



Proti U/LCR

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 nefrítico, 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 demasiado 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 à 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 absorvância (600 nm) do Reagente A superiores a 0,250 D.O. ou inferiores a 0,030 D.O. são indícios de deterioração do mesmo.

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) Substâncias interferentes conhecidas:

- a hemólise pode ser causa de resultados falsamente aumentados, tanto na urina quanto para no LCR;
- os conservantes para urina, como ácido clorídrico, ácido benzóico 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.

d) 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).

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro 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 fotocolorímetro 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

2) Proteínas na urina ocasional

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

3) Proteínas no líquido cefalorraquidiano

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

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Proti U/LCR Control 2 níveis**) 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 suas próprias faixas, posto 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 observar-se-ão 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 ul 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 (Cód. 1690007).

- 4 x 20 ml (Cód. 1009317).

- 4 x 20 ml (Cód. 1009282).

- 2 x 60 ml (Cód. 1009631).

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", AACC Press, 4th ed., 2001.

Símbolos

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.

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



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina