



Protein U/CSF

Finalidade

Método colorimétrico quantitativo para a determinação de proteínas na urina e no líquido cefalorraquidiano

Significado clínico

Proteínas na urina

Uma quantidade de proteínas plasmáticas de baixo peso molecular são filtradas normalmente na forma livre através do glomérulo renal e logo após são rapidamente reabsorvidas, em parte, pelos túbulos renais.

Existem condições fisiológicas ou benignas onde pode-se observar um aumento na excreção urinária de proteínas, como: no exercício violento, febre, hipotermia, gravidez.

A determinação das proteínas urinárias é importante na detecção das patologias renais. A proteinúria na doença renal pode resultar de uma disfunção glomerular ou tubular. No primeiro caso, é causada por um aumento na passagem através dos capilares do glomérulo e caracterizada pela perda das proteínas plasmáticas de mesmo tamanho ou maior. No segundo caso, é causada por uma diminuição na capacidade de reabsorção de proteínas pelos túbulos. Entre as patologias onde é produzido um aumento de excreção de proteínas urinárias, podem ser citadas: síndrome nefrótica, síndrome nefrítica, hipergammaglobulinemia monoclonal, nefropatia diabética, infecções do trato urinário.

Proteínas no líquido cefalorraquidiano (LCR)

A determinação de proteínas no LCR é útil para avaliar a permeabilidade da barreira hematoencefálica em muitas doenças inflamatórias ou infecciosas do SNC, como ocorre nas meningites bacteriana, virais ou de outras origens, encefalite, poliomielite, neurosífilis, esclerose múltipla, hemorragia cerebral, tumores cerebrais ou espinhais. Outras desordens ocasionam uma produção anormal de proteínas dentro do SNC, como nas doenças desmielinizantes.

A sensibilidade deste método torna-o apropriado para ser utilizado em líquidos biológicos tais como urina ou líquido cefalorraquidiano, onde a concentração de proteínas em referência à do plasma é demasiada baixa, bem como para determiná-las por métodos empregados habitualmente para soro.

Fundamentos do método

As proteínas presentes na amostra reagem em meio ácido com o complexo Vermelho de Pirogalol-Molibdato, originando um novo complexo colorido que pode ser quantificado espectrofotometricamente a 600 nm.

Reagentes fornecidos

A. Reagente A: solução estabilizada de vermelho de pirogalol 0,1 mmol/l, molibdato de sódio 0,1 mmol/l em tampão succinato 50 mmol/l.

S. Padrão: solução de albumina 100 mg/dl (1,0 g/l).

Reagentes não fornecidos

- Água destilada.
- Solução fisiológica.

Instruções para uso

Reagentes Fornecidos: prontos para uso.

Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme a regulação local vigente.

Estabilidade e instruções de armazenamento

Reagentes Fornecidos: são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem.

O Reagente A deve ser protegido da luz.

Indícios de instabilidade ou deterioração dos reagentes

Se o espectrofotômetro estiver zerado com água destilada, leituras de absorbância (600 nm) do Reagente A superiores a 0,250 D.O. ou inferiores a 0,030 D.O. são indícios de deterioração.

Amostra

Urina ou líquido cefalorraquidiano

a) Coleta: obter urina ocasional ou de 24 horas. Medir a diurese.

Caso as amostras estejam turvas, é conveniente centrifugá-las.

b) Aditivos: não são necessários.

c) Estabilidade e instruções de armazenamento: a urina pode ser conservada sob refrigeração (2-10°C) por até 8 dias ou congelada (-20°C) por até 3 meses.

O LCR pode ser conservado por 3 dias sob refrigeração (2-10°C) ou 3 meses congelado (-20°C).

Interferências

- A hemólise pode ser causa de resultados falsamente aumentados, tanto na urina quanto no LCR;
- Os conservantes para urina, como ácido clorídrico, ácido benzoico ou timol podem ser causa de resultados falsamente diminuídos;
- Algumas drogas ou medicamentos podem interferir na reação. Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro ou fotolorímetro para leituras a 600 nm (580-620 nm).
- Banho-maria a 37°C.
- Pipetas e micropipetas para medir os volumes indicados.

Procedimento

Levar os reagentes e amostras a temperatura ambiente antes de iniciar o ensaio. Em três tubos ou cubetas espectrofotométricas marcados B (Branco), P (Padrão) e D (Desconhecido), colocar:

	B	P	D
Padrão	-	20 ul	-
Amostra	-	-	20 ul
Reagente A	1 ml	1 ml	1 ml

Misturar e incubar os tubos durante 10 minutos a 37°C. Ler, em fotolorímetro entre 580-620 nm ou em espectrofotômetro a 600 nm, levando o aparelho a zero com o Branco.

