

Total Protein Urine/CSF Gen.3

Proteínas totais em urina/LCR, 3ª geração

Informações para encomenda

COBAS INTEGRA	150 Testes	Ref. 03333825 190
Total Protein Urine/CSF Gen.3		System-ID 07 6763 8
C.f.a.s. PUC	5 × 1 mL	Ref. 03121305 122
		System-ID 07 6755 7
Precinorm PUC	4 × 3 mL	Ref. 03121313 122
		System-ID 07 6756 5
Precipath PUC	4 × 3 mL	Ref. 03121291 122
		System-ID 07 6757 3
NaCl Diluent 9%	6 × 22 mL	Ref. 20756350 322
		System-ID 07 5635 0
COBAS INTEGRA	150 Testes	Ref. 20764337 322
Cleaner Cassette		System-ID 07 6433 7

● Indica em que analisador(es) pode ser utilizado o suporte de reagentes cobas c pack

COBAS INTEGRA 400/400 plus	COBAS INTEGRA 700	COBAS INTEGRA 800
●	●	●

Informações do sistema

COBAS INTEGRA Total Protein Urine/CSF Gen.3 (TPUC3)
 Teste TPU3, ID do teste 0-163; teste TPC3, ID do teste 0-263.

Função

Teste para determinação quantitativa in vitro da concentração de proteína total em urina e no líquido cefalorraquidiano humanos, utilizando os sistemas COBAS INTEGRA.

Sumário

As determinações das proteínas na urina são usadas no diagnóstico e tratamento de doenças, como as doenças renais ou cardíacas, ou perturbações da tiróide, que se caracterizam pela presença de proteinúria ou albuminúria.

As determinações das proteínas no LCR destinam-se a ser usadas no diagnóstico e tratamento de doenças como meningite, tumores do cérebro e infecções do sistema nervoso central.¹

A urina é formada por ultrafiltração do plasma através da parede capilar glomerular. As proteínas com uma massa molecular relativa >40.000 daltons são praticamente todas retidas, ao passo que quantidades mais pequenas passam facilmente na filtração glomerular. A maior parte das proteínas do LCR tem origem num processo de difusão, a partir do plasma, através da barreira hematoencefálica. Observam-se níveis elevados em resultado de uma maior permeabilidade da barreira hematoencefálica ou associados a um aumento da síntese local das imunoglobulinas.

Os métodos turbidimétricos que usam o ácido tricloroacético (TCA) ou o ácido sulfosalicílico (SSA) exigem a precipitação da proteína na amostra; a turvação resultante pode ser instável e floculada. Os reagentes dos métodos de ligação de corante, tais como o azul de Coomassie e o molibdato-vermelho de pirogalol, reagem com as diversas proteínas segundo a composição dos seus aminoácidos e podem tingir recipientes de vidro ou plástico. Devido aos mecanismos de reacção, todos os métodos -tanto turbidimétricos como colorimétricos- apresentam sensibilidades diferentes às diversas proteínas, especialmente aos fragmentos de proteínas tais como as proteínas Bence Jones² e proteínas de pequeno tamanho como a α 1-microglobulina.

O ensaio Roche Diagnostics Total Protein Urine/CSF Gen.3 baseia-se no método descrito por Iwata e Nishikaze,³ modificado posteriormente por Luxton, Patel, Keir e Thompson.⁴ Neste método, o cloreto de benzetónio reage com a proteína num

meio básico, dando origem a uma turbidez mais estável e mais homogeneamente distribuída que aquela obtida com as metodologias de SSA ou TCA. Este ensaio directo demonstra uma reactividade semelhante à da albumina e da γ -globulina, e nenhuma interferência devida à a peptídeos pequenos. A interferência causada pelos iões de magnésio foi eliminada através da adição de EDTA.

Princípio do teste

Método turbidimétrico.

A amostra é pré-incubada em solução alcalina com EDTA, que desnatura a proteína e elimina a interferência dos iões magnésio. Então adiciona-se o cloreto de benzetónio, produzindo uma turbidez que é lida a 512 nm.

