PROTEÍNA NA URINA/LCR + STD

MÉTODO:
Vermelho de Pirogalol.

FINALIDADE:
Reagente diagnóstico para determinação quantitativa da concentração de proteína total em amostras biológicas de urina ou líquido cefalorraquidiano (LCR) humanos em sistemas fotométricos.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

SIGNIFICADO CLÍNICO:
Tanto urina quanto líquido cefalorraquidiano (LCR) possuem pequenas quantidades de proteínas em sua composição. A produção da urina, feita pelos glomérulos renais, ocorre pela remoção de excesso de líquido e substâncias tóxicas presentes no sangue, como amônia, ureia e ácido úrico. O LCR é produzido por ultrafiltração do plasma pelo plexo coróide, que remove proteínas, íons, água e outros componentes. A presença de proteína ou albumina na urina (proteinúria ou albuminúria, respectivamente) é um marcador de doenças renais, diabetes, processos inflamatórios e problemas cardiovasculares, mas também pode ocorrer devido à desidratação, ao excesso de atividade física e na gravidez. A presença de proteína no LCR pode indicar inflamações associadas a meningite bacteriana ou viral, encefalite ou poliomielite, hemorragia intracerebral, trauma e até tumor cerebral.

FUNDAMENTO:
Em meio ácido, o vermelho de pirogalol e os íons de molibdato reagem com as proteínas presentes na amostra, formando um complexo de cor azul que pode ser determinado por absorbância a 600 nm. A densidade óptica obtida é proporcional à concentração de proteínas presente na amostra.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:
Conservar entre 2 e 8 °C.

COMPOSIÇÃO:
R1:

Tampão de succinato	≤50	mmol/L
Vermelho de Pirogalol	≤1,0	mmol/L
Molibdato de sódio	≤1,0	mmol/L
Oxalato de sódio	≤5,0	mmol/L
Benzoato de sódio	≤5,0	mmol/L

VytCal Calibrador de PTU:

Tampão GOOD	≥50	mmol/L
Polipeptídeo de alta densidade		

A concentração do calibrador está assinalada no rótulo do frasco.

MODO DE USO:
O reagente e o calibrador estão prontos para o uso e não dependem de preparo.

ESTABILIDADE:
O reagente e o calibrador armazenados entre 2 e 8 °C e ao abrigo de luz são estáveis até a data de validade impressa no rótulo.
Após aberto, o reagente é estável por até 30 dias armazenado entre 2 e 8 °C ao abrigo de luz.
Não congelar!
Após aberto, o calibrador é estável por até 28 dias armazenado entre 2 e 8ºC ao abrigo de luz.
Não misturar lotes do produto, pois os valores atribuídos aos calibradores variam de lote para lote.

Estabilidade *on board*
Após a abertura e instalação no analisador, os reagentes permanecem estáveis **por até 32 dias**, desde que mantidos no compartimento refrigerado dos analisadores Vyttra – BM SERIES.

Deve-se substituir o reagente imediatamente ao identificar sinais de instabilidade ou deterioração, tais como:

- Degradação Física: Presença de turbidez, precipitação ou alteração na coloração original da solução e sinais visíveis de vazamento.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos limites de tolerância, critérios de aceitação estabelecidos, ou falhas consecutivas no processo de calibração do sistema analítico.

Frequência de Calibração
A calibração desse ensaio deve ser realizada quando inserido no sistema. Uma nova calibração deverá ser executada quando houver:

- Troca de Lote: Instalação de um novo lote de reagentes
- Intervenção Técnica: Após manutenções preventivas ou corretivas.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos critérios de aceitação estabelecidos.

A calibração do ensaio é válida **por até 12 dias**, podendo ser antecipada caso um dos cenários acima ocorra.

Nota: A periodicidade da calibração pode ser redefinida pelo laboratório, desde que fundamentada em evidências documentadas que comprovem a manutenção do desempenho analítico dentro dos limites especificados.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:
O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:

- A manutenção das características de desempenho e da segurança do produto é também de responsabilidade do laboratório usuário, que deve assegurar o cumprimento das Boas Práticas de Laboratório, a utilização conforme esta Instrução de Uso, o armazenamento, transporte e manuseio adequados, a calibração, verificação e manutenção dos equipamentos, a capacitação dos profissionais envolvidos, bem como a utilização de níveis de controle de qualidade apropriados ao ensaio, conforme os requisitos aplicáveis
- O reagente não necessita ser tratado como amostra contaminante.
- O reagente contém conservantes que podem reagir fortemente com cobre, chumbo e outros metais, formando azida metálica. Portanto, deve-se lavar os tubos de drenagem para evitar resíduos durante o descarte.
- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente.
- Não há como assegurar que amostras biológicas e soros controles estão totalmente isentos de agentes infecciosos, portanto, é recomendado manuseá-los de acordo com as instruções de biossegurança. Para as informações de segurança do produto, consultar a Ficha de Segurança (FDS).
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
- Os materiais utilizados na preparação do calibrador foram testados no nível de doadores para anticorpos anti-HIV1 e anti-HIV2, antígeno de superfície da hepatite B (HbsAg) e anticorpo anti-HCV e considerado não reativo. Os métodos aprovados pela FDA e regulamentações nacionais foram usados para realizar esses testes. No entanto, como nenhum método pode oferecer garantia completa quanto à ausência de agentes infecciosos, este material e todas as amostras dos pacientes devem ser manipuladas como capazes de transmitir doenças infecciosas e descartadas de acordo.

