

EBRAM PRODUTOS LABORATORIAIS LTDA.

Rua Julio de Castilhos, 500 - Belenzinho
São Paulo - SP - Tel.: +55 11 2291 2811
CEP 03059-001 | Indústria Brasileira
CNPJ.: 50.657.402/0001-31

RESPONSÁVEL TÉCNICA

Nadjara Novaes Longen | CRF-SP - 37.451

Para mais informações, entrar em contato com o **SAC EBRAM**
11 2291 2811 ou sac@ebram.com
www.ebram.com



QUIMIPROT - U - PROTEINÚRIA

REG. MS: 10159820236

FINALIDADE. Reação colorimétrica para determinação quantitativa de proteína em amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR) e urina humanas. Somente para uso diagnóstico in vitro.

PRINCÍPIO. O método consiste na quantificação, no espectro de absorção de 460 a 600 nm, do complexo colorido proveniente da reação, que ocorre em pH ácido, entre o complexo pirogalol vermelho-molibdato (PRM) e os grupos amino básicos (proteínas) presentes na urina e/ou no líquido cefalorraquidiano (LCR). A intensidade do complexo colorido formado é proporcional à concentração de proteína na amostra.



METODOLOGIA. Vermelho de pirogalol

SIGNIFICADO CLÍNICO. A quantificação de proteína total na urina vem sendo substituída pela determinação da albumina, já que esta é a proteína urinária predominante, e demonstrou melhor sensibilidade e especificidade para mudanças de permeabilidade glomerular.

A presença de aumento da excreção urinária sinaliza um aumento na taxa de escape transcáprilar, sendo geralmente um marcador de doença microvascular, embora possa também ser alterada por fatores fisiológicos (exercício, diurese e postura) como consequência da alteração da hemodinâmica intrarrenal. O processo de reabsorção tubular é saturável e qualquer aumento na permeabilidade glomerular, na concentração no plasma (por exemplo, proteína de Bence-Jones) ou a diminuição na capacidade de reabsorção devido a lesão tubular proximal (por exemplo, drogas nefrotóxicas) pode resultar em proteinúria.

A excreção urinária de albumina persistente precede e é altamente preditiva de nefropatia diabética, doença renal em estágio avançado e retinopatia proliferativa em diabetes tipo I

A quantificação da proteína no LCR é usada para distinguir meningite asséptica de meningite séptica. Concentrações de proteína superiores a 1 g/L são frequentemente consideradas como sendo de diagnóstico para bactérias, fungos ou meningite tuberculosa.

REAGENTES. Reagente único e pronto para uso. Conservar entre 2 e 30°C. Contém: Solução tampão pH 2,5 succinato: 60 mmol/L; vermelho de pirogalol: 0,06 mmol/L, molibdato de sódio: 0,04 mmol/L, dodecil sulfato de sódio: 0,08 mmol/L

Padrão: Conservar entre 2 - 25°C. Solução aquosa com concentração de albumina rastreável ao Material de Referência Padrão 927d proposto pelo NIST. Verifique a concentração do padrão no rótulo do frasco.

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto e on board (em um compartimento refrigerado do analisador) possuem estabilidade de aproximadamente 30 dias. Os frascos devem ser mantidos fechados, protegidos da luz e deve-se evitar a contaminação durante o uso.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS REQUERIDOS.

- Este reagente deve ser usado somente para diagnóstico in vitro.
- Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.
- Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos.
- Não usar o reagente se o mesmo estiver visualmente turvo, apresentar precipitado, ou se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o controle fresco.
- Não usar se a absorvância do branco ultrapassar 0,200 quando medido em 600 nm (cuveta de 1 cm) ou se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o controle fresco.

MATERIAL NECESSÁRIO NÃO FORNECIDO.

- Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorvância de 600 nm.
- Pipetas para medição de amostras e reagente.
- Água destilada/deionizada.
- Consumíveis do analisador, quando necessário.
- Cronômetro.

AMOSTRA. Urina coletada sem conservantes e LCR.

Amostras turvas devem ser centrifugadas antes do teste. Proteínas na urina são estáveis cerca de 8 dias a 2-8°C e até 3 meses a -20°C e no LCR são estáveis por cerca de 3 dias a 2-8°C e até 3 meses a -20°C. Todas as amostras e controles são considerados potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

PREPARO DO PACIENTE. É recomendado que as amostras sejam coletadas de acordo com as recomendações médicas e/ou norma de referência utilizada pelo laboratório.

INTERFERÊNCIAS.

- Bilirrubina <5 mg/dL não interfere;
- Hemoglobina, interfere;
- Interferências positivas na urina em tratamento com aminoglicosídeos - gentamicina ou tobramicina relatada com outros testes de pirogalol demonstrou não ter influência nesta formulação específica;
- Amostras coletadas após o esforço, na presença de infecção do trato urinário, durante a doença aguda ou imediatamente após a cirurgia não são adequados para testes pois proporcionam resultados falsos;
- LCR contaminado por hemácias de uma punção lombar traumática ou hemorragia intracerebral irá aumentar as concentrações de proteínas em ± 10 mg/L para cada 1000 eritrócitos.

PARÂMETROS DO SISTEMA:

Temperatura	37°C
Comprimento de Onda	600nm
Tipo de Reação	Ponto final
Direção	Crescente
Relação Amostra/Reativo	1:50
Vol. Amostra	20 μ L
Vol. RI	1,0 mL
Tempo de Incubação	5 minutos

CALIBRAÇÃO. Utilizar padrão que acompanha o kit. A concentração de albumina no padrão é rastreável ao Material de Referência Padrão proposto pelo NIST.