Estabilidade da mistura de reação final

A cor da reação é estável durante 30 minutos, portanto a absorbância deve ser lida durante este tempo.

Cálculo dos resultados

1) Proteínas na urina de 24 horas

$$\text{mg de proteínas/24 horas} = \frac{D}{P} \times V \times 1000$$

sendo:

V = volume da diurese expresso em litros/24 horas

1000 = mg/l do Padrão

Exemplo:

Absorbância da amostra: 0,213

Absorbância do Padrão: 0,159

Diurese: 1,2 litros/24 horas

$$\text{mg de Proteínas/24 horas} = \frac{0,213}{0,159} \times 1,2 \times 1000 = 1607 \text{ mg de proteínas/24 hs}$$

2) Proteínas na urina ocasional

$$\text{mg/dl proteínas} = \frac{D}{P} \times 100$$

Exemplo:

Absorbância da amostra: 0,213

Absorbância do Padrão: 0,159

$$\text{mg/dl proteínas} = \frac{0,213}{0,159} \times 100 = 134 \text{ mg/dl}$$

3) Proteínas no líquido cefalorraquidiano

$$\text{mg/dl proteínas} = \frac{D}{P} \times 100$$

Exemplo:
Absorbância da amostra: 0,097
Absorbância do Padrão: 0,159

$$\text{mg/dl proteínas} = \frac{0,097}{0,159} \times 100 = 61 \text{ mg/dl}$$

Método de controle de qualidade

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (Protein U/CSF Control) com concentrações conhecidas de proteínas, com cada determinação.

Valores de referência

Urina de 24 horas: 30-140 mg/24 horas (até 160 mg/24 horas em mulheres grávidas)
Urina ocasional: 25 mg/dl
LCR: 15-45 mg/dl em pessoas saudáveis. Em pessoas com mais de 60 anos, esta faixa estende-se até 60 mg/dl.
Estes valores são para orientação. É conveniente que cada laboratório estabeleça seus próprias faixas, visto que podem variar conforme a população e às condições do laboratório.

Conversão de unidades ao sistema SI

Proteínas (g/dl) x 10 = Proteínas (g/l)

Limitações do procedimento

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA.
Proteger o Reagente A da luz.
O material utilizado deve estar livre de tensoativos, caso contrário serão observados valores discordantes.

Desempenho

a) **Reprodutibilidade:** processando duplicatas de uma mesma amostra em um mesmo dia, obtiveram-se os seguintes valores:

Nível	D.P.	C.V.
14 mg/dl	± 0,66 mg/dl	4,7%
100 mg/dl	± 2,30 mg/dl	2,3%

b) **Sensibilidade:** em espectrofotômetro a 600 nm, um Padrão de 100 mg/dl proporciona uma leitura de aproximadamente 0,200 D.O., o que significa que para 0,001 D.O. a alteração de atividade mínima será de 0,5 mg/dl.
c) **Linearidade:** a reação é linear até 150 mg/dl de proteínas. Para valores superiores, diluir a amostra 1:2 ou 1:4 com solução fisiológica e repetir a determinação. Corrigir os cálculos multiplicando pelo fator de diluição utilizados. Se for necessário aumentar a sensibilidade analítica em amostras normais ou levemente aumentadas, pode-se utilizar 50 µl de amostra. Neste caso, é preferível diluir o Padrão 1:2 (1+1) com água destilada, e usar este padrão de 50 mg/dl no ensaio, de modo a ajustar a calibração aos valores normais baixos.

Parâmetros para analisadores automáticos

Para as instruções de programação, consultar o manual do usuário do analisador em uso.

Apresentação

- 1 x 100 ml **Reagente A**
- 1 x 4 ml **Padrão**
(Cód. 1770350)

- 2 x 60 ml **Reagente A**
- 1 x 4 ml **Padrão**
(Cód. 1779631)

Referências

- Watanabe, N.; et al. - Clin. Chem. 32:1551, 1986.
- Fujita, Y.; Mori, I.; Kitano, S. - Benseki Kagaku 32:379, 1983.
- Watson, M.; Scott, M. - Clin Chem. 41/3:343, 1995.
- Killingsworth, L. - Clin. Chem. 28/5:1093, 1982.
- Orsonneau, J.; Douet, P.; Massoubre, C.; Lustenberger, P.; Bernard, S. - Clin. Chem. 35/11:2233, 1989.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCPress, 4th ed., 2001.

Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.

