



FINALIDADE

Método para determinação da Proteína Total em amostras de urina e líquido. Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Teste Colorimétrico - Vermelho de Pírogalo
As proteínas presentes na urina reagem com o Vermelho de Pírogalo e o Molibdato formando um complexo de cor vermelha, com absorção máxima em 600 nm (578 - 630 nm). A intensidade de cor formada é diretamente proporcional a concentração de proteína na amostra.

REAGENTES

Número 1 - Reagente de Cor - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Vermelho de Pírogalo < 60 µmol/L, Molibdato de Sódio > 40 µmol/L, surfactantes, solubilizante, estabilizantes e conservante.
Número 2 - Padrão - Conservar entre 2 e 8°C. Contem: Albumina 65 mg/dL e conservante.
Número 3 - Controle - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Proteína* e conservante.
* Valor varia a cada lote.

APRESENTAÇÃO

Apresentações	Reagente Nº 1	Reagente Nº 2	Reagente Nº 3
1	1 x 25 mL	1 x 3,0 mL	1 x 3,0 mL
2	2 x 25 mL	1 x 3,0 mL	1 x 3,0 mL
3	3 x 25 mL	1 x 3,0 mL	1 x 3,0 mL
4	4 x 25 mL	1 x 3,0 mL	1 x 3,0 mL
5	5 x 20 mL	1 x 3,0 mL	1 x 3,0 mL
6	5 x 40 mL	1 x 3,0 mL	1 x 3,0 mL
7	10 x 40 mL	1 x 3,0 mL	1 x 3,0 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Para a realização da técnica são necessários espectrofotômetro ou colorímetro, relógio ou cronômetro, pipetas e tubos de ensaio. Estes itens são encontrados no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento e transporte deverá ser de 2 e 8°C. O transporte em temperaturas até 30°C não deverá exceder 5 dias. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.
2- Seguir com rigor a metodologia proposta, para obtenção de resultados exatos.
3- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
4- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.
5- A presença de detergente no material utilizado pode alterar significativamente os resultados.

- 6- A calibração deve ser repetida periodicamente, para verificar alguma alteração na resposta do colorímetro ou do espectrofotômetro.
7- Os reagentes Nº 2 e 3 contêm Azida Sódica, irritante para pele e mucosa. Manusear com cuidado.
8- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
9- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.
10- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.
11- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Urina (amostra aleatória e de 24 horas) e Líquido Cefalorraquidiano (Líquor).
A amostra de Urina é estável por 1 dia entre 15 e 30°C, 7 dias entre 2 e 8°C, e 1 mês a -20°C.⁶
A amostra de Líquor é estável por 1 dia entre 15 e 30°C, 6 dias entre 2 e 8°C, e 1 ano a -20°C.⁶

Preparação das amostras:

Urina - Não há necessidade de conservantes. Retirar uma alíquota de 20 mL de urina, centrifugar e proceder a técnica utilizando o sobrenadante.
Líquor - Centrifugar a amostra e utilizar o sobrenadante.
A amostra para controle terapêutico deve ser colhida sempre no mesmo horário.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

A estabilidade de calibração do kit Bioprot U/LCR instalado em equipamento com refrigeração é de pelo menos 09 dias. Esta estabilidade pode variar de acordo com as condições do teste, do equipamento e do ambiente. Portanto, sugere-se acompanhar o desempenho do produto utilizando soros controles.

PREPARO DOS REAGENTES

Os reagentes estão prontos para uso.

TÉCNICA

Marcar 3 tubos de ensaio com as letras B (Branco), P (Padrão), A (Amostra) e proceder como a seguir:

	B	P	A
Amostra	--	--	20 µL
Padrão	--	20 µL	--
Água Destilada	20 µL	--	--
Reagente Nº 1	1000 µL	1000 µL	1000 µL

Homogeneizar e incubar por 5 minutos a 37°C e ler a absorbância em filtro de 600 nm (578 a 630 nm), contra um branco de reagente em no máximo 30 minutos.

