



INSTRUÇÕES DE USO (Versão Jul/19)

PROTEÍNA URI+

(Vermelho de Pirogalol) – Colorimétrico de Ponto Final

FINALIDADE

O conjunto é um sistema que se destina à determinação da proteína na urina ou líquor (líquido cefalorraquidiano). Exclusivo para uso em diagnóstico "in vitro".

PRINCÍPIO DE AÇÃO

O método proposto é facilmente automatizável, adaptando-se a todos os analisadores automáticos disponíveis.

No presente método, em meio ácido, as proteínas presentes na amostra reagem com o complexo vermelho de pirogalol - molibdato de sódio, formando um complexo colorido (azul), proporcional à concentração de proteínas na amostra, com absorvância máxima em 600 nm.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Em condições normais, o glomérulo impede a passagem das moléculas de proteína para a urina, porém, uma pequena quantidade é eliminada e pode chegar a 140mg/24 horas ou 15 mg/dL.

A determinação de proteínas na urina (proteinúria) é um indicador para a avaliação de enfermidades renais e pode ser classificada em funcional e orgânica.

Entre as funcionais, inclui-se a produzida por esforço físico exagerado e frio excessivo. A proteinúria pode ocorrer na gravidez em pequenas quantidades, de forma ocasional ou intermitente.

A proteinúria orgânica é subdividida em:

Pré-renal: estados febris, insuficiência cardíaca, mixedema, mieloma múltiplo.

Renal: glomerulonefrite, nefrite lúpica, síndrome nefrótica, toxemia gravídica, nefropatias tóxicas.

Pós-renal: cistite, proctite, uretrite, infecção da pelve, e dos ureteres.

Os valores da proteína no líquor variam ligeiramente com a idade sendo mais elevados nos primeiros 6 meses de vida, reduzindo-se a níveis abaixo do normal no adulto jovem e elevando-se progressivamente com a idade após os 45 anos.

No líquor, concentrações elevadas ocorrem nas seguintes situações: punção lombar traumática por contaminação com sangue periférico, aumento da permeabilidade da barreira hemoencefálica (infecções das meninges), obstrução da circulação, aumento da síntese de proteínas dentro do sistema nervoso central (SNC), como na esclerose múltipla e neurosífilis e em condições degenerativas como Síndrome de Parkinson e Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA).

REAGENTES

Apresentação com 50 mL:

1. **Reagente de Cor**: 01 frasco de 50 mL contendo Vermelho de Pirogalol ≥ 60 $\mu\text{mol/L}$; Molibdato sódico ≥ 40 $\mu\text{mol/L}$; Oxalato de sódio 1 mmol/L; tampão 50 mmol/L; pH 2,5; octilfenol polioxietanol 0,1% e preservativos.

2. **Padrão**: 01 Frasco com 5mL. Contém azida sódica 0.05%. Concentração expressa no rótulo.

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

Espectrofotômetro

Centrífuga

Banho-maria

Cronômetro

Vidraria

Pipetas manuais ou automáticas

Água destilada ou deionizada

CUIDADOS NO ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DOS REAGENTES

Antes de serem abertos, os reagentes podem ser transportados em temperatura ambiente (15-25°C), no prazo de 48 horas.

As datas de fabricação e validade aparecem no rótulo da embalagem. Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.

Todos os reagentes após serem abertos, devem ser mantidos refrigerados, na faixa de 2 a 8°C, permanecendo fora do refrigerador apenas o tempo necessário para as dosagens.

Não congelar.

Manter protegido da exposição à luz e contaminações durante a sua utilização.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

Somente para uso diagnóstico "in vitro".

Os reagentes contêm azida sódica, irritante para pele e mucosas. Caso haja contato com quaisquer desses reagentes, lavar imediatamente a área afetada com água em profusão. Em caso de ingestão acidental, procurar auxílio médico imediato.

Não dispensar os reagentes em tubulação contendo ferro galvanizado.

Usar ponteiros descartáveis separadas para cada amostra, controle (se utilizado) e reagente. Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada, o que poderia causar resultados errôneos.

Evitar contaminação com íons metálicos ou agentes oxidantes.

O espectrofotômetro ou mesmo equipamentos automatizados devem ficar livres de contaminação microbiana, ser calibrados corretamente e receber manutenção de acordo com as instruções do fabricante.

Não misturar ou trocar diferentes lotes de reagentes.

Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.

Verificar cuidados no armazenamento e transporte de reagentes.

Não comer, beber, fumar, armazenar ou preparar alimentos, ou aplicar cosméticos dentro da área de trabalho onde reagentes e amostras estiverem sendo manuseados.

Usar luvas descartáveis quando manusear amostras clínicas ou reagentes.

Lavar sempre as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.

As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos.

Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de água e esgotos.

Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante.

A limpeza e secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.

A presença de detergente no material utilizado pode introduzir alterações significativas nos resultados.

AMOSTRA

Todas as amostras devem ser centrifugadas para se obter melhores resultados.

Urina: A urina de 24 horas é a amostra comumente empregada, mas a proteína pode ser determinada em amostra isolada de uma micção.

A mesma é estável por até 1 ano quando conservada a -20°C.

Líquido Cefalorraquidiano (LCR): Estável por 4 dias quando conservado entre 2 a 8°C ou 6 meses a -20°C. A presença de hemólise na amostra pode interferir no resultado final do teste.

