

PROTEÍNA URINÁRIA

MÉTODO:

Vermelho de Pirogalol.

FINALIDADE:

Reagentes para a determinação quantitativa de proteína na urina e no líquido com reação de ponto final.

Somente para uso diagnóstico in vitro.

FUNDAMENTO:

A proteína presente na amostra reage com o vermelho de pirogalol e o molibdato, em meio ácido, formando um complexo colorido. A intensidade da cor formada é diretamente proporcional à concentração de proteína na amostra.

SIGNIFICADO CLÍNICO:

O aumento ou a diminuição do valor de proteína na urina são marcadores importantes do prognóstico renal de um paciente. Assim, em pacientes com doença renal a pesquisa de proteinúria constitui um elemento importante no diagnóstico e no acompanhamento.

A urina de pessoas saudáveis não contém proteínas ou contém somente em pequenas quantidades (até 140 mg/24 horas ou 15 g/dL); normalmente o glomérulo evita a passagem das proteínas do sangue para o filtrado glomerular.

Alterações glomerulares causam o aumento da permeabilidade das proteínas plasmáticas o que ocasiona a proteinúria.

Existe também a proteinúria de sobrecarga, quando o material protéico se origina de fontes extra-renais, como a hemoglobina decorrente da hemólise intravascular ou a imunoglobulina do mieloma.

A nefropatia diabética franca é geralmente acompanhada de proteinúria intensa (3 a 4 g/24 horas).

O exame de proteína no líquido é usado principalmente para detectar o aumento de permeabilidade da barreira hematoencefálica ou o aumento de produção intratecal e imunoglobulinas. A permeabilidade da barreira hematoencefálica a proteínas do plasma é aumentada pela pressão intracraniana devido a tumor cerebral, hemorragia intracerebral, lesão traumática, inflamação devida a meningite bacteriana ou por vírus, encefalite ou poliomielite.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:

Conservar entre 2 e 8°C.

RGT Reagente de Cor: Ácido Succínico 0,05mol/L, pH 2,5; Vermelho de pirogalol 0,04 mol/L; Molibdato de Sódio 0,13 mmol/L; Oxalato de Sódio 1,0 mmol/L; Benzoato de Sódio 0,35 mmol/L; SDS 0,1 mmol/L.

STD Padrão de Proteína: Solução de Albumina Bovina 1000 mg/L; azida sódica 0,02%.

ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenado entre 2 e 8°C. Se abertos, evitar contaminação. Não congelar e manter ao abrigo da luz.

TRANSPORTE:

O transporte do kit deve ser feito pela rota mais direta evitando-se as chegadas nos finais de semana e feriados no local de destino. O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 7 dias e em uma temperatura de até 37°C.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PREPARO DO REAGENTE DE USO:

O reagente de cor e o padrão estão prontos para uso.

PRECAUÇÕES:

- O nível de água do banho-maria deve ser superior ao dos tubos de ensaio que contém as reações.
- Os reagentes não necessitam serem tratados como amostras contaminantes.
- Como não se pode assegurar que amostras biológicas e soros controle não transmitam infecções, recomenda-se manuseá-las de acordo com as instruções de biossegurança;
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
- Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

AMOSTRA BIOLÓGICA:

• Urina:

Utilizar urina de 24 horas. Não há necessidade da adição de conservantes.

Estável 7 dias entre 2 e 8°C.

Homogeneizar a urina, medir o volume e separa uma alíquota de cerca de 20 mL.

Centrifugar por 10 minutos a 3.000 rpm. Utilizar o sobrenadante para o teste.

• Líquor:

Estável por 4 dias entre 2 e 8°C.

Centrifugar por 10 minutos a 3.000 rpm. Utilizar o sobrenadante para o teste.

INTERFERÊNCIAS:

Líquor: hemólise.

A presença de detergentes (surfactantes) na amostra ou seus resíduos em materiais e/ou equipamentos de laboratório interferem com a reação. A presença de Lauril sulfato de sódio (0,1%) e Triton X100 (1%) também causam interferência.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Fotômetro UV/VIS,
- Pipetas

MÉTODO DE ANÁLISE:

Leitura em espectrofotômetro:

Comprimento de onda: 600 nm (580 - 620 nm)

Cubeta: 1 cm

Temperatura: 37°C

Medida: Contra reagente branco. Somente um reagente branco por série é necessário.

Esquema de pipetagem:

Pipetar tubos cubetas	em ou	Branco	Padrão	Amostra
STD		---	20 µL	---
Amostra		---	---	20 µL
RGT		1000 µL	1000 µL	1000 µL

Homogeneizar bem e incubar por 5 minutos a 37°C.
Medir a absorbância do Padrão e da Amostra frente ao Branco de Reagente. A cor final da reação é estável por 30 minutos.

CÁLCULO DA CONCENTRAÇÃO PARA URINA E LÍQUOR:

$$\text{Proteína (mg/L)} = \text{Concentração do Padrão (mg/L)} \times \frac{\Delta A_{\text{amostra}}}{\Delta A_{\text{STD}}}$$

Exemplo:

Concentração do Padrão: 1000 mg/L

Absorbância da Amostra: 0,006

Absorbância do Padrão: 0,156

Proteína Urinária (mg/L) = (0,006/0,156) x 1000 = 38 mg/L

Com Fator de Calibração:

Fator de Calibração (FC) = Concentração do Padrão / Absorbância do Padrão

Proteína (mg/L) = Absorbância da Amostra x Fator de Calibração

Exemplo:

FC = 1000 / 0,156

FC = 6410

Proteína (mg/L) = 0,006 x 6410

Proteína (mg/L) = 38 mg/L

Cálculo para Proteína Urinária (mg/24 horas):

Proteinúria (mg/24 horas) = Proteinúria (mg/L) x volume urinário 24 horas (L)

Urina (mg/24 horas) = 38 (mg/L) x 1,2 (L) = 46 mg/24 horas

AUTOMAÇÃO:

Adaptação especial para analisadores está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada.

LINEARIDADE:

O teste é linear até a concentração de proteína de 3000 mg/L. Para valores superiores diluir com água deionizada, realizar nova dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

VALOR DE REFERÊNCIA:

	CRIANÇAS	ADULTOS
Líquor	300 - 1000 mg/L	150 - 450 mg/L

	ADULTOS E CRIANÇAS	GESTANTES
Urina	≤ 100 mg/24h	≤ 150 mg/24h

Os intervalos devem ser usados apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

CONTROLE DE QUALIDADE:

Todo controle de urina contendo valores determinados para Proteína Urinária pode ser empregado.

RECUPERAÇÃO EM SOROS CONTROLES:

Controles de Urina comercialmente disponíveis foram usados. Os soros controle foram reconstituídos/preparados de acordo com as instruções do fabricante. Os valores medidos foram comparados com os valores alvos. A recuperação dos soros controle se encontrou dentro da faixa de aceitabilidade tanto testado manualmente como em um analisador automatizado.

REPETIBILIDADE:

N	Média (mg/L)	DP (mg/L)	% CV
25	1012	22,2	2,2
25	453	8,2	1,8

REPRODUTIBILIDADE:

N	Média (mg/L)	DP (mg/L)	% CV
25	1006	23,4	2,3
25	457	9,5	2,1

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:

O kit Proteína Urinária foi comparado contra um método de proteína urinária comercialmente disponível. Controles de Urina bem como amostras de pacientes

REV. 05/20

InVitro

foram empregados na comparação. Foram avaliados os resultados obtidos pelos métodos utilizados e também através de uma equação de regressão não-paramétrica de acordo com Bablok & Passing. A regressão linear obtida foi:

N = 42
r = 0,99759
Y = 1,0035*X - 5,4846
X_{média} = 104 mg/L
Y_{média} = 99 mg/L

Ambos os métodos mostraram uma boa concordância e um desvio não significativo foi observado em algumas amostras específicas.

APRESENTAÇÃO DO KIT:

Catálogo	Componente	Quant./Volume	Nº Testes
04650-2	RGT	2 x 50 mL	100
	STD	1 x 5 mL	

BIBLIOGRAFIA:

1. Watanabe, N. et al. Urinary protein as measured with pyrogallol red-molibdate complex, manually and in a Hitachi 726 automated analyzer **Clin. Chem.** V. 32, p. 1551 - 1554, 1986.
2. ORSONNEAU, J. L. et al. An improved pyrogallol red-molybdate method for determining total urinary protein. **Clin. Chem.** v.35, p. 2233 - 2236, 1989.
3. BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R. **Tietz textbook of Clinical Chemistry**, 4 ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1994, p. 836.
4. YOUNG, D. S. **Effects of drugs on clinical laboratory tests** - vol. 2, 5 ed. Washington DC: AACC Press 2000.
5. WESTGARD, J. O. et. Al. A multi-rule shewart chart quality control in clinical chemistry. **Cli. Chem.**, v.27 p. 493-501, 1981.

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:

Telefax (31) 3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br

N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

Produzido e Distribuído por In Vitro Diagnóstica Ltda
Rua Cromita, 278, Distrito Industrial - Itabira/MG. CEP: 35903-053
Telefone: 31-3067-6400 - Fax: 31-3067-6401
e-mail: invitroms@invitro.com.br
Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela - CRF 4463
Reg. M.S. 10303460463 Classe de Risco: II

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO



O conteúdo é suficiente para <n> testes



Data limite de utilização



Limite de temperatura (conservar a)



Número do Catálogo



Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico In Vitro



Data de Fabricação