3 de la mestiza. Del total de casos, 20 mostraron hipertensión arterial en algún momento de su evolución; 28 tuvieron edemas; 20, la urea elevada por encima de 40 mg/100 ml

de plasma y 14 mostraron alteraciones pulmonares, cardíacas o ambas a la vez, demostrables por el estudio radiológico.

El diagnóstico en 28 pacientes quedó confirmado por biopsia renal. En esta serie se observaron dos casos de encefalopatía hipertensiva, dos de anuria y un síndrome de insuficiencia cardíaca. Todos evolucionaron favorablemente.

De los 12 pacientes, a quienes se les diagnosticó infección urinaria aguda (cuadro IV), se demostró proteinuria en 10 de ellos. Las excreciones mínimas fueron de 22, 25 y 45 y las máximas de 100, 130 y 180 mg/m²/día.

La edad promedio de este grupo fue de 5.6 años, predominando el sexo femenino, pues había 9 hembras y 3 varones. En cuanto a la raza, 11 eran de la blanca y 1 de la mestiza. De los gérmenes hallados en los urocultivos el *E. coli* fue el predominante; se aisló en 11 de los 12 niños estudiados.

En las muestras consideradas como normales (cuadro V) no se demostró proteinuria por los métodos del sulfosalicílico al 20% ni por el Combistix en las orinas sin concentrar, a pesar de que la densidad de todas las muestras estuvo por encima de 1 018. El promedio de edad fue de 8.7 años. Del total, 3 eran varones y 5 hembras; 9 eran de la raza blanca y 1 de la raza negra.

El promedio diario de excreción proteica, investigado en las orinas concentradas por diálisis, fue de 0,016 g/m²/día.

Los resultados promedios de los $\overline{\text{enfermos}}$ estudiados, expresados en las formas antes expuestas, se encuentran registrados en el cuadro VI.

La comparación entre los métodos del sulfosalicílico y del papel indicador aparecen en el cuadro VII y los métodos de Shevky-Stafford y Biuret en el cuadro VIII.

CUADRO VI

PROTEINURIA PROMEDIO EN EL SINDROME NEFROTICO, GLOMERULONEFRITIS DIFUSA AGUDA, INFECCION URINARIA Y EN LOS NIÑOS SANOS (METODO DEL BIURET)

	Síndrome nefrótico	GND A	Infección urinaria	Niños sanos
No. de casos	30	31	12	10
Con proteinuria	22	27	10	0
Gramos/litro	8,92	0,83	0,12	0,023
Gramos/día	3,84	0,54	0,07	0,017
mg/minuto	2,69	0,37	0,067	0,012
g/m ² /día	3,42	0,58	0,068	0,016
mg/kg/día	118	23	3,8	0,58

GND A Glomerulonefritis difusa aguda.

CUADRO VII

RELACION ENTRE LOS METODOS DEL COMBISTIX Y DEL ACIDO SULFOSALICILICO

	COMBISTIX						
	O	T	30	100	300	1000	
O	107	22	0	0	0	0	
T	15	14	6	0	0	0	
1x	2	3	12	2	0	0	
Acido sulfosalicílico	2x	0	0	4	5	6	0
	3x	0	0	3	6	12	2
	4x	0	0	0	1	9	27

O: ausencia de proteínas.

T: trazas de proteínas.

Resultados del Combistix: en miligramos por ciento.

Resultados con el sulfosalicílico: expresado en cruces.

CUADRO VIII

RESULTADOS EN LA MISMA MUESTRA DE ORINA DE LA PROTEINURIA SEGUN LOS METODOS DE SHEVKY-STAFFORD Y DEL BIURET. CONCENTRACION PROTEICA DADA EN GRAMOS POR LITRO

Shevky-Stafford	Biuret	Shevky-Stafford	Biuret
1,37	2,58	5,00	3,20
0,68	0,46	0,32	0,36
1,45	1,26	12,60	10,50
8,75	8,00	0,15	0,21
5,31	5,25	2,29	1,80
6,56	4,56	0,22	0,13
1,87	1,81	0,50	0,25
2,15	6,70	6,25	4,00
0,40	0,08	1,01	0,95
0,62	0,53	0,62	0,60
2,42	2,42	12,50	10,50
2,60	3,60	1,90	4,40
21,00	29,00	5,80	5,97
8,00	12,10	0,28	0,48
0,07	0,02	1,10	1,01
12,70	10,20	0,07	0,02
0,15	0,08	0,35	0,13
11,87	9,00	18,50	22,60
4,75	5,00	3,80	4,10
3,50	3,10	0,31	0,13
4,06	3,00	4,15	4,85
1,00	0,67	1,94	1,18
0,14	0,11	0,06	0,01
0,28	0,17	7,45	7,15
0,08	0,10	3,20	3,65
0,08	0,14	3,42	2,50
0,32	0,21	1,19	1,40
1,14	1,07	2,05	1,34
0,16	0,10	0,34	0,38
1,06	1,20	0,08	0,10
3,60	2,50	34,20	49,80
0,24	0,24	0,36	1,08
0,91	0,75	0,08	0,04
34,20	37,00	0,12	0,08
0,09	0,07	0,34	0,18
3,80	4,10	4,30	5,00