CÁLCULOS

A determinação da concentração de proteínas totais em urina e líquido é calculada pela relação:

$$\text{Proteína (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbância da Amostra}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 65$$

Exemplo:
Em uma dosagem de proteínas totais no líquido, foram obtidos os seguintes valores de absorbâncias:

Absorbância da Amostra = 0,089
Absorbância do Padrão = 0,160
Concentração do Padrão = 65

$$\text{Proteína (mg/dL)} = \frac{0,089 \times 65}{0,160} = 36,16 \text{ mg/dL}$$

Como a reação de cor segue a Lei de Lambert-Beer, pode-se usar o Fator de Calibração:

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

Exemplo:
$$F_c = \frac{65}{0,160} = 406,25$$

Proteína (mg/dL) = Absorbância da Amostra x Fc
Proteína (mg/dL) = 0,089 x 406,25 = 36,16
Os resultados serão expressos em mg/dL.

Urina de 24 horas

Proceder a dosagem da urina de 24 horas utilizando uma alíquota do volume total. Esta alíquota deve ser centrifugada. A concentração em mg/24h é obtida utilizando-se o resultado da dosagem da alíquota (mg/dL) multiplicando este valor pelo volume total urinário (mL) e dividindo o resultado por 100.

$$\text{Proteína em Urina de 24 horas (mg/24h)} = \frac{\text{Dosagem da alíquota (mg/dL)} \times \text{Volume de 24 horas (mL)}}{100}$$

Exemplo:
Em uma dosagem de proteínas totais na urina de 24 horas, foi obtido o seguinte resultado:
Dosagem da Amostra (mg/dL) = 5,0
Volume Urinário de 24 horas (mL) = 2000

$$\text{Proteína em Urina de 24 horas (mg/24h)} = \frac{5,0 \times 2000}{100} = 100 \text{ mg/24 horas}$$

INTERFERENTES

Presença de sangue na urina ou líquido produz resultados falsamente elevados. A presença de detergente no material utilizado pode alterar significativamente os resultados.

CONTROLE INTERNO DA QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

RASTREABILIDADE

O padrão do kit é rastreável ao material de referência SRM 927D do NIST (National Institute of Standards and Technology).

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência foram obtidos através da determinação de Proteínas Totais em populações sadias, do sexo masculino e feminino.

Urina Aleatória 1 a 15 mg/dL
Urina de 24 Horas 24 a 141 mg/24h
Líquor 15 a 45 mg/dL

Para converter os valores de mg/dL para g/L (SI), multiplicar os resultados obtidos por 0,01.
Estes valores devem ser usados apenas como orientação. Cada laboratório deverá criar sua própria faixa de referência, de acordo com a população atendida.
Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

DESEMPENHO DO PRODUTO
CONTROLE DE QUALIDADE

Exatidão
COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA
O kit Bioprot U/LCR foi comparado com outro método para dosagem da Proteína Total na urina comercialmente disponível. Foram realizadas 41 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi Y = 1,000X - 0,080 e o coeficiente de correlação 0,99999. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão
REPETIBILIDADE
A repetibilidade foi calculada a partir de 40 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/24h)	32,84	15,25	27,97
Desvio Padrão (mg/24h)	0,46	0,17	0,17
Coefficiente de Variação (%)	1,40	1,13	0,59

REPRODUTIBILIDADE
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 40 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/24h)	31,96	15,44	27,89
Desvio Padrão (mg/24h)	0,77	0,16	0,10
Coefficiente de Variação (%)	2,42	1,06	0,37

Sensibilidade
A sensibilidade foi calculada a partir de 40 determinações de uma amostra isenta de Proteínas Totais na urina. A média encontrada foi 1,484 mg/dL, com desvio padrão de 0,093 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, e é igual a 1,764 mg/dL.