PROCEDIMENTO AUTOMATIZADO. Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento ou entrar em contato com o SAC.

Aplicação no sistema semi-automático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual até o item 2 (incubação), em seguida, utilizar o equipamento para leitura utilizando o protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.

PROCEDIMENTO MANUAL.

Permita que o reagente, padrão e amostra atinjam a temperatura ambiente (15 - 30°C) antes do teste.

- Separar 3 tubos de ensaio e realizar o procedimento conforme tabela abaixo:

	Branco	Padrão	Amostra/S.C.
Reagente 1	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Padrão	-	20 μ L	-
Amostra	-	-	20 μ L

- Homogeneizar os tubos e incubar em banho-maria sob temperatura de 37°C por 5 minutos ou a temperatura ambiente por 10 minutos.
- Zerar o equipamento com o branco do reagente a 600 nm e proceder às leituras das absorvâncias do padrão, controle (C) e amostras.

Nota: a cor final é estável por 30 minutos, protegida da luz.

CÁLCULOS.

Urina (amostra de 24 horas)

$$\frac{\text{Abs. Amostra}}{\text{Abs. Padrão}} \times \text{Volume (L)} \times \frac{2000}{(\text{padrão mg/L})} = \text{mg proteínas /24h}$$

Urina (amostra simples), LCR

$$\frac{\text{Abs. Amostra}}{\text{Abs. Padrão}} \times \text{C Padrão} = \text{mg proteínas /dL}$$

EXEMPLO:

Abs. da amostra = 0,036

Abs. do padrão = 0,180

Conc. do padrão = 200 mg/dL

Volume urinário (24 horas) = 1,25L

Urina (amostra de 24 horas)

$$\frac{0,036}{0,180} \times 1,25 \times 2000 = 500 \text{ mg proteínas/24h}$$

Urina (amostra simples), LCR

$$\frac{0,036}{0,180} \times 200 = 40 \text{ mg/dL proteínas}$$

LINEARIDADE. Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 400 mg/dL.

As amostras com concentrações de proteínas superiores a 400 mg/dL devem ser diluídas com solução salina até atingirem resultado entre 8 e 400 mg/dL e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

CONTROLE DE QUALIDADE. Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos a utilização do controle que acompanha o kit, para kits com controle, ou de controles comerciais com valores pré-estabelecidos pelos fabricantes.

VALORES ESPERADOS.

Urina

Adultos:

Amostras de 24h: < 150 mg/24h

Amostras simples: < 25 mg/dL

LCR

Adultos < 45 mg/dL

Crianças < 100 mg/dL

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

ESTUDOS COMPARATIVOS. Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia similar produziram os seguintes resultados:

Número de amostras	52
Coefficiente de correlação	0,995
Inclinação	0,9478
Intercepta	0,0103

PRECISÃO. Estudos de precisão foram executados com dois níveis controle (normal e patológico) sendo que cada amostra foi dosada 20 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=20	Amostra 1	Amostra 2
Média (mg/dL)	9,90	50,05
D.P. (mg/dL)	0,45	0,83
C.V. (%)	4,54	1,66

EXATIDÃO. Estudos de exatidão foram executados com dois níveis de controle (normal e patológico) sendo que cada amostra foi dosada em 5 vezes em 3 períodos diferentes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=15	Amostra 1	Amostra 2
Média (mg/dL)	10,00	49,93
D.P. (mg/dL)	0,20	0,12
C.V. (%)	2,00	0,24

SENSIBILIDADE METODOLÓGICA. 8 mg/dL

ESPECIFICIDADE. Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

OBSERVAÇÕES.

- Amostras comumente usadas: urina de 24 horas; urina da noite (8-12 horas); clínica ou laboratório (1 - 2 horas) e primeira amostra de urina da manhã. Devido à alta variação diurna e intraindividual é aconselhável testar três amostras diferentes.
- Para aumentar a sensibilidade na faixa normal, utilizar 50 µL de amostra e diluir o padrão na proporção 1:4 (1 + 3) em solução salina, usando a nova concentração de 50 mg/dL para realização dos cálculos.
- O diagnóstico clínico não deve ser feito apenas com os resultados de um único teste, ou seja, os dados clínico do paciente bem como os resultados de outros exames devem ser considerados para conclusão do diagnóstico.







APRESENTAÇÃO.

Linha Bioquímica Geral: 1 x 50 mL + 1 x 2,0 mL

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.

1. Orsonneau, J.L., Dovet, P., Massoubre, C., Lustenberger, P., y Bernard, S. Clin. Chem. 35: 2233 (1989).
2. Koerbin, G., Taylor, L., Dutton, J., Marshall, K, Low, P., y Potter, J.M. Clin. Chem. 47: 2183 (2001).
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
4. Tietz. N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1995).
5. Greenlee, S.E. Infect. Dis. Clin. North Am. 4: 583 (1990).
6. Viberti, G.C., Hill, R.D., y Jarret, R.J. Lancet, I: 1430 (1982).
7. Bonadio, W.A. Pediatr. Infect. Dis. J. 11: 423 (1992).

SÍMBOLOS UNIVERSAIS UTILIZADOS EM EMBALAGENS DE DIAGNÓSTICO IN VITRO

 CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO	 REAGENTE	 FABRICADO POR
 O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTES	 DATA DE VALIDADE (ÚLTIMO DIA DO MÊS)	 NÚMERO DO LOTE
 LIMITE DE TEMPERATURA (CONSERVAR A)	 PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO	 NÚMERO DO CATÁLOGO