CUADRO VIII

(Continuación)

Shevky-Stafford	Biuret	Shevky-Stafford	Biuret
3,60	2,50	0,85	0,47
0,11	0,89	1,02	0,80
0,75	0,50	0,34	0,18
1,12	5,25	0,17	0,17
4,27	1,31	0,51	1,08
2,95	2,57	0,24	0,08
9,00	11,86	18,80	15,30
0,16	0,18	0,08	0,02
0,09	0,17	6,80	4,30
0,94	0,75	0,60	1,48
10,92	9,96	12,00	7,30
0,08	0,02	0,08	0,08
0,25	0,86	11,10	9,96
0,60	0,33	4,27	4,30
Promedios → 3,79			3,89

COMENTARIOS

El método del ácido sulfosalicílico al 20%^{20,30,34} o cualquiera de sus variantes^{4,35,39} se basa en la precipitación de las proteínas urinarias al ser sometidas a la acción de dicho ácido. El método ha sido considerado superior al del Combistix por autores como James,³⁵ Clough y Reah,²⁰ Muth,⁴⁰ Watson³³ y Lane y Pearce,³⁸ aunque otros, como Longfield y colaboradores⁴¹ y Rennie⁴ lo encuentran casi igual o inferior. Es bueno recordar que según Fishberg³ este método es capaz de detectar las pequeñas cantidades de proteínas normalmente presentes en la orina, aunque nunca han pasado de ser trazas.

El papel indicador utilizado por nosotros fue el Combistix, el cual se basa en el principio conocido como el error de los indicadores frente a las proteínas, descrito por Sorensen en 1909.³² Cuando un indicador de pH se pone en una solución pro-

teica, el cambio de color que sufrirá dependerá en gran proporción del contenido proteico de ésta, y en menor grado de la concentración de hidrogeniones del medio, siempre y cuando sus límites no sean extremos. Este "error" es función, además, de la naturaleza del indicador.

El indicador empleado en el Combistix es el azul de tetrabromofenoltaleína,^{28,34,35,43} añadido a un *buffer* de citrato de sodio a un pH de 3,5 para mantener su estabilidad. El indicador y el *buffer* están impregnados en un papel esponjoso que sirve de soporte mecánico, y se encuentran separados de las demás zonas de la tira de papel destinadas a las lecturas de los otros parámetros, glucosa y pH, por zonas de papel impermeable.

El papel indicador no es afectado por las variaciones fisiológicas del pH urinario ni por una hematuria microscópica, sino se mantiene sin alterarse a temperatura de 100°C durante cuatro horas, así como frente a vapores de ácido clorhídrico. Tam-

poco se altera por sumersión en agua destilada, siempre que no se agite. *Frazier*⁴³ comprobó que cuando las muestras de orina a examinar se hacían suficientemente ácidas para que el pH descendiera a 2,5 o suficientemente alcalinas para que subiera hasta 9,1, los resultados eran invariablemente negativos o positivos, respectivamente.

Hay autores que señalan que no debe considerarse como patológica una orina por el solo hecho de que la reacción del papel indicador dé positiva (trazas).⁴¹ Esto hace que sólo deban tomarse en cuenta por dicho método concentraciones de 30 o más mg de proteínas %.^{34,36,37,41} Por ello el método del ácido sulfosalicílico se considera superior al del papel indicador, ya que ofrece resultados más confiables y no es difícil diferenciar entre trazas y negativo, como ocurre con el papel indicador.⁴⁵

Las principales causas de resultados falsos positivos o falsos negativos con estos métodos se encuentran registrados en el cuadro IX.

CUADRO IX

CAUSA DE ALGUNAS REACCIONES FALSAS POSITIVAS Y FALSAS NEGATIVAS DE PROTEINURIA, OBTENIDAS CON LOS METODOS DEL COMBISTIX Y DEL ACIDO SULFOSALICILICO*

Causa	Acido sulfosalicílico	Combistix
Orina alcalina	falso negativo	falso positivo
Contraste radiológico	falso positivo	no se afecta
Penicilina	falso positivo	no se afecta
Metabolitos sulfisoxazole	falso positivo	no se afecta
Metabolitos tolbutamida	falso positivo	no se afecta
Proteína Bence Jones	no se afecta	falso negativo
Cloruro de benzalconio	no se afecta	falso positivo
Azul de metileno	no se afecta	falso positivo
Acido para-amino-salicílico	falso positivo	no se afecta

* Datos obtenidos de Kory y Wajfe,²⁶ Dunca y Frzedman,⁴⁵ Clough y Reah,³⁹ Lane y Pearce,³⁸ y Wells y McGowan.⁴²

El método de Shevky-Stafford²² se basa en la medida del volumen de precipitado obtenido al adicionarle reactivo de Tsuchiya^{21,22} a una muestra dada de orina. El agente precipitante de las proteínas es el alcohol, y en menor grado el ácido fosfotúngstico; el ácido clorhídrico tiene la función de disolver las sales presentes en la muestra.²²

Este método ha sido ampliamente utilizado en clínica debido principalmente a su fácil manejo y rapidez. Recientemente ha sido utilizado por *Harlan y colaboradores*¹⁶ y *Wagner y colaboradores*,¹⁷ aunque los primeros emplean el método del Biuret desde 1966. Debido a que el método de Shevky-Stafford²² se basa en la precipitación de las proteínas y la medida del volumen de ese precipitado, tiene un grado apreciable de error,^{21,22,23} que *James*²² hace ascender hasta un 25%.