AMOSTRA BIOLÓGICA:
Urina 24 horas e líquido cefalorraquidiano (LCR).

ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS:
A estabilidade em urina 24 horas é de 1 dia entre 2 e 8 °C e 3 meses a -20 °C. A amostra de LCR deve ser testada em até 30 minutos após a coleta.
Descartar amostras contaminadas.

INTERFERENTES:
Nenhuma das substâncias abaixo apresentou interferência até as seguintes concentrações:

Bilirrubina	3 mg/dL
Hemoglobina	500 mg/dL
Triglicérides	15 mg/dL
Ureia	300 mg/dL

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Cronômetro
- Tubos de ensaio
- Solução NaCl 9,0 g/L
- Banho-maria a 37 °C

MÉTODO DE ANÁLISE:
A-Preparo:
Termostatizar o reagente de uso na temperatura desejada. A temperatura deve permanecer constante (±0,5 °C) durante a execução do teste.

B-Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda primário (λ): 600 nm
Comprimento de onda secundário (λ): 700 nm
Temperatura: 37 °C
Tipo de reação: Ponto final crescente
Calibração: Linear de 2 pontos, contra reagente branco

C-Esquema de pipetagem:
1- Em três tubos ou cubetas marcados como Branco, Padrão e Amostra, proceder conforme o protocolo a seguir:

Pipetar	Tubos ou cubetas		
	Branco	**Padrão**	**Amostra**
Água	30 µL	---	---
Calibrador/Padrão	---	30 µL	---
Amostra	---	---	30 µL
Reagente	900 µL	900 µL	900 µL

2- Homogeneizar bem e incubar por 5 minutos a 37 °C
3- Medir a absorbância do Calibrador/Padrão e da Amostra contra o Branco (ΔAbs). A cor final da reação é estável por 30 minutos.

D-Cálculo com Calibrador/Padrão:

$$\text{Proteína na urina/LCR (mg/dL)} = \frac{\Delta Abs_{Amostra}}{\Delta Abs_{Padrão}} \times \text{Concentração do Calibrador/Padrão}$$

Exemplo:
$\Delta Abs_{Amostra}$: 0,081
$\Delta Abs_{Padrão}$: 0,669
Concentração do Calibrador/Padrão: 100 mg/dL

$$\text{Proteína na urina/LCR (mg/dL)} = \frac{0,081}{0,669} \times 100 \text{ mg/dL}$$

Proteína na urina/LCR (mg/dL) = **12,1 mg/dL**

E-Cálculo com fator:
Pela Lei de Lambert-Beer, o fator de calibração pode ser aplicado:

$$\text{Fator de calibração} = \frac{\text{Concentração do Padrão}}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

$$\text{Proteína na urina/LCR (mg/dL)} = \Delta Abs_{Amostra} \times \text{Fator de calibração}$$

Exemplo:

$$\text{Fator de calibração} = \frac{100 \text{ mg/dL}}{0,669}$$

Fator de calibração = 149,5
Proteína na urina/LCR (mg/dL) = 0,081 × 149,5
Proteína na urina/LCR (mg/dL) = **12,1 mg/dL**

PROTEÍNA NA URINA/LCR + STD

F-Cálculo para urina de 24 horas:

Proteína na urina/LCR (mg/24 h) = $\frac{\text{mg/dL}}{100}$ × Volume Urinário (em mL)

VALORES DE REFERÊNCIA:

LCR		
1 a 8 dias	26 – 135 mg/dL	(0,26 – 1,35 g/L)
8 a 30 dias	26 – 115 mg/dL	(0,26 – 1,15 g/L)
1 a 2 meses	18 – 86 mg/dL	(0,18 – 0,86 g/L)
2 a 3 meses	10 – 74 mg/dL	(0,10 – 0,74 g/L)
3 a 6 meses	10 – 54 mg/dL	(0,10 – 0,54 g/L)
6 meses a 16 anos	10 – 44 mg/dL	(0,10 – 0,44 g/L)
Adulto	15 – 45 mg/dL	(0,15 – 0,45 g/L)
Urina 24 horas		
Crianças, adolescentes e adultos	28 – 141 mg/24 horas 1 – 14 mg/dL	(0,028 – 0,141 g/24 horas) (0,01 – 0,14 g/L)

Esses valores são fornecidos somente como orientação, cada laboratório deve estabelecer sua faixa de referência.
Conversão unitária: 1 mg/dL = 0,01 g/L

AUTOMAÇÃO:
Adaptação especial para analisadores está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada.