Reagentes – soluções de trabalho

Componentes	Concentrações		
	R1	R2 = SR	Teste
Hidróxido de sódio	530	321	mmol/L
EDTA-Na	74	44,8	mmol/L
Cloreto de benzetónio		32	7,75 mmol/L

Avisos e precauções

Preste atenção a todos os avisos e precauções incluídos na Introdução do Capítulo 1 deste folheto informativo.

ADVERTÊNCIA. Corrosivo. O R1 contém hidróxido de potássio. Em caso de contacto, lave as áreas afectadas com quantidades abundantes de água. Em caso de contacto com os olhos ou ingestão, contactar imediatamente um médico.

ATENÇÃO. IRRITANTE. O R2 contém cloreto de benzetónio. Evite o contacto com os olhos, a pele e as mucosas. Em caso de contacto, lave as áreas afectadas com quantidades abundantes de água. Em caso de contacto com os olhos ou ingestão, contactar imediatamente um médico.

Este dispositivo contém componentes que estão classificados da seguinte forma, de acordo com a Directiva Europeia 99/45/CE:

INTEGRA 400/700/800



C

O R1 contém hidróxido de potássio.

Corrosivo

R 34

Provoca queimaduras.

S 26-37/39-45

Em caso de contacto com os olhos, lave imediata e abundantemente com água e consulte um especialista. Em caso de possível contacto directo com o reagente, use óculos/máscara e luvas de protecção adequados. Em caso de acidente ou indisposição, consulte imediatamente o médico (se possível mostre-lhe o rótulo).

Telefone de contacto: todos os países: +49-621-7590,

EUA: +1-800-428-2336

Preparação dos reagentes

Pronto a ser utilizado.

Armazenamento e estabilidade

Validade a 15-25°C

Consulte o prazo de validade no rótulo do suporte de reagentes cobas c pack

Sistemas COBAS INTEGRA 400/400 plus

No analisador a 10-15°C 12 semanas

Analisadores COBAS INTEGRA 700/800

No analisador a 8°C 6 semanas

Colheita e preparação das amostras

Para colheita e preparação das amostras, utilize apenas tubos ou cuvetes de amostra apropriados.

Apenas as amostras indicadas em seguida foram testadas e consideradas aceitáveis.

Urina

Utilize amostras de urina espontânea ou de 24 horas. Não utilize conservantes. Refrigere a amostra durante a colheita.

Líquido cefalorraquidiano (LCR)

Não são necessários aditivos especiais. A presença de sangue numa amostra de LCR invalida o valor de proteínas.¹

As amostras para análise de proteínas na urina/LCR deverão ser colhidas antes da administração de fluoresceína ou, pelo menos, 24 horas depois.⁵

Os tipos de amostras indicados foram testados usando tubos de colheita de amostras seleccionados e comercialmente disponíveis à data do teste, i.e. nem todos os tubos dos diferentes fabricantes disponíveis no mercado foram testados. Os sistemas de colheita de amostras de diferentes fabricantes podem, por sua vez, conter materiais diferentes que, em alguns casos, podem afectar os resultados dos testes. Se utilizar amostras em tubos primários (sistemas de colheita de amostras), consulte as instruções do fabricante dos tubos.

Estabilidade⁶

Urina:	1 dia a 15-25°C
	7 dias a 2-8°C
	1 mês a (-15)-(-25)°C
LCR:	1 dia a 15-25°C
	6 dias a 2-8°C.
	>1 ano a (-15)-(-25)°C

As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio.

Materiais fornecidos

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho" no relativo aos reagentes.

Materiais necessários (mas não fornecidos)

NaCl a 9% (solução salina isotónica concentrada 10 vezes) para pós-diluições automáticas e para diluições padrão em série.

Utilize NaCl Diluent 9%, Ref. 20756350, System-ID 07 5635 0, ou prepare a solução de NaCl a 9% com soluções salinas concentradas ou comprimidos de cloreto de sódio à venda no mercado. A solução de NaCl ao 9% é colocada na posição predefinida no rack e permanece estável durante 28 dias estando nos analisadores COBAS INTEGRA 400/400 plus/700/800.