Nosotros encontramos que en las orinas de los pacientes nefróticos el precipitado obtenido era blanco y homogéneo, y que en la mayoría de los casos eran muy similares los valores hallados por este método y el del Biuret (cuadros II y VIII); pero en las orinas de los pacientes con glomerulonefritis agudas obteníamos dos capas de precipitación, una superior rosada y una inferior blanca, y que los datos obtenidos por los métodos antes dichos eran menos coincidentes (cuadro III). Con toda probabilidad la capa superior estaba compuesta por hemoglobina.

El método del Biuret se basa en la aparición de un color violeta originado por la formación de un complejo orgánico de estructura desconocida entre el enlace peptídico y el cobre en un medio alcalino.²⁴⁻²⁸ Es confiable y de valor clínico indudable, por lo que es el más utilizado para la determinación cuantitativa de las proteínas urinarias por todos los nefrólogos del mundo.^{12,19,31,35,46,56,54-58} Algunos autores han utilizado el método colorimétrico y han

empleado el reactivo de Folin,⁵⁹ que aunque es más sensible resulta sumamente laborioso y además, el color obtenido varía con la clase de proteína, y no es directamente proporcional a su concentración. El método del Biuret sólo tiene la desventaja de que con las orinas que contengan péptidos en cantidad apreciable, da valores proteicos más altos que los reales.

El error del método del Biuret calculado para concentraciones comprendidas entre los 150 mg/l y 20 g/l puede llegar hasta un 9.2%.¹¹

La comparación entre los métodos del sulfosalicílico y Combistix (cuadro VII) mostró que de un total de 258 muestras de orina analizadas hubo coincidencia en 177, para un 68% de resultados iguales. De estas 177 muestras, en 107 los resultados fueron negativos por ambos métodos. El papel indicador dio "trazas" en 22 exámenes, los que pueden considerarse como falsos positivos, si es que se considera el sulfosalicílico como valedero, pues éste fue negativo en los 22. Esto resulta muy importante, ya que los falsos negativos o los falsos positivos nos inclinarán a excluir la patología renal o no excluirla en un paciente determinado, si es que no se conocen las limitaciones de los métodos empleados. Los resultados hallados son similares a los publicados por otros autores, como *Larson y Thyse*,³² *Baron y Newman*,¹⁴ *Marks y colaboradores*,³⁷ *Free y colaboradores*³⁹ y *Longfield y colaboradores*.¹¹

En 100 muestras de orina se determinaron las proteínas por los métodos del Biuret y Shevky-Stafford (cuadro VIII), y se observó que 42 resultados fueron semejantes. En forma arbitraria, se consideraron como "resultados semejantes" aquellos en los que la diferencia entre los dos métodos no fue mayor de 100 mg en orinas con proteinuria entre 100 y 1 000 mg; de 250 mg en orinas con 1 a 5 g de proteínas

por litro; mayor de 1000 mg en proteinurias entre 10 y 20 g/l y mayor de 2 g cuando la proteinuria sobrepasaba los 20 g/l.

Cuando los resultados de esta serie se analizaron mediante la prueba "t" de Student no se halló diferencia significativa entre ambos métodos, por lo que podemos concluir que a pesar de que para la mayoría de los autores el método del Biuret es superior, según la literatura médica analizada, nuestra pequeña experiencia no confirma ese aserto. Debemos destacar, por último, que resulta difícil hacer comparaciones entre métodos basados en principios disímiles, por lo que es importante, a la hora de evaluar los resultados, conocer el procedimiento empleado.

De los 30 pacientes con nefrosis (cuadro II), 2 eran de origen congénito (los números 11 y 15). El primero de ellos falleció a los 8 meses de edad en un estado infeccioso y de desnutrición extrema, y del otro no hemos vuelto a tener noticias. En ambos los tratamientos empleados fueron ineficaces. De los 22 pacientes que padecían proteinuria cuando fueron examinados, 17 tenían una pérdida proteica superior a 40 mg/m²/hora, que equivale a 960 mg/m²/día, parámetro aceptado por el Grupo Cooperativo Internacional para el estudio de las nefropatías de los niños¹³ como compatible con el síndrome. Esos 17 pacientes también cumplimentaban el requisito exigido por *Habib y colaboradores*¹² para considerar un enfermo como nefrótico, pues todos tenían una pérdida igual o superior a 50 mg/m²/día. Sólo 9 entre ellos tenían proteinuria superior a los 2,5 mg/minuto, cifra señalada por *Hamburger*¹¹ como característica del síndrome nefrótico. Según *Hardwicke y Soot-hill*⁶⁰ una proteinuria superior a 100 mg/kg/día conduce inevitablemente a la formación de edemas, lo que fue confirmado en 11 de nuestros 22 enfermos con ede-

mas. Lo contrario, sin embargo, no fue cierto.