SÍMBOLOS

	Este produto preenche os requisitos da Diretiva Européia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"
	Representante autorizado na Comunidade Européia
	Uso médico-diagnóstico "in vitro"
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data de validade
	Limite de temperatura (conservar a)
	Não congelar
	Risco biológico
	Volume após da reconstituição
	Conteúdo
	Número de lote
	Elaborado por:
	Nocivo
	Corrosivo / Caústico
	Irritante
	Consultar as instruções de uso
	Calibrador
	Controle
	Controle Positivo
	Controle Negativo
	Número de catálogo

Protein U/CSF

Fin y uso

Método colorimétrico cuantitativo para la determinación de proteínas en orina y líquido cefalorraquídeo

Significación clínica

Proteínas en orina

Una cantidad de proteínas plasmáticas de pequeño peso molecular son filtradas normalmente en forma libre a través del glomérulo renal y luego son, en parte, reabsorbidas por los túbulos renales.

Hay condiciones fisiológicas o benignas donde se puede observar un aumento en la excreción urinaria de proteínas como en el ejercicio violento, fiebre, hipotermia, embarazo.

La medición de las proteínas urinarias es importante en la detección de patología renal. La proteinuria en la enfermedad renal puede resultar de una disfunción glomerular o tubular. En el primer caso se da por un aumento en el pasaje a través de los capilares del glomérulo y caracterizada por la pérdida de proteínas plasmáticas de igual o mayor tamaño. En el segundo caso se da por una disminución en la capacidad de reabsorción de proteínas por los túbulos.

Entre las patologías en las que se produce un aumento en la excreción de proteínas urinarias se encuentran: síndrome nefrítico, síndrome nefrótico, hipergammaglobulinemia monoclonal, nefropatía diabética, infecciones del tracto urinario.

Proteínas en líquido cefalorraquídeo (LCR)

La determinación de proteínas en LCR es útil para evaluar la permeabilidad de la barrera hematoencefálica en muchas enfermedades inflamatorias o infecciosas del SNC, como ocurre en las meningitis bacterianas, virales o de otros orígenes, encefalitis, poliomyelitis, neurosífilis, esclerosis múltiple, hemorragia cerebral, tumores cerebrales o espinales. Otros desórdenes ocasionan una producción anormal de proteínas dentro del SNC como las enfermedades desmielinizantes. La sensibilidad del presente método lo hace apropiado para ser usado en líquidos biológicos tales como orina y líquido cefalorraquídeo donde la concentración de proteínas con respecto a la del plasma es demasiado baja como para determinarla por métodos empleados habitualmente para suero.

Fundamentos del método

Las proteínas presentes en la muestra reaccionan en medio ácido con el complejo Rojo de Pírogallol-Molibdato originando un nuevo complejo coloreado que se cuantifica espectrofotométricamente a 600 nm.

Reactivos provistos

A. Reactivo A: solución estabilizada de Rojo de Pírogallol 0,1 mmol/l, molibdato de sodio 0,1 mmol/l en buffer succinato 50 mmol/l.

S. Standard: solución de albúmina 100 mg/dl (1,0 g/l).

Reactivos no provistos

- Agua destilada.
- Solución fisiológica.

Instrucciones para su uso

Reactivos Provistos: listos para usar.

Precauciones

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

Estabilidad e instrucciones de almacenamiento

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

El Reactivo A debe protegerse de la luz.

Indicios de inestabilidad o deterioro de los reactivos

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua destilada, lecturas de absorbancia a 600 nm del Reactivo A superiores a 0,250 D.O. o inferiores a 0,030 D.O. son indicio de deterioro del mismo.

Muestra

Orina o líquido cefalorraquídeo

a) Recolección: obtener orina ocasional o de 24 horas. Medir la diuresis.

En caso de que las muestras sean turbias, es conveniente centrifugarlas.

b) Aditivos: no se requieren.

c) Sustancias interferentes conocidas:

- la hemólisis puede ser causa de resultados falsamente aumentados tanto en orina como en LCR;
- los conservantes para orina tales como ácido clorhídrico, ácido benzoico o timol pueden ser causas de resultados falsamente disminuidos;
- algunas drogas o medicamentos pueden interferir en la reacción. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la orina puede conservarse refrigerada (2-10°C) hasta 8 días o congelada (-20°C) hasta 3 meses. El LCR puede conservarse 3 días refrigerado (2-10°C) o 3 meses congelado (-20°C).

Material requerido (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro para lecturas a 600 nm (580-620 nm).
- Baño de agua a 37°C.
- Pipetas y micropipetas para medir los volúmenes indicados.

Procedimiento

Llevar a temperatura ambiente los reactivos y las muestras antes de iniciar el ensayo. En tres tubos o cubetas espectrofotométricas marcados B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), colocar:

	B	S	D
Standard	-	20 ul	-
Muestra	-	-	20 ul
Reactivo A	1 ml	1 ml	1 ml

Mezclar e incubar los tubos durante 10 minutos a 37°C. Leer en fotocolorímetro entre 580-620 nm o en espectrofotómetro a 600 nm, llevando a cero el aparato con el Blanco.