Linearidade
A reação é linear até a concentração de 100 mg/dL. Para valores superiores, diluir a amostra com solução de NaCl 0,85% e repetir a dosagem. Multiplicar o resultado assim obtido pelo fator de diluição empregado.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO
A proteinúria em altas concentrações é encontrada na maioria dos problemas renais, como nefropatias primárias e secundárias, que podem causar o aumento da permeabilidade glomerular ou diminuição da reabsorção nos túbulos renais. Podem haver também causas pós renais, como infecções, sangramentos ou doenças malignas do trato urinário. Em outras situações agudas como febre ou stress físico ou psicológico, níveis altos de proteína na amostra também podem ser encontrados. No líquor, elevados níveis de proteína podem ser encontrados em casos de aumento da pressão intracraniana devido a tumores cerebrais, hemorragia intracerebral ou traumatismos, em inflamações (principalmente devido a meningites bacterianas) e no caso de esclerose múltipla. Aumento da permeabilidade da barreira de sangue-líquido cefaloraquidiano é refletido com o aumento da proporção líquor/soro da proteína total.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS
1. Johnson AM, Rohlfis EM, Silverman LM . Proteínas. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3 ed.Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 477-540.
2. Felgenhauer K.st Laboratory diagnosis of neurological diseases. In: Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1 ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. st1308-26.
3. Boege F. Urinary proteins. In: Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1 ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 382-400.
4. Orsonneau JL, Douet P, Massoubre C, Lustenberger P, Bernard S. An improved pyrogallol red-molybdate method for determining total urinary protein. Clin Chem 1989;35:2233-6.
5. Watanabe N, Kamei S, Ohkubo A, Yamanaka M, Ohsawa S, Makino K et al. Urinary protein as measured with a pyrogallol red-molybdate complex. Manually and in a Hitachi 726 automated analyzer. Clin Chem 1986; 32:1551-4.
6. WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
7. QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTIA DE QUALIDADE
Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes Bioclin são testados pelo Departamento de Controle da Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

EC

REP

OBELIS S.A.
Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR
Serviço de Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 0315454
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit Bioprot U/LCR na ANVISA: 10269360178

Revisão: Junho/2020

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

REF

NÚMERO DE CATÁLOGO

LOT

NÚMERO DO LOTE



DATA DE FABRICAÇÃO



DATA DE VALIDADE
(último dia do mês)



LIMITE DE TEMPERATURA
(conservar a)



O CONTEÚDO É SUFICIENTE
PARA <N> TESTES



CONSULTAR INSTRUÇÕES
DE USO

IVD

PRODUTO PARA
DIAGNOSTICO IN VITRO

EC

REP

REPRESENTANTE
EUROPEU AUTORIZADO



PROTEGER DA
LUZ E CALOR



FABRICADO POR

CONTROL

CONTROLE

CONTROL +

CONTROLE POSITIVO

CONTROL -

CONTROLE NEGATIVO



RISCO BIOLÓGICO



INFLÂMÁVEL



CORROSIVO



TÓXICO

CE

MARCA CE



NÃO UTILIZAR SE A
EMBALAGEM ESTIVER
DANIFICADA



INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Método para determinación de la Proteína Total en muestras de orina y líquido. Test colorimétrico, solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Test Colorimétrico - Rojo de Pírogalol

Las proteínas presentes en la orina reaccionan con el Rojo de Pírogalol y el Molibdato formando un complejo de color rojo, con absorción máxima en 600 nm (578 - 630 nm). La intensidad de color formado es directamente proporcional a la concentración de proteína en la muestra.

REACTIVOS

Numero 1 - Reactivo de Color - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Rojo de Pírogalol < 60 µmol/L, Molibdato de Sodio > 40 µmol/L, tensioactivos, solubilizante, estabilizantes y conservante.

Numero 2 - Patrón - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Albumina 65 mg/dL y conservante.

Numero 3 - Control - Almacenar entre 2 y 8°C. Contém: Proteínas* y conservante.

* Valor varía con cada lote.

PRESENTACIÓN

Presentaciones	Reactivo N° 1	Reactivo N° 2	Reactivo N° 3
1	1 x 25 mL	1 x 3,0 mL	1 x 3,0 mL
2	2 x 25 mL	1 x 3,0 mL	1 x 3,0 mL
3	3 x 25 mL	1 x 3,0 mL	1 x 3,0 mL
4	4 x 25 mL	1 x 3,0 mL	1 x 3,0 mL
5	5 x 20 mL	1 x 3,0 mL	1 x 3,0 mL
6	5 x 40 mL	1 x 3,0 mL	1 x 3,0 mL
7	10 x 40 mL	1 x 3,0 mL	1 x 3,0 mL

EQUIPAMIENTOS E INSUMOS OPERACIONALES

Para la realización de la técnica son necesarios espectrofotómetro o colorímetro, reloj o cronómetro, pipetas y tubos de ensayo. Estos ítems se encuentran en el mercado especializado en artículos para Laboratorios de Análisis Clínicos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento y transporte deberá ser de 2 y 8°C. El transporte a temperaturas hasta 30°C no deberá exceder 5 días. Mantener al abrigo de la luz y evitar humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.