Para *Abramowicz y colaboradores*,¹⁷ *Habib y colaboradores*¹² y *Hamburger*¹¹ la presencia de edemas no es requisito indispensable para hacer el diagnóstico de nefrosis, aunque este último señala que ello le resta una característica original al síndrome.

Aunque la proteinuria es el elemento fundamental, su masividad inicial no guarda relación con el pronóstico a largo plazo de la enfermedad. Si tiene valor su estudio evolutivo o aun en las fases iniciales de la nefrosis cuando se investigan las distintas fracciones excretadas, así como sus aclaramientos relativos.^{4,25,26,60,61}

Debemos señalar que la expresión de la proteinuria en gramos por litro conservará su valor en condiciones en que resulta muy difícil o imposible la recogida de orinas durante un horario rígido, como ocurre con pacientes que asisten a la consulta de urgencia en el Cuerpo de Guardia o con lactantes, en los que una concentración superior a 1 g por litro⁵ o una prueba del ácido sulfosalicílico con 4x sugerirían mucho un síndrome nefrótico.

Nuestros pacientes con nefritis (cuadro III) coinciden en cuanto a edad y sexo a lo publicado por otros autores.^{5,11} Todos presentaron proteinuria al ingreso, excepto uno que la presentó posteriormente en la sala; mientras que cuatro casos que tenían proteinuria al ingreso no la presentaron durante su estadía en el hospital, posiblemente por no haberse repetido el análisis con frecuencia, aunque es bien sabido que en la glomerulonefritis aguda la proteinuria, en ocasiones, sólo persiste por unos pocos días.^{63,64} Esto ha sido explicado por *Squire*, citado por *Dunn*,⁶⁴ como consecuencia de la resorción tubular de proteínas. Sin embargo, en ocasiones esa proteinuria puede prolongarse durante se-

manas o meses, y desaparecer junto con la hematuria.⁷ Para *Earle*,⁶³ el dato más importante para dar por curado un enfermo con glomerulonefritis es precisamente la desaparición de la proteinuria; este autor señala que si ésta se prolonga durante un año o más es indicio de cronicidad. La intensidad de esa proteinuria durante la fase aguda no guarda relación con el pronóstico lejano de la glomerulonefritis difusa aguda,⁶³ como ocurre con el síndrome nefrótico. Para *Addis*, su presencia, en mayor o menor grado, es signo fundamental de la enfermedad⁷ y *Hamburger*,¹¹ faltando sólo excepcionalmente.⁷ *Tidstrom*,⁶⁶ en 24 electroforesis sobre papel, realizadas a igual número de pacientes, no halló patrón alguno que sugiriera la evolución de un paciente dado; sin embargo, señaló que en dos enfermos que evolucionaron hacia la muerte, el análisis mostró aumento de la gammaglobulina con patrón electroforético semejante al del plasma. *Traeger y colaboradores*⁶² señalan que un patrón de proteinuria fisiológica es un dato más fidedigno de curación de una nefritis, que la ausencia de proteínas en la orina determinada por los métodos habituales.

En cuatro de nuestros pacientes (los números 1, 7, 10 y 17) la excreción proteica fue semejante a la hallada en los síndromes nefróticos,^{5,12,13} disminuyendo gradualmente a medida que regresaban los demás síntomas y signos de la enfermedad.

En 11 de los 12 pacientes con infección urinaria aguda se comprobó proteinuria (cuadro IV), aunque sólo en 10 se pudo demostrar posteriormente en la sala. *Dunea y Freedman*⁶⁵ y *Larsson y Thysell*⁶⁷ han comentado la inconstancia de la proteinuria en las infecciones urinarias agudas, y la han hallado solamente en el 20% de sus enfermos. En lo que se refiere al sexo y al agente causal, nuestros resultados concuerdan con lo publicado por distintos

autores,^{5,11} aunque el número de nuestras observaciones es muy pequeño para establecer comparaciones valideras.

La excreción proteica promedio fue muy inferior a la obtenida en las glomerulonefritis, aunque ambas pueden catalogarse como proteinurias agudas por no prolongarse más allá de los 40 días.⁴⁹ En todos nuestros pacientes la pérdida proteica fue inferior a 2 g/día, lo que sugiere la no participación del glomérulo en su génesis,²¹ aunque para *Relman y Levinsky*⁴⁵ en toda proteinuria hay un daño glomerular. *Uehling y Steihm*,⁵⁵ en un estudio sobre infecciones urinarias recurrentes, hallaron en 24 niñas una excreción promedio diaria de 214 mg y en 14 varones de 536 mg, y explicaron que esa diferencia era debida a la mayor frecuencia de patología orgánica en el sexo masculino. La persistencia de una proteinuria como la señalada en pacientes con infecciones urinarias nos debe poner sobre aviso acerca de la posibilidad de que existan anomalías orgánicas.

