Proteína Urinária - SNIBE

MÉTODO
Vermelho de Pirogalol.

FINALIDADE
Reagentes para a determinação quantitativa de proteína na urina e no líquor com reação de ponto final. Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.

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 sobregcarga, 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 líquor 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%.

PREPARO DO REAGENTE DE USO
O reagente de cor e o padrão estão prontos para uso.

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 37ºC.

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

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 transmitem 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.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS
Tipo de amostra:
• **Urina:** Utilizar urina de 24 horas. Não há necessidade da adição de conservantes. 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.

Estabilidade da amostra: Estável 7 dias entre 2 e 8°C.

• **Liquor:** Centrifugar por 10 minutos a 3.000 rpm. Utilizar o sobrenadante para o teste.

Estabilidade da amostra: Estável por 4 dias entre 2 e 8°C.

• O transporte da amostra biológica, quando necessário, deve ser feito pela rota mais direta e evitando sua chegada nos finais de semana e feriados no local de destino. A amostra biológica deve ser acondicionada em recipiente hermeticamente fechado, embalada de forma a mantê-la em temperatura recomendada desde o remetente até a entrega ao destinatário. Esta amostra deve ser identificada com o símbolo de amostra biológica.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS
Equipamento de bioquímica automático, pipeta, ponteira e lixo para descarte. Os materiais não fornecidos podem ser adquiridos no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

MÉTODO DE ANÁLISE
A. Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda: 600 nm (580 - 620 nm)
Cubeta: 1 cm
Temperatura: 37ºC
Medida: Contra reagente branco. Somente um reagente branco por série é necessário.

B. Procedimento de teste:

Pipetar em tubos ou cubetas	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
Proteína (mg/L) = Concentração do Padrão (mg/L) x $\frac{\Delta A_{amostra}}{\Delta A_{STD}}$

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

CALIBRAÇÃO
Use o Padrão de Proteína STD que está pronto para uso. O Fator utilizado deve ser verificado regularmente. Inserir no analisador o valor definido para este parâmetro. Recomendamos a verificação da validade da calibração antes de cada corrida. A recalibração deve ser realizada quinzenalmente ou:
-Sempre que os controles se encontrarem fora da faixa;
-Depois da troca de lote de reagente;
-De acordo com o requerido no controle de qualidade interno.

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. Recomendamos a utilização de nossos soros controle da linha Multicontrole de Bioquímica - Snibe.

AUTOMAÇÃO
Adaptação especial para analisadores automáticos de bioquímica está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada para o Departamento de Serviços Associados.

RASTREABILIDADE
A concentração de proteínas no Padrão (Nº 2) é rastreável ao Standard Reference Material (SRM) 927 do National Institute of Standards and Technology (NIST).

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

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

Precisão
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

Sensibilidade
A partir da média do desvio padrão a sensibilidade pode ser calculada utilizando 3 desvios padrões (DP): Sensibilidade: 3 x 2,8 = 8,4 mg/L.

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.

Interferentes
Liquor: 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 (o,1%) e Trtiton X100 (1%) tanbém causam interferência.

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.

APRESENTAÇÃO DO KIT

N° Cat.	Reagente	Volume
824-1	RGT	1 x 50 mL
	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 drugus 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:
Telefone: +55(31) 3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br
N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

Fabricado e Regularizado por: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.
Telefone: +55(31) 3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br
Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463

ANVISA: 10303460606 Classe de Risco: II

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO

	Data limite de utilização
	Limite de temperatura (conservar a)
REF	Número do Catálogo
	Consultar Instrução de Uso
LOT	Número do lote
IVD	Produto Diagnóstico In Vitro
	Data de Fabricação