2- Seguir con rigor la metodología propuesta, para la obtención de resultados exactos.

3- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente e exenta de agentes contaminantes.

4- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos y agentes oxidantes y reductores, que pueden alterar de forma significativa los resultados.

5- La presencia de detergente en el material utilizado puede alterar significativamente los resultados.

6- La calibración debe ser repetida periódicamente, para verificar alguna alteración en la respuesta do colorímetro o del espectrofotómetro.

7- Los reactivos N° 2 y 3 contienen Azida Sódica, irritante para la piel y mucosa. Manosear con cuidado.

8- Se recomienda la aplicación de las leyes locales, estatales y federales de protección ambiental para que el desecho de reactivos y materiales biológicos se haga de acuerdo a la legislación vigente.

9- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.

10- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.

11- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Orina (muestra aleatoria y de 24 horas) y Líquido Cefalorraquídeo (Líquor).

La muestra de Orina es estable por 1 día entre 15 y 30°C, 7 días entre 2 y 8°C, y 1 mes a -20°C.⁶

La muestra de Líquor es estable por 1 día entre 15 y 30°C, 6 días entre 2 y 8°C, y 1 año a -20°C.⁶

Preparación de las muestras:

Orina - No hay necesidad de conservantes. Retirar una alícuota de 20 mL de orina, centrifugar y proceder la técnica utilizando el sobrenadante.

Líquor - Centrifugar la muestra y utilizar el sobrenadante.

La muestra para control terapéutico debe ser cogida siempre al mismo horario.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

La estabilidad de calibración del kit de Bioprot U/LCR instalado en equipos refrigerados es de al menos 09 días. Esta estabilidad puede variar según las condiciones de la prueba, el equipo y el entorno. Por lo tanto, se sugiere seguir el rendimiento del producto utilizando sueros de control.

PREPARO DE LOS REACTIVOS

Los reactivos están listos para el uso.

TÉCNICA

Marcar 3 tubos de ensayo con las letras B (Blanco), P (Patrón), M (Muestra) y proceder como sigue:

	B	P	M
Muestra	--	--	20 µL
Patrón	--	20 µL	--
Água Destilada	20 µL	--	--
Reactivo N° 1	1000 µL	1000 µL	1000 µL

Homogenizar e incubar por 5 minutos a 37°C y leer la absorbancia en filtro de 600 nm (578 a 630 nm), contra un blanco de reactivo en máximo 30 minutos.

CÁLCULOS

La determinación de la concentración de proteínas totales en la orina y líquido es calculada por la relación:

$$\text{Proteína (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbancia de la Muestra} \times 65}{\text{Absorbancia del Patrón}}$$

Ejemplo:

En una dosificación de proteínas totales en el líquido, fueron obtenidos los siguientes valores de absorbancias:

Absorbancia de la Muestra = 0,089

Absorbancia del Patrón = 0,160

Concentración del Patrón = 65

$$\text{Proteína (mg/dL)} = \frac{0,089 \times 65}{0,160} = 36,16 \text{ mg/dL}$$

Como la reacción de color sigue la Ley de Lambert-Beer, se puede usar el Factor de Calibración:

$$\text{Factor de Calibración} = \frac{\text{Concentración del Patrón}}{\text{Absorbancia del Patrón}}$$

Ejemplo:

$$F_c = \frac{65}{0,160} = 406,25$$

Proteína (mg/dL) = Absorbancia de la Muestra x Fc

Proteína (mg/dL) = 0,089 x 406,25 = 36,16

Los resultados serán expresados en mg/dL.

Orina de 24 horas

Proceder a la dosificación de la orina de 24 horas utilizando una alícuota del volumen total. Esta alícuota debe ser centrifugada. La concentración em mg/24h é obtenida utilizándose los resultados de la dosificación de la alícuota (mg/dL) multiplicando este valor por el volumen total de orina (mL) y dividiendo el resultado por 100.