En años recientes se ha intensificado el estudio de las proteinurias en las infecciones urinarias, más específicamente en las pielonefritis. Ello lo prueban los trabajos de *Tidstrom*,⁶⁶ quien hace referencia a globulinas beta y gamma en la orina, las que no guardan relación con el grado de proteinuria y la afectación renal, y el de *Goddard y Hobbs*,⁶⁷ los que emplearon la cromatografía en Sephadex, en acetato de celulosa y los aclaramientos proteicos.

*López y colaboradores*⁶⁰ señalan que en las nefritis intersticiales, de diversos tipos, existe en la electroforesis en papel un patrón de daño tubular, aunque se observa más típicamente en las tubulopatías congénitas. Este trazado tubular es para *Traeger y colaboradores*⁶² distinto del de las proteinurias de origen glomerular. Según esos autores, en las pérdidas tubulares de proteínas intervendrían la reabsorción tu-

CUADRO X

PROTEINURIA NORMAL. VALORES PROMEDIO SEGUN DISTINTOS AUTORES

Lytle (citado por Galán) ²¹	70 mg/día
Addis ²	60 mg/día
Rigas y Heller ⁶⁸	39 mg/día
Sellers y Marsmorstom ⁶⁹	100 mg/día
Gunton y Burton (citados por Wakin y McKenzie) ⁷⁰	37 mg/día
Moerner (citado por Wakin y McKenzie) ⁷⁰	22-78 mg/día
Mello (citado por Jorgensen) ⁷¹	126 mg/día
Jorgensen ⁷¹	118 mg/día/1,73 m ² SC
Miatello ⁶⁹	100 mg/día
Peterson et al ⁷²	80 mg/día
Uheling y Steihm ⁵⁵	17 mg/día
Rubin y Baliah ⁷²	30-100 mg/día
López et al ⁶⁰	30-100 mg/día
James ³⁵	50-150 mg/día
Tidstrom ⁶⁶	2,5 mg/hora
McKay y Slater ⁵⁴	0,04 mg/minuto
Hamburger ¹¹	0,04 mg/minuto
Poortsman y Jeanloz ⁵⁴	0,035-0,046 mg/minuto

bular selectiva, la secreción tubular y la degradación de las proteínas a su paso por los túbulos.

Todos los investigadores están de acuerdo en que existe una proteinuria normal o fisiológica (cuadro X), aunque sus límites varían apreciablemente según los diferentes autores.

Registrada en gramos por litro, nuestro máximo de 0,036 se encuentra muy por debajo del tope señalado por *Relman* y *Levinsky*,⁴⁸ que es de 0,200 g/litro, a despecho del volumen urinario. El valor promedio expresado en gramos por día fue

en nuestros pacientes de 0,017, por debajo de lo señalado por autores como *Lytle*,²¹ *Sellers* y *Marsmorstom*,⁶⁹ *Miatello*,⁶⁹ *Peterson* y colaboradores⁷² y *James*.³⁵ En nuestro criterio, esta forma de expresar la proteinuria no es la más correcta, ya que para nada toma en cuenta el peso del paciente y, por ende, su superficie corporal.

En cuanto al promedio de excreción proteica urinaria expresado en miligramos por minuto, estamos dentro de los límites establecidos por *McKay* y *Slater*,⁵⁴ *Poortsman* y *Jeanloz*,⁵⁴ y *Hamburger*,¹¹ pues fue de 0,012 mg/minuto.

En relación a la excreción dada en miligramos por metro cuadrado por día, el promedio hallado fue de 16, muy inferior al establecido por Jorgensen.⁷¹ Estas diferencias, que no son notables, creemos se deben fundamentalmente a la diversidad de métodos empleados en la determinación de la proteinuria normal o fisiológica.

Como era de esperarse, los valores más bajos de eliminación se hallan en el sujeto en reposo.⁷² Según Jorgensen,⁷¹ la cantidad de proteínas que aparece normalmente en la orina no tiene relación con la edad, aunque otros, como Maiorca (citado por Menghi),⁷³ afirman que la tasa de excreción es menor por debajo del año

de edad. Según Rubin,⁶ hay una proteinuria acentuada durante el período neonatal, lo que no ha sido confirmado por Rubin y Bahiah,⁷² quienes estiman que esa proteinuria que se ha informado como intensa en el recién nacido se debe a artefactos producidos en la técnica, debido a la gran eliminación de uratos en ese período de la vida.

Como resumen, podemos afirmar que aunque nuestra casuística no es muy extensa, los resultados alcanzados se superponen en su mayoría a los publicados por otros autores, y que las pequeñas discordancias halladas pueden explicarse por la diferente metodología empleada.

SUMMARY

Cotayo Llizo, J. D. et al. *Proteinuria in infancy. A comparative study between sulfosalicylic and indicator paper qualitative methods and Shevky-Stafford's and biuret quantitative methods.* Rev Cub Ped 47: 6, 1975.