1. TPU3/TPC3

COBAS INTEGRA Cleaner Cassette, Ref. 20764337, System-ID 07 6433 7. Recomendam-se ciclos de lavagem suplementares sempre que determinadas combinações de testes sejam executadas em conjunto nos sistemas COBAS INTEGRA. Para mais informações sobre combinações de testes que requerem ciclos de lavagem suplementares, consulte a Introdução, Parte III, do Manual de Métodos.

2. TPU3/TPC3 nos sistemas COBAS INTEGRA 700/800

COBAS INTEGRA Cleaner Cassette, Ref. 20764337, System-ID 07 6433 7, ISE-Deproteinizer, Ref. 20763071. Recomendamos que seja realizado um teste de ciclo de lavagem extra para agulhas para amostras (EWC-S, 0-989), conforme descrito no folheto informativo, Introdução, Parte III, antes de efectuar as análises de lote para LCR ou urina.

Realização do ensaio

Para assegurar a correcta execução do ensaio é importante cumprir as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado. Consulte o manual do operador apropriado para obter instruções mais específicas sobre o ensaio feito neste analisador.

Aplicações para urina e LCR

Analisadores COBAS INTEGRA 400/400 plus - Definição do teste

Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Ponto final
Modo de reacção	R1-S-SR
Sentido da reacção	Aumento
Comprimento de onda A/B	512 nm
Primeiro/último cálc.	33/40
Unidade	mg/L

Parâmetros de pipetagem

	Diluyente (H ₂ O)	
R1	100 µL	
Amostra	10 µL	15 µL
SR	40 µL	
Volume total	165 µL	

Analisadores COBAS INTEGRA 700/800 - Definição do teste

Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Ponto final
Modo de reacção	R1-S-SR
Sentido da reacção	Aumento
Comprimento de onda A/B	512 nm
Primeiro/último cálc.	44/60
Unidade	mg/L

Parâmetros de pipetagem

	Diluyente (H ₂ O)	
R1	100 µL	
Amostra	10 µL	15 µL
SR	40 µL	
Volume total	165 µL	

Calibração

Calibrador	C.f.a.s. PUC
Modo de calibração	Logit/log 4

Rácio de diluição da calibração	1:1, 1:4, 1:8, 1:20, 1:40 e 0 mg/L realizada automaticamente pelo analisador
Repetição da calibração	Duplicação recomendada
Intervalo de calibração	Sistemas COBAS INTEGRA 400/400 plus: cada cassete, de 43 em 43 dias, e conforme necessário, segundo os procedimentos de controlo da qualidade. Analisadores COBAS INTEGRA 700/800: cada lote e conforme necessário, segundo os procedimentos de controlo da qualidade.

Introduza o valor teórico das proteínas totais específico do lote do calibrador não diluído, indicado no folheto informativo do calibrador C.f.a.s. PUC.

Rastreabilidade: Este método foi padronizado contra um método interno rastreável para NIST.

Controlo da qualidade

Intervalo de referência	Precinorm PUC
Intervalo patológico	Precipath PUC
Intervalo de controlo	24 horas (recomendado)
Sequência de controlo	Definida pelo utilizador
Controlo após calibração	Recomendado

Para o controlo da qualidade, utilize os materiais de controlo indicados na secção "Informações para encomenda". Adicionalmente pode ser utilizado outro material de controlo adequado.

Os intervalos e limites de controlo devem ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites definidos.

Cada laboratório deve estabelecer as medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora dos limites.

Cálculo dos resultados

Os sistemas COBAS INTEGRA calculam automaticamente a concentração do analito de cada amostra. Para mais informações, consulte a secção Análise de Dados, no Capítulo 7 do Manual do Utilizador (analisador COBAS INTEGRA 700), ou a Análise de dados da ajuda Online (analisadores COBAS INTEGRA 400/400 plus/800).

Factor de conversão: $\text{mg/L} \times 0,1 = \text{mg/dL}^7$

Cálculo da excreção de proteínas na urina de 24 horas:
 $\text{mg/L} \times \text{TV (litros por 24 h)} = \text{mg/dia}$

Limitações - interferências⁸

Critério: Recuperação dentro de $\pm 10\%$ do valor inicial.