LINEARIDADE:
A reação é linear até a concentração de 100 mg/dL (1,0 g/L). Se os valores excederem esse intervalo, as amostras devem ser diluídas com solução NaCl 9,0 g/L e multiplicadas pelo fator de diluição aplicado.

SENSIBILIDADE:
O limite inferior de detecção é 1,21 mg/dL (0,0121 g/L).

PRECISÃO:
Repetibilidade:
A repetibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 2 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTRAENSAIO *n = 20*	Média (mg/dL)	Desvio padrão (mg/dL)	CV%
Amostra 1	11,3	0,25	2,47
Amostra 2	58,1	0,83	1,42

Reprodutibilidade:
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 4 dias consecutivos, utilizando 2 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTERENSAIO *n = 20*	Média (mg/dL)	Desvio padrão (mg/dL)	CV%
Amostra 1	13,4	0,22	1,67
Amostra 2	61,84	1,27	2,06

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:
Urina: Foram realizados testes com 40 amostras comparando-se o reagente PROTEÍNA NA URINA/LCR (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em:

$y = 0{,}9287x + 0{,}0404$ coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,9917

LCR: Foram realizados testes com 40 amostras comparando-se o reagente PROTEÍNA NA URINA/LCR (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em:

$y = 0{,}9753x + 0{,}00784$ coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,9981

CALIBRAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE:
Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do calibrador e controles abaixo:
VytCal Calibrador de PTU
VytCon Controle de PTU I
VytCon Controle de PTU II

APRESENTAÇÕES:

	REFERÊNCIA	VOLUME	CONTEÚDO	
			R1	VytCal
PROTEÍNA NA URINA/LCR (Universal)	HMG010307248EN	50 mL	2 x 25 mL	1 x 1 mL
	HMG010307249EN	100 mL	1 x 100 mL	1 x 1 mL
PROTEÍNA NA URINA/LCR (BM SERIES I)	HMG010308138EN	80 mL	4 x 20 mL	1 x 1 mL
	HMG010308376EN	60 mL	3 x 20 mL	1 x 1 mL
PROTEÍNA NA URINA/LCR (BM SERIES III)	HMG010308752EN	120 mL	2 x 60 mL	1 x 1 mL

ANVISA: 81692610276

BIBLIOGRAFIA:

1. Burtis CA, Bruns DE. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 7th Ed. Philadelphia: Elsevier (Saunders), 2015.
2. Killingsworth, L. M. Clinical applications of protein determinations in biological fluids other than blood. Clinical Chemistry, 28(5), 1093–1102, 1982.
3. Ricos C et al. Scand J Clin Lab Invest. 59:491-500, 1999.
4. Kaplan, LA, Pesce, AJ. Methods in Clinical Chemistry, St. Louis: The C.V. Mosby Co. 1122, 1997
5. Statland B.E. Clinical Decision Levels for Laboratory Tests, Second Edition [Oradell NJ;Medical Economics Books, 1987.
6. Frase, CG. Biological Variation: from principles to pratice; AACC Press, 2001.
7. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Clin Chem. 24:863-8690, 1986.
8. Young DS. Ann Clin Biochem. 34(6):579-581, 1997
9. Clancy D et al. AAPS PharmSciTech. 2017, 18, 1158–1176
10. Wong ECC et al. Pediatric Reference Intervals, 8th Ed. San Diego, CA: AACC Press, 2021.
11. Wu AHB. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests., 4th Ed. Missouri: Elsevier (Saunders), 2006.

SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE – SAC:
Dúvidas técnicas no procedimento ou manuseio deste kit, entrar em contato com:

ASSESSORIA CIENTÍFICA – VYTTRA DIAGNÓSTICOS
Tel. 0800 703 4043

FABRICANTE:

Vyttra Diagnósticos S.A.
Avenida Radamés Lo Sardo, 222 - Bairro Uberaba - Bragança Paulista - São Paulo
CEP: 12908-829 CNPJ: 00.904.728/0012-09
Responsável Técnica: Patrícia Yamaguti - CRF/SP: 32622

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO:

	Data de Fabricação
	Data de Validade
	Limite de Temperatura
REF	Código do Produto
	Consultar Instruções de Uso
LOT	Número do Lote
IVD	Produto para Diagnóstico In Vitro
	Risco Biológico
	Endereço do Fabricante
CONTROL	Controle
Σ	Quantidade de testes