Urinary protein excretion was determined in 30 patients with nephrotic syndrome, 31 patients with acute diffuse glomerulonephritis in early stages, 12 patients with acute urinary infection and 10 healthy children. Excretion was expressed as: grams/days, mg/m²/day, mg/min and mg/kg/day. Concentration was expressed as grams/liter. In qualitative determinations Combistix indicator paper and 20% sulfosalicylic acid methods were used; a comparative study was made and it was concluded that the second one is better. In quantitative determinations biuret and Shevky-Stafford's methods were used; both methods were compared and no statistically significant difference was found although the biuret one is recommended since it is widely used and, according to medical literature, it is more accurate. In this series, a proteinuria within limits reported by other authors was found in children with nephrotic syndrome, acute diffuse glomerulonephritis, urinary infection and in healthy ones. The significance of this determination in the diagnosis, prognosis and course of infancy nephropathies is stressed.

RESUME

Daniel Cotayo Llizo, J. et al. *Protéinurie dans l'enfance. Etude comparative des méthodes qualitatives de l'acide sulphasalicylique et le rôle indicateur, et les méthodes quantitatives de Shevky-Stafford et biuret.* Rev Cub Ped 47: 6, 1975.

On a déterminé l'excrétion protéique urinaire dans 30 cas de syndrome néphrotique, dans 31 de glomérulonéphrite diffuse aiguë dans leur étapes initiales, dans 12 porteurs d'infection urinaire aiguë et dans 10 enfants sains. L'excrétion se traduit: en grammes par jours, milligrammes par mètre carré par jour, milligrammes par minutes et milligrammes par kilogrammes par jour, ainsi que la concentration, en grammes, par litre. Pour les déterminations qualitatives on a utilisé les méthodes du rôle indicateur Combistix et de l'acide sulphasalicylique au 20%. On a fait une étude comparative des deux, et on est arrivé à la conclusion de que la deuxième est supérieure. Pour la détermination quantitative on a utilisé les méthodes du biuret et de Shevky-Stafford, et on a comparé les deux, mais on n'a pas trouvé de différence statistiques significative dans cette série; on conseille la méthode du biuret car elle est la plus généralisée et la plus fidèle suivant la littérature médicale révisée. Dans cette série les protéinuries du syndrome néphrotique, de la glomérulonéphrite diffuse aiguë et de l'infection urinaire, ainsi que celle des enfants sains, ont été trouvées dans les limites données par d'autres auteurs. On souligne l'importance de cette détermination dans le diagnostic, pronostic et évolution des néphropathies dans l'enfance.

РЕЗЮМЕ

Даниел Котайо Лызо Х., и др. Протеинурия в детстве. Сравнительная изучения между качественными методами сульфосалициловой кислоты и указательный роль и количественных Шевский-Стаффорда и Бюурета. *Rev Cub Ped* 47:6, 1975.

Определили мочевой выделения белка у 30 случаев нефротического синдрома, у 31 случаев острым диффузным гломерулонефритом в первичных этапах, у 12 пациентов острыми мочевыми инфекциями и у 10 здоровых детей. Выделение выражали на: граммах в день, миллиграммах на M^2 в ДНБ, миллиграммах в минут и миллиграммах/Кг. в день, а также концентрация в граммах на литр. Для количественных определении используется метода определительного бумажка "Камбистикс" и сульфосалициловой кислоты на - 20% ; проводили сравнительную изучению между обеих, пришли к выводу что второй является вышшим. Для количественную определению применяли методику Бюурета и Шевского-Стаффорда и сопоставляли обеих, не находя значительных статистических разниц ; рекомендуется метода Бюурета так как имеет генерализованную применению. В этом группе протеин нефротического синдрома, острого диффузного гломерулонефрита и мочевой инфекции, также как того здоровых детей, находились в пределах указанных другими авторами. Подчеркивается значение этого определения при диагноз, прогноз и эволюции нефропати в детстве.