Urina

Icterícia Sem interferência significativa até um índice I de 35 (concentração aproximada de bilirrubina conjugada: 599 $\mu\text{mol/L}$ ou 35 mg/dL).

Hemólise A hemoglobina interfere.

Fármacos	Dos fármacos testados in vitro, a levodopa, a metildopa e a cefoxitina de sódio causam interferências em concentrações terapêuticas (nível de proteínas totais artificialmente elevadas). Para obter uma lista dos fármacos testados e das respectivas concentrações, consulte o Manual de Métodos.
Outras	Em casos muito raros, a gamapatia, em particular a de tipo IgM (macroglobulinemia de Waldenstroem), pode produzir resultados pouco fiáveis.

IMPORTANTE

No analisador COBAS INTEGRA 700/800, recomenda-se que efectue a análise das amostras de LCR e de urina em série, de modo a evitar a contaminação (carry-over) das amostras. Note que a contaminação das amostras com reagente a partir do teste de frutamina para o teste TUPC não pode ser evitada utilizando o programa "Evasion" nos analisadores COBAS INTEGRA 700/800.

Ficou demonstrado que as seguintes substâncias não provocam interferência significativa quando adicionadas a um pool de urina humana normal ou patológico.

Cloreto de amónio	187 mmol/L	(10 g/L)
Citrato	10 mmol/L	(190 mg/dL)
Creatinina	53 mmol/L	(6 g/L)
Glucose	194 mmol/L	(35 g/L)
Magnesium	75 mmol/L	(1,8 g/L)
Oxalato	10 mmol/L	(90 mg/dL)
Fosfato	39 mmol/L	(1,2 g/L)
Ureia	833 mmol/L	(50 g/L)
Ácido úrico	5 mmol/L	(85 mg/dL)

A administração de substitutos do plasma baseados em gelatina pode provocar valores aumentados de proteína na urina.

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a história clínica do doente, o exame clínico e outros resultados.

Intervalo de medição (urina e LCR)

40-2.000 mg/L (4-200 mg/dL)

Intervalo de medição alargado (calculado)

Factor pós-diluição: 3 (recomendado)

40-6.000 mg/L (4-600 mg/dL)

Limite de detecção inferior

40 mg/L (4 mg/dL)

O limite de detecção representa o nível de analito mais baixo mensurável passível de ser distinguido de zero. É calculado como o valor situado 3 desvios padrão (DP) acima de uma amostra zero (amostra zero + 3 DP, precisão intra-ensaio, n = 21).

Valores de referência

Urina: ⁹	24 h:	< 140 mg/24 h
	Espontânea:	< 150 mg/L
LCR: ¹⁰		200-400 mg/L (20-40 mg/dL)

Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores de referência para a sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar os seus próprios intervalos de referência.

Dados específicos sobre o desempenho para a urina

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho dos analisadores COBAS INTEGRA. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

INTEGRA 400/700/800

Precisão

A reprodutibilidade foi determinada utilizando amostras humanas e controlos num protocolo interno (intra-ensaio n = 21, inter-ensaio n = 21). Obtiveram-se os seguintes resultados:

Amostra	Intra-ensaio			Inter-ensaio		
	Média mg/L	DP mg/L	CV %	Média mg/L	DP mg/L	CV %
Precinorm PUC	245	1,22	0,50	329	2,90	0,88
Precipath PUC	789	2,67	0,34	792	2,78	0,35

Comparação dos métodos

Os valores de proteínas totais das amostras de urina humana obtidos no analisador COBAS INTEGRA 800 com o reagente COBAS INTEGRA Total Protein Urine/CSF Gen.3 foram comparados com os valores determinados com o mesmo reagente utilizado no analisador Roche/Hitachi 917 e com o reagente anterior (TPU-C) utilizado no analisador COBAS INTEGRA 800.

Analisador Roche/Hitachi 917

Tamanho da amostra (n) = 113

Passing/Bablok¹¹

$$y = 0,981x + 6,61 \text{ mg/L}$$

$$\tau = 0,923$$

$$DP (\text{md } 95) = 56,4$$

Regressão linear

$$y = 0,970x + 20,9 \text{ mg/L}$$

$$r = 0,994$$

$$Sy.x = 29,2$$

Os valores variaram entre 40 e 1788 mg/L (4,0 a 178,8 mg/dL).

Analisador COBAS INTEGRA 800

Tamanho da amostra (n) = 137

Passing/Bablok¹¹

$$y = 0,872x + 22,6 \text{ mg/L}$$

$$\tau = 0,762$$

$$DP (\text{md } 95) = 87,9$$

Regressão linear

$$y = 0,770x + 35 \text{ mg/L}$$

$$r = 0,981$$

$$Sy.x = 35,1$$

Os valores variaram entre 14 e 1675 mg/L (1,4 a 167,5 mg/dL).

Dados específicos sobre o desempenho para o LCR

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho dos analisadores COBAS INTEGRA. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

Precisão

A reprodutibilidade foi determinada utilizando amostras humanas e controlos num protocolo interno (intra-ensaio n = 21, inter-ensaio n = 21). Obtiveram-se os seguintes resultados:

Amostra	Intra-ensaio			Inter-ensaio		
	Média mg/L	DP mg/L	CV %	Média mg/L	DP mg/L	CV %
Precinorm PUC	329	2,11	0,64	329	2,90	0,88
Precipath PUC	789	2,67	0,34	792	2,78	0,35

Comparação dos métodos

Os valores de proteínas totais das amostras de LCR humano obtidos no analisador COBAS INTEGRA 800 com o reagente COBAS INTEGRA Total Protein Urine/CSF Gen.3 foram comparados com os valores determinados com o mesmo reagente utilizado no analisador Roche/Hitachi MODULAR P e com o reagente anterior (TPU-C) utilizado no analisador COBAS INTEGRA 800.

Analisador Roche/Hitachi MODULAR P

Tamanho da amostra (n) = 28

Passing/Bablok¹¹

$$y = 0,976x + 1,23 \text{ mg/L}$$

$$\tau = 0,979$$

$$DP (\text{md } 95) = 13,3$$

Regressão linear

$$y = 0,981x + 2,01 \text{ mg/L}$$

$$r = 0,998$$

$$Sy.x = 8,2$$

Os valores variaram entre 43 e 952 mg/L (4,3 a 95,2 mg/dL).

Analisador COBAS INTEGRA 800

Tamanho da amostra (n) = 24

Passing/Bablok¹¹

$$y = 0,87x + 1,35 \text{ mg/L}$$

$$\tau = 0,935$$

$$DP (\text{md } 95) = 28,1$$

Regressão linear

$$y = 0,86x - 0,48 \text{ mg/L}$$

$$r = 0,996$$

$$Sy.x = 15,4$$

Os valores variaram entre 171 e 1.296 mg/L (17,1 a 129,6 mg/dL).

Bibliografia

1. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders 1987:336,339-341.
2. Boege F. Bence Jones-Proteine. J Lab Med 1999;23:477-482.
3. Iwata I, Nishikaze O. Clin Chem 1979;25/7:1317-1319.
4. Luxton R, Patel P, Keir G, Thompson E. Clin Chem 1989;35/8:1731-1734.
5. Koumantakis G. Fluorescein Interference with Urinary Creatinine and Protein Measurements. Clin Chem 1991;37/10:1799.
6. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2. 2002. .
7. Tietz NW, ed. Clinical Guide to Laboratory Tests. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders 1995:520.
8. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
9. Junge W, Wilke B, Halabi A, Jarausch J, Klein G. Reference Intervals for Total Protein in Collected and Random Urine using the Benzethonium Chloride Method. Clin Chem 2006;52:A157 [Abstract].
10. Thomas L. Labor und Diagnose. 6. Auflage; TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, Frankfurt/Main, 2005:930-934.
11. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem.
©2006 Roche Diagnostics.

 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

