

COD 11501 4 x 50 mL	COD 11559 2 x 250 mL
CONSERVAR A 15-30°C	
Reagentes para medir a concentração de proteína (urina) Só para uso <i>in vitro</i> nos laboratórios clínicos	

PROTEIN (Urine)



PROTEÍNA
VERMELHO DE PIROGALOL



FUNDAMENTO DO MÉTODO

A proteína presente na amostra reage com o vermelho de pirogalol e o molibdato em meio ácido, originando um complexo colorido que se pode quantificar por espectrofotometria^{1,2}.

CONTEÚDO

	COD 11501	COD 11559
A. Reagente	4 x 50 mL	2 x 250 mL
S. Padrão	1 x 5 mL	1 x 5 mL

COMPOSIÇÃO

A. Reagente. Vermelho de pirogalol 60 µmol/L, molibdato de sódio 40 µmol/L, succinato 50 mmol/L, pH 2,3, detergente.

Nocivo (Xn): R20/22: Nocivo por inalação e por ingestão. S24/25: Evitar o contacto com os olhos e a pele.

S. Padrão de Proteína (Urina). Albumina bovina. A concentração vem indicada na etiqueta do frasco. O valor da concentração é traçável ao Material de Referência Certificado 927 (National Institute of Standards and Technology, USA).

CONSERVAÇÃO

Reagente (A): Conservar a 15-30°C.

Padrão de Proteína Urina (S): Conservar a 2-8°C, depois de aberto.

O Reagente e o Padrão são estáveis até à data de caducidade indicada na etiqueta, desde que se conservem bem fechados e se evite a contaminação durante o seu uso.

Indicações de deterioração:

- Reagente: Presença de partículas, turvação, absorvância do branco superior a 0,150 a 600 nm.
- Padrão: Presença de partículas ou turvação.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Tanto o Reagente como o Padrão estão prontos para seu uso.

EQUIPAMENTO ADICIONAL

- Banho de água a 37°C
- Analizador, espectrofotómetro ou fotómetro para leituras a 600 ± 20 nm

AMOSTRAS

Urina de 24 horas recolhida mediante procedimentos standard. Recolher a urina, medir o volume e conservá-la a 2-8°C. Estável 8 dias.

Líquido cefalorraquiano (LCR) recolhido por meio de procedimentos standard. Não utilizar amostras com presença de sangue. Estável 4 dias 2-8°C.

PROCEDIMENTO

1. Pipetar em tubos de ensaio: (Notas 1, 2)

	Branco	Padrão	Amostra
Água destilada	20 µL	—	—
Padrão Proteína Urina (S)	—	20 µL	—
Amostra	—	—	20 µL
Reagente (A)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

2. Agitar bem e deixar os tubos durante 10 minutos a 37°C.
3. Ler a absorvância (A) do Padrão e da Amostra contra o branco a 600 nm. A cor é estável durante pelo menos 30 minutos.

CÁLCULOS

A concentração da proteína na amostra calcula-se a partir da seguinte fórmula geral:

$$\frac{A_{\text{Amostra}}}{A_{\text{Padrão}}} \times C_{\text{Padrão}} (\text{mg/L}) \times L \text{ de Urina/24 h} = C_{\text{Amostra}} (\text{mg/24 h proteína})$$

VALORES DE REFERÊNCIA

Urina³: Inferior a 150 mg/24 horas

Líquido cefalorraquiano³:

Crianças: 300-1000 mg/L

Adultos: 150-450 mg/L

Estes valores dão-se unicamente a título orientativo; é recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios intervalos de referência.

CONTROLE DE QUALIDADE

Recomenda-se o uso de Control de Urina Valorado (Cod. 18036 e 18037) para verificar a funcionalidade do procedimento de medida.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio programa de Control de Qualidade interno, assim como procedimentos de correcção como nos casos em que os controles não cumpram com as tolerâncias aceitáveis.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

– Limite de detecção: 70 mg/L

– Limite de linearidade: 4000 mg/L. Quando se obtêm valores superiores, diluir a amostra 1/2 com água destilada e repetir a medição.

– Repetibilidade (intraensaio):

Concentração média	CV	n
800 mg/L	3,0 %	20
1600 mg/L	2,1 %	20

– Reproducibilidade (interensaio):

Concentração média	CV	n
800 mg/L	3,2 %	25
1600 mg/L	3,0 %	25

– Sensibilidade: 0,28 mA·L/mg

– Veracidade: Os resultados obtidos com estes reagentes não mostram diferenças sistemáticas significativas quando comparados com reagentes de referência. Os detalhes do estudo comparativo estão abaixo disponíveis.

– Interferências: A bilirrubina (20 mg/dL) não interfere. A hemólise (hemoglobina > 0,63 g/L) interfere. Outros medicamentos e substâncias podem interferir⁴.

Estes dados foram obtidos utilizando um analizador. Os resultados podem variar ao mudar de equipamento ou ao realizar-se o procedimento manualmente.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

Os glomérulos comportam-se como ultrafiltros das proteínas plasmáticas. O grau em que cada proteína individual filtra normalmente através da membrana é a função da sua massa e carga, assim como também da sua concentração plasmática.

Podem dar-se concentrações aumentadas de proteínas na urina (proteinúria) por hemorragia, permeabilidade glomerular aumentada, reabsorção tubular defeituosa, concentração plasmática aumentada de proteínas anormais de baixo peso molecular (como as cadeias ligeiras de imunoglobulinas), e secreção anormal de proteína no tracto urinário^{3,5}.

A proteinúria aparece em quase todas as doenças renais, como o síndrome nefrótico, glomerulonefritis, insuficiência renal e tumores renais malignos^{3,5}.

Concentrações elevadas de proteínas no líquido cefalorraquiano podem ser causadas por pressão intracraniana elevada (traumatismos craniais, tumores cerebrais, hemorragia intracraniana) ou como consequência de infecções bacterianas ou virais (meningite, encefalite, poliomielite)^{3,5}.

O diagnóstico clínico não se deve realizar tendo em conta o resultado de um único teste, mas deve integrar-se nos dados clínicos e de laboratório.

NOTAS

1. Este reagente pode utilizar-se na maioria dos analisadores automáticos. Solicite informação ao seu distribuidor.
2. Pode aumentar-se a sensibilidade analítica duplicando o volume de amostra, contudo nesse caso reduz-se proporcionalmente o limite de linearidade.

BIBLIOGRAFIA

1. Watanabe N et al. Urinary Protein as measured with a pyrogallol red-molybdate complex, manually and in a Hitachi 726 automated analyzer. *Clin Chem* 1986; 32:1551-1544.
2. Orsonneau JL et al. An improved pyrogallol red-molybdate method for determining total urinary protein. *Clin Chem* 1989; 35:2233-2236.
3. Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 3rd ed. Saunders Co, 1999.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.