BIBLIOGRAFIA

1. Kark, R. M. Renal biopsy and prognosis. *Ann Rev Med* 18: 269, 1967.
2. Addis, T. Glomerular nephritis. Diagnosis and treatment, p. 2, 3. The Macmillan Company, New York, 1949.
3. Fishberg, A. M. Hypertension and nephritis. 5th Ed, p. 119, Lea & Febiger, Philadelphia, 1954.
4. Rennie, I. D. Proteinuria. Clinicas médicas de Norteamérica. Enfermedades del riñón, p. 213, Instituto Cubano del Libro, La Habana, 1972.
5. Normas de Pediatría, tomo 2, p. 71, 79, 85, Instituto Cubano del Libro, La Habana, 1971.
6. Rubin, M. I. Acute glomerulonephritis, en: Nelson, W. E., Vaughan V. C., McKay, R. J. Textbook of pediatrics, 9th Ed, p. 1124, WB Saunders Co., Philadelphia, 1969.
7. McCrory, W. W., M. Shibuya. Acute glomerulonephritis in childhood, *NY State J Med* 68: 2416, 1968.
8. Blaufox, M. D. Systemic arterial hypertension, en: Barnett, H. L., Einhorn, A. H. Pediatrics, 15th Ed, p 1437, Appleton-Century-Crofts, New York, 1972.
9. Borrego Abid Alli, M. et al. Biopsia renal d'rigida por fluoroscopia televisada, en este número de la Revista Cubana de Pediatría.
10. Schreiner, G. E. El síndrome nefrótico, en: Straass, M. B., Welt, L. G. Enfermedades del riñón, p. 307, "El Atenco", Buenos Aires, 1966.
11. Hamburger, J. Nefrologia, tomo 1, p. 301, Ediciones Toray, Barcelona, 1967.
12. Habib, R. et al. Le syndrome nephrotique primitif de l'enfant. Classification et étude anatomo-clinique de 406 observations, *Arch Fr Pediatr* 28: 277, 1971.
13. Abramowicz, M. et al. Controlled trial of azathioprine in children with nephrotic syndrome. A report for the International Study of Kidney Disease in Children, *Lancet* 1: 959, 1970.
14. Arneil, G. C. The nephrotic syndrome. *Pediatr Clin North Am* 18: 547, 1971.
15. Edelmann, C.M. Jr. The idiopathic nephrotic syndrome of childhood, en: Barnett, H. C., Einhorn, A. H. Pediatrics, 15th Ed, p 1499, Appleton-Century-Crofts, New York, 1972.
16. Callis, L. et al. Resultados terapéuticos en 103 casos de síndrome nefrótico en la infancia. *Rev Esp Pediatr* 29: 811, 1973.
17. Kleeman, G. R. et al. Pyelonephritis. *Medicine* 39: 3, 1960.
18. Parra Hernández, R. et al. Urocultivo por punción vesical. Estudio comparativo entre este método y el del echorro medio para la obtención de la muestra de orina, en este número de la Revista Cubana de Pediatría.
19. Barceló, R., V. Pollak. A preliminary immunologic study of urinary proteins, *Can Med Assoc J* 94: 269, 1969.
20. King, S. E., C. Gronbeck. Benign and pathological albuminuria. A study of 600 hospitalized cases. *Ann Intern Med* 36: 765, 1952.

21. Galán, E. Nefropatías del niño. Rev Cub Pediatr 43: 387, 1942.
22. Sheeky, M. C., D. D. Stafford. A clinical method for the estimation of protein in urine and other body fluids. Arch Intern Med 32: 222, 1923.
23. Hiller, A. et al. Determination of protein in urine by the biuret method. J Biol Chem 176: 1421, 1948.
24. Robinson, R. et al. Fixed and reproducible proteinuria. Am J Pathol 39: 291, 1961.
25. Salavarría, J. Trabajo de terminación de la residencia. Instituto de Nefrología. Comunicación personal.
26. Kory, M., S. D. Waife. Kidney and urinary tract infections, p. 38. Lilly Research Laboratories, Indianapolis, 1962.
27. Lippman, R. W. Urine and the urinary sediment, p. 96. Charles C. Thomas, Springfield, 1952.
28. Lynch, M. J. et al. Medical Laboratory Technology and Clinical Pathology. 2nd Ed. p. 99. Edición Revolucionaria. Instituto Cubano del Libro, La Habana, 1972.
29. McFarlane, H. A simple rapid method of concentrating urine for protein electrophoresis. Clin Chim Acta 9: 376, 1964.
30. Clough, G., T. G. Reah. A protein error. Lancet 1: 1218, 1961.
31. Mathe, G., G. Richet. Semiología médica y propedéutica clínica, p. 247. Editorial Jims, Barcelona, 1969.
32. Larsson, S. O., H. Thysell. Are proteinuria tests reliable as screening method for renal disease? Acta Med Scand 186: 313, 1969.
33. Watson, D. Limitations in clinical use of screening tests for proteinuria. Clin Chem 10: 559, 1964.
34. Baron, D. N., F. Newman. Assessment of a new simple colorimetric test for proteinuria. Br Med J 1: 980, 1958.
35. James, J. A. Renal disease in childhood. 2nd Ed, p. 48. CV Mosby Co, Saint Louis, 1969.
36. Randolph, M. F., M. Greenfield. Proteinuria. Am J Dis Child 114: 631, 1967.
37. Marks, M. L. et al. Proteinuria in children with febrile illness. Arch Dis Child 45: 250, 1970.
38. Lane, M. R., R. H. Pearce. Test for proteinuria. A comparison of two new commercial products with standard test. Can Med Assoc J 79: 843, 1958.
39. Free, A. H. et al. Studies with a new colorimetric test for proteinuria. Clin Chem 3: 716, 1957.
40. Muth, R. G. Asymptomatic mild, intermittent proteinuria. Arch Intern Med 115: 569, 1965.
41. Longfield, G. M., et al. Comparison studies of simplified test for glucosuria and proteinuria. Am J Clin Path 33: 550, 1960.
42. Wells, M. R., G. K. McGowan. The reliability of the albutix test for proteinuria. J Clin Pathol 16: 487, 1963.
43. Frazer, S. C. Laboratory trial of a paper strip for proteinuria. Br Med J 1: 981, 1958.
44. Black, N. S. et al. Survey of results of uristix examination by the overseas immigration medical service. Med Ser J Can 21: 15, 1965.
45. Dunea, G., P. Freedman. Proteinuria. JAMA 203: 973, 1968.
46. Harlan, W. R. et al. Proteinuria and nephrotic syndrome associated with chronic rejection of kidney transplants. N Engl J Med 277: 769, 1967.
47. Wagner, M. G. et al. Epidemiology of proteinuria. A study of 4807 school children. J Pediatr 73: 825, 1968.
48. Relman, A. S., N. G. Levinsky. Examen clínico de la función renal. En: Strauss, M. B., L. G. Welt. Enfermedades del riñón, p. 75. "El Ateneo", Buenos Aires, 1966.
49. Viatello, V. R. Nefrología, p. 122. Edición Revolucionaria. Instituto del Libro, La Habana, 1968.
50. Hardwicke, J., J. F. Soothill. Proteinuria. En: Black dak; Enfermedades del riñón, p. 260. Editorial Espaxs, Barcelona, 1970.
51. Laguna, J. Bioquímica, p. 306. Cooperativa del Libro, La Habana, 1961.
52. Haurowitz, F. Introducción a la bioquímica, p. 206. Edición Revolucionaria. Instituto del Libro, La Habana, 1970.
53. Química, Tomo 2, p. 141. Instituto Cubano del Libro, La Habana, 1967.
54. McKay, E., R. J. Slater. Studies on human proteinuria. Some characteristics of the gammaglobulins excreted in normal, postural and nephritic proteinuria. J Clin Invest 41: 1638, 1962.
55. Uheling, D. T., R. Steinh. Elevated urinary secretory IgA in children with urinary tract infections. Pediatrics 47: 40 1077.
56. Harrison, F., B. Northman. Low molecular weight urine protein investigated by gel filtration. Clin Chim Acta 14: 679, 1966.
57. Vargas, G. L. Nuevo método de exploración cuantitativa de la orina. Rev Venez Urol 17: 135, 1965.