PROCEDIMENTO

Reagente Pronto para Uso.

Atenção: Não utilizar o Reagente de Cor quando sua absorvância medida contra a água em 600 nm for maior que 0,290 ou quando mostrar-se turvo ou com sinais de contaminação.

Dosagem (Urina):

Separar 3 Tubos e proceder como a seguir:

	Branco	Teste	Padrão
Amostra	-	5 μL	
Padrão	-	-	5 μL
Água Deionizada	5 μL	-	-
Reagente de Cor	1000 μL	1000 μL	1000 μL

Homogeneizar bem e colocar em **banho-maria a 37°C durante 5 minutos**. Determinar as absorvâncias do teste e do padrão em 600 nm (580-620 nm) acertando o zero com o branco.

A cor formada é estável por 30 minutos.

CÁLCULOS

Proteína (mg/dL) = Absorvância do Teste \div Absorvância do Padrão x 50

Exemplo:

Abs Teste = 0,052 Abs Padrão = 0,429

Proteína (mg/dL) = 0,052 \div 0,429 x 50 = 6,06

Nota: Devido a grande reprodutibilidade que pode ser obtida com a metodologia, pode-se utilizar o método do Fator.

Fator de Calibração = 50 \div Absorvância do Padrão

Proteína (mg/dL) = Absorvância do Teste x Fator

Exemplo:

Fator = 50 \div 0,429 = 116,6 \rightarrow Proteína (mg/dL) = 0,052 x 116,6 = 6,06

Urina (mg/24 horas) = mg/dL x volume (em mL) \div 100

VALORES DE REFERÊNCIA

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de referência na sua população atendida. Os valores abaixo são fornecidos como orientação.

Urina:

Adultos e Crianças: 1 a 15 mg/dL
28 a 141 mg/24horas

Líquor:

Adultos	
15 a 45 mg/dL	
Filhotes e Jovens	
0 a 30 dias	0 - 153 mg/dL
31 a 90 dias	15 - 93 mg/dL
até 2 anos	15 - 48 mg/dL
Acima de 2 anos	15 - 45 mg/dL

LINEARIDADE

A reação é linear até 100 mg/dL. Para valores acima de 100 mg/dL, diluir amostra com solução de NaCl mmol/L (0,85%) e repetir a dosagem. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

DADOS ESTATÍSTICOS DE DESEMPENHO DO TESTE

Sensibilidade: 100%.

Exatidão: : A comparação com método similar validado (que também utiliza a metodologia enzimática no ultravioleta) demonstrou um coeficiente de correlação, r^2 , igual a 0,997 a partir da análise de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi: $y=1,0807x-1,7622$, que demonstra uma exatidão de 99%.

Precisão:

Repetibilidade: A realização de 20 determinações de uma amostra com valor dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados.

Repetibilidade	Amostra
Média	8,47
Desvio Padrão	1,1
Coefficiente de Variação (%)	1,51

Reprodutibilidade: A realização de 20 determinações de uma amostra, realizada por um operador diferente, utilizando o mesmo equipamento de medição, com valores dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	Amostra
Média	8,35
Desvio Padrão	0,5
Coefficiente de Variação (%)	1,74

Sensibilidade analítica: Uma amostra não contendo proteína foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio tendo sido encontrado um valor igual a 2,0 mg/dL, equivalente à média de 20 ensaios mais dois desvios padrão.

AUTOMAÇÃO

Aplicações para analisadores automáticos estão disponíveis, se solicitadas.

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório deve ter como prática de rotina o uso de soros controle comerciais. Preferivelmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

INTERFERENTES

Resultados falsamente diminuídos: Acido úrico, citrato de sódio, oxalato de sódio e ascorbato.

Resultados falsamente aumentados: Fosfato inorgânico, cálcio, magnésio, creatinina, uréia, glicose e hematuria.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bergmeyer, H.U (Ed.) Methods of Enzymatic Analysis, Academic Press, p,1985.
- Karmen, A. J. Clin Invest. 34:131, 1955
- IFCC report Clin. Chim. Acta 105:147(F),1980
- Katal: Dados de arquivo.

APRESENTAÇÃO

50 mL	Volume
Reagente de Cor	1 x 50 mL
Padrão	1 x 5 mL

CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

O desempenho deste sistema diagnóstico, medido pelas propriedades descritas nesta Instrução de Uso, está garantido até a sua data de vencimento, desde que obedecidas as seguintes condições:

- A adesão estrita, pelo usuário, ao quadro de procedimento técnico.
- As condições de armazenamento estarem de acordo com o recomendado nesta Instrução de Uso.
- Os materiais necessários e não fornecidos com o produto, estarem em boas condições de uso.

ASSESSORIA TÉCNICA

Para esclarecimentos de dúvidas e Assessoria Técnica ligue:

(31) 3309-9262

e-mail: biofocovet@focovet.com.br



CNPJ: 71.437.917/0001-04

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA PRODUTOS DIAGNÓSTICOS "IN VITRO"	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
CAL	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
REF	Código do Produto
IVD	Produto para Diagnóstico "In Vitro"
LYOPH	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
R	Reagente
	Fabricado por
LOT	Número de Lote