Proteína en Orina de 24 horas (mg/24h) =

$$\frac{\text{Dosificación de la alícuota (mg/dL)} \times \text{Volumen de 24 horas(mL)}}{100}$$

Ejemplo:

En una dosificación de proteínas totales en la orina de 24 horas, fue obtenido el siguiente resultado:

Dosificación de la Muestra (mg/dL) = 5,0

Volumen de Orinário de 24 horas (mL) = 2000

Proteína en Orina de = $\frac{5,0 \times 2000}{100}$ = 100 mg/24 horas

24 horas (mg/24h) 100

INTERFERENTES

Presencia de sangre en la orina o líquido produce resultados falsamente elevados. La presencia del detergente en el material utilizado puede alterar significativamente los resultados.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, que debe ser vigilada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten la evaluación, la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

TRAZABILIDAD

El patrón del kit es trazable al material de referencia SRM 927D del NIST (National Institute of Standards and Technology).

VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia fueron obtenidos a través de la determinación de Proteínas Totales en poblaciones sanas, de sexo masculino y femenino.

Orina Aleatória 1 a 15 mg/dL
Orina de 24 Horas 24 a 141 mg/24h
Líquor 15 a 45 mg/dL

Para convertir los valores de mg/dL para g/L (SI), multiplicar los resultados obtenidos por 0,01.
Estos valores deben ser usados apenas como orientación. Cada laboratorio deberá crear su propio rango de referencia, de acuerdo con la población atendida.
Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, no siendo el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO
CONTROL DE QUALIDAD

Exactitud
COMPARACIÓN DE MÉTODOS Y ESPECIFICIDAD METODOLÓGICA
El kit Bioprot U/LCR fue comparado con otro método para dosificación da Proteína Total en la orina comercialmente disponible. Fueron realizadas 41 análisis y los resultados fueron evaluados. La ecuación linear obtenida fue Y = 1,000X - 0,080 y el coeficiente de correlación 0,99999. Con estos resultados, se puede concluir que el kit presenta buena especificidad metodológica.

Precisión
REPETIBILIDAD
La repetibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Promedio (mg/24h)	32,84	15,25	27,97
Desvío Patrón (mg/24h)	0,46	0,17	0,17
Coefficiente de Variación (%)	1,40	1,13	0,59

REPRODUCTIBILIDAD
La reproductibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Promedio (mg/24h)	31,96	15,44	27,89
Desvío Patrón (mg/24h)	0,77	0,16	0,10
Coefficiente de Variación (%)	2,42	1,06	0,37

Sensibilidad
La sensibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones de una muestra exenta de Proteínas Totales en la orina. El promedio encontrado fue 1,484 mg/dL, con desvío patrón de 0,093 mg/dL. La sensibilidad, que indica el limite de detección del método, corresponde al promedio más 3 veces el desvío patrón, y es igual a 1,764 mg/dL.

Linealidad
La reacción es linear hasta la concentración de 100 mg/dL. Para valores superiores, diluir la muestra con solución de NaCl 0,85% y repetir la dosificación. Multiplicar el resultado así obtenido por el factor de dilución empleado.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO
La proteinúria en altas concentraciones es encontrada en la mayoría de los problemas renales, como nefropatías primarias y secundarias, que pueden causar el aumento de la permeabilidad glomerular o disminución de la reabsorción en los túbulos renales. Pueden haber también causas postrenales, como infecciones, sangramientos o dolencias malignas del trato orinario. En otras situaciones agudas como fiebre o estrés físico o psicológico, niveles altos de proteína en la muestra también pueden ser encontrados. En el líquido, elevados niveles de proteína pueden ser encontrados en casos de aumento de la presión intracraneana debido a tumores cerebrales, hemorragia intracerebral o traumatismos, en inflamaciones (principalmente debido a meningitis bacterianas) y en el caso de esclerósis múltipla. Aumento de la permeabilidad de la barrera de sangre-líquido cefaloraquidiano es reflejado con el aumento de la proporción líquido/suero de la proteína total.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS
1. Johnson AM, Rohlfs EM, Silverman LM. Proteínas. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of ClinicalChemistry. 3 ed. Philadelphia: W.B Saunders Company;1999. p. 477-540.
2. Felgenhauer K. Laboratory diagnosis of neurological diseases. In:Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt:TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 1308-26.
3. Boege F. Urinary proteins. In: Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998.p. 382-400.
4. Orsonneau JL, Douet P, Massoubre C, Lustenberger P, Bernard S. An improved pyrogallol red-molybdate method for determining total urinary protein. Clin Chem 1989;35:2233-6.
5. Watanabe N, Kamei S, Ohkubo A, Yamanaka M, Ohsawa S, Makino K et al. Urinary protein as measured with a pyrogallol red-molybdate complex. Manually and in a Hitachi 726 automated analyzer. Clin Chem 1986; 32:1551-4.
6. WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
7. QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTÍA DE CALIDAD
Antes de ser liberado para el consumo, todos los reactivos **Bioclin** son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de validad mencionada en la caja de presentación, desde que sean almacenados y transportados en condiciones adecuadas.