58. *Gregoire, F. et al.* The mechanism of proteinuria, and study of the effects of hormonal therapy in the nephrotic syndrome. *Am J Med* 25: 516, 1958.
59. *Loery, O. H. et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265, 1951.
60. *López, A. et al.* Consideraciones acerca de la biología de las proteinurias. *Rev Med Univ Navarra* 15: 117, 1971.
61. *Robson, J. S.* Síndrome nefrótico. *En: Black dak: Enfermedades del riñón*, p. 284, Editorial Espaxs, Barcelona, 1970.
62. *Traeger, J. et al.* Valor semiológico del análisis electroforético de las proteínas urinarias. *Progresos de Patología y Clínica* 15: 317, 1967.
63. *Wilson, C.* Historia natural de la nefritis. *En: Black dak: Enfermedades del riñón*, p. 235, Editorial Espaxs, Barcelona, 1970.
64. *Dunn, M. J.* Acute glomerulonephritis with normal results from urinalysis. *JAMA* 201: 933, 1967.
65. *Earle, P.* Glomerulonefritis. *En: Beeson, P. B., W. McDermott: Tratado de medicina interna de Cecil-Loeb*, tomo I, p. 809, Edición Revolucionaria, Instituto Cubano del Libro, La Habana, 1971.
66. *Tidstrom, B.* Urinary proteins in glomerulonephritis and pyelonephritis. *Acta Med Scand* 174: 385, 1963.
67. *Goddard, P. E., J. Hobbs.* Pyelonephritis. *Proc Roy Soc Med* 61: 335, 1968.
68. *Rigas, D.A., C.G. Heller.* The amount and nature of urinary proteins in normal human subjects. *J Clin Invest* 30: 853, 1951.
69. *Sellers, A. L., J. Marsmorston.* Electrophoretic study of human urinary proteins in disease. *J. Lab Clin Med* 47: 248, 1956.
70. *Wakin, K. G., B. F. McKenzie.* Invalidation of the hypothesis of dysproteinemia as a cause of proteinuria in experimental nephrosis. *J Lab Clin Med* 55: 510, 1960.
71. *Jorgensen, M. B.* A gel filtration method for the determination of protein in normal urine. *Acta Med Scand* 181: 153, 1967.
72. *Rubin, M., M. M. Baliah.* Urinalysis and its clinical interpretation. *Pediatr Clin North Am* 18: 235, 1971.
73. *Peterson, A. et al.* Differentiation of glomerular, tubular, and normal proteinuria. Determination of urinary excretion of B₂ microglobulin, albumina, and total protein. *J Clin Invest* 48: 1189, 1969.
74. *Poortsmann, J., R. W. Jeanloz.* Quantitative immunological determination of twelve plasma proteins excreted in urine in normal subjects before and after exercise. *J Clin Invest* 47: 386, 1968.
75. *Menghi, P.* La proteinuria nell'infanzia. *Minerva Med* 60: 1508, 1969.

Recibido el trabajo: Mayo 27, 1975.