

Bioclin

BIOPROT U/LCR

K108

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Método para determinação da proteína total em amostras de urina e líquor. Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Teste colorimétrico - Vermelho de Pirogalol

As proteínas presentes na urina reagem com o vermelho de pirogalol e o molibdato formando um complexo de cor vermelha, com absorção máxima em 600 nm (580 – 620 nm). A intensidade de cor formada é diretamente proporcional a concentração de proteína na amostra.

REAGENTES

Reagente nº 1: Reagente de cor – Contém: Vermelho de Pirogalol 60 µmol/L, Molibdato de Sódio 40 µmol/L, detergente e conservante. Conservar entre 2 e 8°C.

Reagente nº 2 - Padrão – Contém: Proteínas 65 mg/dL, e conservante. Conservar entre 2 e 8°C .

Reagentes	Apresentações			
	1	2	3	4
Reagentes de cor	1 x 25 mL	2 x 25 mL	3 x 25 mL	4 x 25 mL
Padrão	1 x 3,0 mL	1 x 3,0 mL	1 x 3,0 mL	1 x 3,0 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Para a realização da técnica são necessários espectrofotômetro ou colorímetro, relógio ou cronômetro, pipetas e tubos de ensaio. Os equipamentos e vidrarias podem ser encontrados no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento e transporte deverá ser de 2 e 8°C. O transporte em temperaturas entre 15 e 30°C não deverá exceder 72 (setenta e duas) horas. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. Não congelar!

CUIDADOS ESPECIAIS

1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

2 - Seguir com rigor a metodologia proposta, para obtenção de resultados exatos.

3 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.

4 - Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, ions diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.

5- A presença de detergente no material utilizado pode alterar significativamente os resultados.

6 - A calibração deve ser repetida periodicamente, para verificar alguma alteração na resposta do colorímetro ou do espectrofotômetro.

7 – Os reagentes Nº 1 e Nº 2 contêm azida, irritante para pele e mucosa. Manusear com cuidado.

8 - O descarte do material utilizado deverá ser feito de acordo com os critérios de biossegurança estabelecidos pela legislação vigente.

AMOSTRAS

1. Urina (amostra aleatória)

2. Urina de 24 horas

3. Fluido cerebroespinhal (líquor).

Preparação das amostras:

Urina – Não há necessidade de conservantes. Retirar uma alíquota de 20 mL de urina, centrifugar e proceder a técnica utilizando o sobrenadante.

Líquor – Centrifugar a amostra e utilizar o sobrenadante.

Em amostras de urina armazenadas entre 2 e 8°C, a proteína se mantém estável durante dois (02) dias, 1 dia entre 20 e 25 °C e 1 ano a – 20°C. Em amostras de líquor, é estável 1 dia entre 20 e 25 °C, 6 dias entre 4 e 8 °C e 1 ano a -20 °C. A amostra para controle terapêutico deve ser colhida sempre no mesmo horário.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

1. Preparo dos reagentes

O reagente e o padrão estão prontos para uso.

2. Técnica

Marcar 3 tubos de ensaio com as letras B (Branco), P (Padrão), A (Amostra) e proceder como a seguir:

Técnica	“B”	“P”	“A”
Amostra	-	-	50 µL
Padrão	-	50 µL	-
Água destilada	50 µL	-	-
Reagente	1000 µL	1000 µL	1000 µL

Homogeneizar e incubar por 5 minutos a 37°C e ler a absorbância em filtro de 600nm (580 a 620), contra um branco de reagente em no máximo 30 minutos.

Cálculos

A determinação da concentração de proteínas totais em urina e líquor é calculada pela relação:

Proteína (mg/dL)= ​​Absorbância da Amostra × 65​​​​Absorbância do Padrão​

Exemplo:

Em uma dosagem de proteínas totais no líquor, foram obtidos os seguintes valores de absorbâncias:

Absorbância da amostra = 0,201

Absorbância do padrão= 0,360

Concentração do padrão = 65

Proteína (mg/dl)= ​​0,201 × 65​​​​36,29 mg/dL​​0,360​

Como a reação de cor segue a Lei de Lambert-Beer, pode-se usar o Fator de Calibração:

Fator de Calibração = ​​Concentração do Padrão × Absorbância do Padrão​​

Exemplo

Fc= ​​65 × 180,55​​​​0,360​

Proteína (mg/dL) = Absorbância da Amostra x Fc

Proteína (mg/dl) = 0,201 x 180,55 = 36,29

Os resultados serão expressos em mg/dL.

Urina de 24 horas

Proceder a dosagem da urina de 24 horas utilizando uma alíquota do volume total. Esta alíquota deve ser centrifugada. A concentração em mg/24h é obtida utilizando-se o resultado da dosagem da alíquota (mg/ dL) multiplicando este valor pelo volume total urinário (em mL) e dividindo o resultado por 100.