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 – Santa Branca
CEP 31565-130 – Belo Horizonte – MG – Brasil
Tel.: +55 (31) 3439.5454
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 – Indústria Brasileira

EC

REP

OBELIS S.A.
Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

ATENDIMIENTO AL CONSUMIDOR
Servicio de Asesoría al Cliente
Tel.: 0800 031 5454
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de Registro del kit Bioprot U/LCR en la ANVISA: 10269360178

Revisión: Junio/2020

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

**REF**

NÚMERO DEL CATÁLOGO

**LOT**

NÚMERO DE LOTE



FECHA DE FABRICACIÓN



ESTABLE HASTA
(último día del mes)



TEMPERATURA LIMITE
(conservar a)

**Σ**

CONTENIDO SUFICIENTE
PARA <N> TESTES

**i**

CONSULTAR INSTRUCCIONES
DE USO

**IVD**

DISPOSITIVO DE
DIAGNÓSTICO IN VITRO

EC

REP

EUROPEA REPRESENTANTE
AUTORIZADO



PROTEGER DEL
LUZ Y CALOR



ELABORADO POR

**CONTROL**

CONTROL

**CONTROL +**

CONTROL POSITIVO

**CONTROL -**

CONTROL NEGATIVO



RIESGO BIOLÓGICO



INFLAMABLE



CORROSIVO



TÓXICO

**CE**

MARCADO CE



NO UTILICE SI EL
EMBALAJE ESTA
DAÑADA

BIOPROT U/CRL

REF K108

USAGE INSTRUCTIONS

FUNCTION

Method for determination of Total Protein in urine and liquor samples. Colorimetric test. For *in vitro* diagnostic only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Colorimetric Test - Pyrogallol Red

The proteins present in urine react to Pyrogallol Red and the Molybdate forming a red color complex, with maximum absorption in 600 nm (578 - 630 nm). The intensity of the color is directly proportional to the protein concentration in the sample.

REAGENTS

Number 1 - Color Reagent - Store between 2 and 8°C. Contains: Pyrogallol Red < 60 µmol/L, Sodium Molybdate > 40 µmol/L, surfactants, solubilizer, stabilizers and preservative.

Number 2 - Standard - Store between 2 and 8°C. Contains: Albumin 65 mg/dL and preservative.

Number 3 - Control - Store between 2 and 8°C. Contains: Proteins* and preservative.

* Value varies with each batch.

PRESENTATION

Presentation	Reagent N° 1	Reagent N° 2	Reagent N° 3
1	1 x 25 mL	1 x 3.0 mL	1 x 3.0 mL
2	2 x 25 mL	1 x 3.0 mL	1 x 3.0 mL
3	3 x 25 mL	1 x 3.0 mL	1 x 3.0 mL
4	4 x 25 mL	1 x 3.0 mL	1 x 3.0 mL
5	5 x 20 mL	1 x 3.0 mL	1 x 3.0 mL
6	5 x 40 mL	1 x 3.0 mL	1 x 3.0 mL
7	10 x 40 mL	1 x 3.0 mL	1 x 3.0 mL

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

To perform this technique it is required the spectrophotometer or colorimeter, watch and stopwatch, pipettes and test tubes. These items are found at markets specialized on Laboratories of Clinical Analysis.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage and transport temperature should be between 2 and 8°C. The transport temperature up to 30°C should not exceed 5 days. Protect from light and avoid moisture. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

1- For professional *in vitro* diagnostic use only.

2- Strictly follow the methodology proposed to obtain exact results.

3- Water used in material cleaning must be recent and free of contaminants.

4- Saturated deionizer columns release alkaline water, many ions, oxidizing agents and reducers that may alter the results significantly.

5- The presence of detergent in the used material can alter the results significantly.

6- The calibration should be repeated periodically, to verify any alteration in the colorimeter or spectrophotometer response.

7- Reagents N° 2 and 3 contain Sodium Azide, irritating to skin and mucous membrane. Handle with caution.

8- We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.

9- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Material Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Customer Advisory Service) of Quibasa.

10- Do not use the product in case of damaged packaging.

11- It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLE

Urine (aleatory sample and 24 hours) and Cerebrospinal Fluid (Liquor).

Urine sample is stable for 1 day between 15 and 30°C, 7 days between 2 and 8°C, and 1 month at -20°C.⁶

The sample of Liquor is stable for 1 day between 15 and 30°C, 6 days between 2 and 8°C, and 1 year at -20°C.⁶

Preparation of samples:

Urine - There is no necessity of preservatives. Take an aliquot of 20 mL of urine, centrifuge and proceed the technique using the supernatant. **Liquor** - Centrifuge the sample and use the supernatant.

In dosages for therapeutic control the samples must be collected always in the same time.

PROCESS DESCRIPTION

The calibration stability of the Bioprot U/CRL kit installed on refrigerated equipment is at least 09 days. This stability may vary depending on the conditions of the test, equipment and environment. Therefore, it is suggested to follow the product performance using control serum.

REAGENT PREPARATION

The reagents are ready to use.

TECHNIQUE

Mark 3 tests tubes with the letters B (Blank), S (Standard), A (Sample) and proceed as follows:

	B	S	A
Sample	--	--	20 µL
Standard	--	20 µL	--
Distilled Water	20 µL	--	--
Reagent N° 1	1000 µL	1000 µL	1000 µL

Homogenize and incubate for 5 minutes at 37°C and read the absorbance in a 600 nm filter (578 to 630 nm), against a Blank reagent in no more than 30 minutes.

CALCULATIONS

The determination of total protein concentration in urine and liquor is calculated by the reaction:

$$\text{Protein (mg/dL)} = \frac{\text{Sample Absorbance}}{\text{Standard Absorbance}} \times 65$$

Example:

In a total protein dosage in liquor, the following absorbance was found:

$$\begin{aligned} \text{Sample Absorbance} &= 0.089 \\ \text{Standard Absorbance} &= 0.160 \\ \text{Standard Concentration} &= 65 \end{aligned}$$

$$\text{Protein (mg/dL)} = \frac{0.089}{0.160} \times 65 = 36.16 \text{ mg/dL}$$

According to the Lambert-Beer law, you can use the Calibration Factor:

$$\text{Calibration Factor} = \frac{\text{Standard Concentration}}{\text{Standard Absorbance}}$$

Example:

$$\text{Cf} = \frac{65}{0.160} = 406.25$$

$$\text{Protein (mg/dL)} = \text{Sample Absorbance} \times \text{Cf}$$

$$\text{Protein (mg/dL)} = 0.089 \times 406.25 = 36.16$$

The results are express the mg/dL.

24 hours Urine

Proceed the 24 hours dosage using a aliquot of the total volume. This aliquot must be centrifuge. The concentration in mg/24h is obtained using the dosage result (mg/dL) multiplying this value by the total urine volume (mL) and divide the result by 100.

$$\begin{aligned} \text{24 Hour Urine Protein (mg/24h)} &= \\ \frac{\text{Aliquot dosage (mg/dL)} \times \text{24 Hours volume (mL)}}{100} \end{aligned}$$

Example:

In a dosage of total protein in 24 hour urine, the following result was obtained:

$$\text{Sample dosage (mg/dL)} = 5.0$$

$$\text{24 Hours Urine volume (mL)} = 2000$$

$$\text{24 Hours Urine Protein (mg/24h)} = \frac{5.0 \times 2000}{100} = 100 \text{ mg/24 hours}$$

INTERFERENCES

Blood presence in urine or liquor produce wrongly elevated results. The presence of detergent in the used material can altered significantly the results.



INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control, where all procedures, rules, limits and tolerance to variations be clearly established. It is important to mention that all measurement systems present a analytical variety, and it must be monitor by the laboratory. Therefore, it is recommendable the use of controls, allowing the precision and accuracy of the dosages.

TRACEABILITY

The kit's standard is traceable to the reference material NIST (National Institute of Standards and Technology) SRM 927D.

REFERENCE VALUES

The reference values for this method were obtained through the determination of the Total Protein in healthy populations of male and female.

Random Urine 1 to 15 mg/dL
24 Hours Urine 24 to 141 mg/24h
Liquor 15 to 45 mg/dL

To convert the values of mg/dL to g/L (SI), multiply the obtained results by 0.01.