Estabilidad de la mezcla de reacción final

El color de la reacción es estable durante 30 minutos por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de ese lapso.

Cálculo de los resultados

1) Proteínas en orina de 24 horas

$$\text{mg de proteínas /24 horas} = \frac{D}{S} \times V \times 1000$$

siendo:

V = volumen de la diuresis expresado en litros /24 horas
1000 = mg/l del Standard

Ejemplo:

Absorbancia de la muestra: 0,213

Absorbancia del Standard: 0,159

Diuresis: 1,2 litros/24 horas

$$\text{mg de Proteínas/24 horas} = \frac{0,213}{0,159} \times 1,2 \times 1000 = 1607 \text{ mg de proteínas/ 24 hs}$$

2) Proteínas en orina ocasional

$$\text{mg/dl proteínas} = \frac{D}{S} \times 100$$

Ejemplo:

Absorbancia de la muestra: 0,213

Absorbancia del Standard: 0,159

$$\text{mg/dl proteínas} = \frac{0,213}{0,159} \times 100 = 134 \text{ mg/dl}$$

3) Proteínas en líquido cefalorraquídeo

$$\text{mg/dl proteínas} = \frac{D}{S} \times 100$$

Ejemplo:

Absorbancia de la muestra: 0,097

Absorbancia del Standard: 0,159

$$\text{mg/dl proteínas} = \frac{0,097}{0,159} \times 100 = 61 \text{ mg/dl}$$

Método de control de calidad

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Protein U/CSF Control**) con concentraciones conocidas de proteínas, con cada determinación.

Valores de referencia

Orina de 24 horas: 30-140 mg/24 horas (hasta 160 mg/24 horas en embarazadas)
Orina ocasional: 25 mg/dl
LCR: 15-45 mg/dl en personas sanas. En personas de más de 60 años, este rango se extiende hasta 60 mg/dl.
Estos valores son orientativos. Es conveniente que cada laboratorio establezca sus propios rangos, dado que pueden variar de acuerdo a la población de pacientes y a las condiciones del laboratorio.

Conversión de unidades al sistema SI

Proteínas (mg/dl) x 10 = Proteínas (mg/l)

Limitaciones del procedimiento

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Proteger el Reactivo A de la luz.

El material empleado debe estar libre de tensioactivos, caso contrario se obtendrán valores discordantes.

Performance

a) Reproducibilidad: procesando replicados de las mismas muestras en un mismo día se obtuvo:

Nivel	D.S.	C.V.
14 mg/dl	± 0,66 mg/dl	4,7 %
100 mg/dl	± 2,30 mg/dl	2,3 %

b) Sensibilidad: en espectrofotómetro a 600 nm, un Standard de 100 mg/dl proporciona una lectura de aproximadamente 0,200 D.O., lo que significa que para 0,001 D.O. el mínimo cambio de actividad detectable será de 0,5 mg/dl.

c) Linealidad: la reacción es lineal hasta 150 mg/dl de proteínas. Para valores superiores, diluir la muestra 1:2 ó 1:4 con solución fisiológica y repetir la determinación. Corregir los cálculos multiplicando por el factor de dilución empleado. Si se desea aumentar la sensibilidad analítica en muestras normales o levemente aumentadas, pueden emplearse 50 µl de muestra. En este caso, es preferible diluir el Standard 1:2 (1+1) con agua destilada, y usar este standard de 50 mg/dl en la prueba, de tal manera de ajustar la calibración a los valores normales bajos.

Parámetros para analizadores automáticos

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

Presentación

- 1 x 100 ml **Reactivo A**
- 1 x 4 ml **Standard**
(Cód. 1770350)

- 2 x 60 ml **Reactivo A**
- 1 x 4 ml **Standard**
(Cód. 1779631)

Bibliografía

- Watanabe, N.; et al. - Clin. Chem. 32:1551, 1986.
- Fujita, Y.; Mori, I.; Kitano, S. - Benseki Kagaku 32:379, 1983.
- Watson, M.; Scott, M. - Clin Chem. 41/3:343, 1995.
- Killingsworth, L. - Clin. Chem. 28/5:1093, 1982.
- Orsonneau, J.; Douet, P.; Massoubre, C.; Lustenberger, P.; Bernard, S. - Clin. Chem. 35/11:2233, 1989.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

SÍMBOLOS



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo



Produtos para Laboratórios Ltda.
Estrada do Capão Bonito, 489
Guarulhos - SP- Brasil - CEP: 07263-010
CNPJ: 72.807.043/0001-94
Atendimento ao cliente:
+55 (11) 2480 0529/+55 (11) 2499 1277
sac@laborlab.com.br
www.laborlab.com.br