Proteína em Urina de 24 horas (mg/24h) =

Dosagem da alíquota (mg/dL) x Volume de 24 horas (mL)
100

Exemplo:

Em uma dosagem de proteínas totais na urina de 24 horas, foi obtido o seguinte resultado:

Dosagem da amostra (mg/dL) = 5,0

Volume urinário de 24 horas (mL) = 2000 mL

Proteína em Urina de 24 horas (mg/24h) = ​​5,0 × 2000​​​​100​

LINEARIDADE

A reação é linear até a concentração de 100 mg/dL.

Para valores superiores, diluir a amostra com solução de NaCl 0,85% e repetir a dosagem. Multiplicar o resultado assim obtido pelo fator de diluição empregado.

INTERFERENTES

Presença de sangue na urina ou líquor produz resultados falsamente elevados. A presença de detergente no material utilizado pode alterar significativamente os resultados.

CONTROLE INTERNO DA QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas e limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos.

É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de soros controle, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência foram obtidos através da determinação de Proteínas Totais em populações sadias, do sexo masculino e feminino.

Urina Aleatória: 1 a 15 mg/dL

Urina de 24 horas: 24 a 141 mg/24 h

Líquor: 15 a 45 mg/dL

Para converter os valores de mg/dL para g/L (SI), multiplicar os resultados obtidos por 0,01. Estes valores devem ser usados apenas como orientação. Cada laboratório deverá criar sua própria faixa de referência, de acordo com a população atendida.

DESEMPENHO DO PRODUTO

1. Exatidão

Comparação de métodos

O kit BIOPROT U/LCR foi comparado com outros métodos comercialmente disponíveis para dosagem da proteína total na urina. Para este teste, foram analisadas cinco (05) amostras clínicas.

Os resultados obtidos permitiram a construção da equação linear Y = 0,9942x + 2,7848 e o coeficiente de correlação = 0,9993. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

2. Precisão

Reprodutibilidade

Foram realizadas 20 dosagens sucessivas com três amostras,

obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	1	2	3
Concentração média (mg/24h)	58,35	110,15	220,00
Desvio Padrão (mg/24h)	1,98	2,08	3,06
Coefficiente de variação (%)	3,39	1,89	1,39

Reprodutibilidade

Foram realizadas 20 dosagens durante 3 dias consecutivos com três amostras, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	1	2	3
Concentração média (mg/24h)	58,67	110,32	220,52
Desvio Padrão (mg/24h)	0,4252	0,4252	0,5008
Coefficiente de variação (%)	0,7248	0,3855	0,2271

3. Sensibilidade

A sensibilidade indica o limite de detecção do método. Foi calculada a partir de vinte (20) determinações de Proteínas Totais na Urina, em uma amostra isenta desses analitos. Foi encontrado um valor médio igual a 1,800 mg/dL, com desvio padrão de 0,065 mg/dL. A sensibilidade, que corresponde a soma da média encontrada com 3 vezes o desvio padrão, para este método, é igual a 1,9947 mg/dL.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

A proteinúria em altas concentrações é encontrada na maioria dos problemas renais, como nefropatias primárias e secundárias, que podem causar o aumento da permeabilidade glomerular ou diminuição da reabsorção nos túbulos renais. Podem haver também causas pós renais, como infecções, sangramentos ou doenças malignas do trato urinário. Em outras situações agudas como febre ou stress físico ou psicológico, níveis altos de proteína na amostra também podem ser encontrados. No líquor, elevados níveis de proteína podem ser encontrados em casos de aumento da pressão intracraniana devido a tumores cerebrais, hemorragia intracerebral ou traumatismos, em inflamações (principalmente devido a meningites bacterianas) e no caso de esclerose múltipla. Aumento da permeabilidade da barreira de sangue-líquido cefaloraquidiano é refletido com o aumento da proporção Líquor/soro da proteína total.

NÚMERO DE TESTES

	Testes
1	25
2	50
3	75
4	100

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Johnson AM, Rohlfis EM, Silverman LM . Proteínas. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3 ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 477-540.
- Felgenhauer K, Laboratory diagnosis of neurological diseases. In: Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1 ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p.,1308-26.
- Boege F. Urinary proteins. In: Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1 ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 382-400
- Orsonneau JL, Douet P, Massoubre C, Lustenberger P, Bernard S. An improved pyrogallol red-molybdate method for determining total urinary protein. Clin Chem 1989;35:2233-6.
- Watanabe N, Kamei S, Ohkubo A, Yamanaka M, Ohsawa S, Makino K et al. Urinary protein as measured with a pyrogallol red-molybdate complex. Manually and in a Hitachi 726 automated analyzer. Clin Chem 1986; 32:1551-4.
- Bioclin – Dados de arquivo

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes Bioclin são testados pelo Departamento de Controle da Qualidade.

A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

DADOS DO FABRICANTE

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 - Fax (31) 3439.5455
e-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente

Tel.: 0800 0315454.

E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit Bioprot U/LCR na ANVISA: 10269360178

Revisão: Agosto/10