These values should be used as guidelines, each laboratory should establish its range of reference values, according to the population served.

The results provided by this kit must be interpreted by the medical professional responsible, not being the only criterion for the determination of diagnosis and/or treatment of the patient.

PRODUCT PERFORMANCE

QUALITY CONTROL

Accuracy

COMPARISON OF METHODS AND METHODOLOGY SPECIFICITY

The Bioprot U/CRL was compared with other commercially available method for dosage of Total Protein in urine. 41 analyzes were performed and the results were evaluated. The linear equation obtained was $Y = 1.000X - 0.080$, and correlation coefficient 0.99999. With these results, we can conclude that the kit shows good methodological specificity.

Precision

REPEATABILITY

The repeatability was calculated from 40 successive determinations, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Average Concentration (mg/24h)	32.84	15.25	27.97
Standard Deviation (mg/24h)	0.46	0.17	0.17
Coefficient of Variation (%)	1.40	1.13	0.59

REPRODUCIBILITY

The reproducibility was calculated from 40 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Average Concentration (mg/24h)	31.96	15.44	27.89
Standard Deviation (mg/24h)	0.77	0.16	0.10
Coefficient of Variation (%)	2.42	1.06	0.37

Sensitivity

The sensitivity was calculated from 40 determinations of a sample free of Total Protein in urine. The average found was 1.484 mg/dL, with standard deviation of 0.093 mg/dL. The sensitivity, wich indicates the method detection limit, corresponds the average plus 3 times the standard deviation, and is equal to 1.764 mg/dL.

Linearity

The reaction is linear until the concentration of 100 mg/dL. For higher values, dilute the sample with NaCl solution at 0.85% and repeat the dosage. Multiply the results by the applied dilution factor.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

The proteinuria in high concentration is found in the majority of the kidney problems, such as primary and secondary nephropathies, that can cause the increase of the glomerular permeability or reduction of the kidney tubules absorption. It could also have post kidney causes, such as infections, bleedings or malignant urinary tract diseases. In other acute situations such as fever or physical or psychological stress, high levels in protein can also be found. In liquor, high levels of protein can be found in cases of increase intracranial pressure due to cerebral tumors, intracerebral hemorrhage or traumas, in inflammations (mainly due to bacterial meningitis) and in case of multiple sclerosis. Increase the permeability of the barrier of cephalorachidian liquid-blood is reflected as the increase proportion of liquor/serum of total protein.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1. Johnson AM, Rohlfis EM, Silverman LM . Proteinase. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3 ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 477-540.
2. Felgenhauer K. Laboratory diagnosis of neurological diseases. In: Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 1308-26.
3. Boege F. Urinary proteins. In: Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 382-400
4. Orsonneau JL, Douet P, Massoubre C, Lustenberger P, Bernard S. An improved pyrogallol red-molybdate method for determining total urinary protein. Clin Chem 1989;35:2233-6.
5. Watanabe N, Kamei S, Ohkubo A, Yamanaka M, Ohsawa S, Makino K et al. Urinary protein as measured with a pyrogallol red-molybdate complex. Manually and in a Hitachi 726 automated analyzer. Clin Chem 1986; 32:1551-4.
6. WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
7. QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Department of Quality Control. The quality of reagents is assured until expiration date stated on the presentation packaging, when stored and transported under appropriate conditions.



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Phone.: +55 (31) 3439.5454
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

EC REP **OBELIS S.A.**

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service
Phone.: 0800 0315454
E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for the Bioprot U/CRL kit: 10269360178

Review: June/2020

UNIVERSAL SYMBOLOGY



CATALOG NUMBER



BATCH CODE



DATE OF MANUFACTURE



USED BY
(last day of month)



TEMPERATURE LIMITATION
(store at)



CONTAINS SUFFICIENT
FOR <N> TESTS



CONSULT INSTRUCTIONS
FOR USE



IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE



EUROPEAN AUTHORIZED
REPRESENTATIVE



KEEP AWAY
FROM SUNLIGHT



MANUFACTURED BY



CONTROL



POSITIVE CONTROL



NEGATIVE CONTROL



BIOLOGICAL RISK



INFLAMMABLE



CORROSIVE



POISON



CE MARK



DO NOT USE IF
PACKAGE IS
DAMAGED