

RENYPROTE 50

RENYPROTE 200

FINALIDADE:

Método colorimétrico para determinação da concentração de proteína na urina e líquor.

PRINCÍPIO:

Em meio ácido, as proteínas presentes na amostra reagem com o complexo vermelho de pirogalol-molibdato de sódio, formando um complexo colorido, proporcional à concentração de proteínas na amostra, com absorvância máxima em 600 nm.

INFORMAÇÕES TÉCNICAS:

Metodologia: Vermelho de Pirogalol

Muitos métodos para determinação da proteína urinária e no líquor têm sido descritos e comparados. Os métodos turbidimétricos possuem pouca precisão e sensibilidade, linearidade limitada e resposta variável a diferentes proteínas. Os métodos colorimétricos são caracterizados por melhor precisão, sensibilidade e praticidade, mas são também susceptíveis a variações em ligações com diferentes proteínas¹. Além disso, alguns reagentes podem aderir à parede das cubetas dos analisadores, limitando sua aplicação.

O método vermelho de pirogalol-molibdato de sódio foi descrito por Watanabe et al² e tem a vantagem de não aderir à parede das cubetas.

A Renylab desenvolveu um reagente com grande sensibilidade e fácil aplicação na rotina do Laboratório Clínico.

REAGENTES:

1. **Reagente de cor:** Armazenar entre 2 – 8° C. Armazenar ao abrigo da luz. Contém vermelho de pirogalol 0,1 mmol/L; molibdato de sódio 0,1 mmol/L, tampão pH 2,5 50 mmol/L.
2. **Padrão:** 100 mg/dL. Contém azida sódica. Armazenar entre 2 - 8°C. Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo, desde que respeitadas as instruções de armazenagem.

CARACTERÍSTICAS:

Somente para uso diagnóstico "in vitro".

AMOSTRAS:

Urina e líquor. As amostras devem ser centrifugadas para otimização dos resultados.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS:

Toda amostra biológica deve ser considerada potencialmente infectante. Os cuidados de biossegurança habituais devem ser aplicados na manipulação do produto. O padrão contém azida sódica. Em caso de contato com olhos e mucosas, lavar abundantemente com água e procurar um médico.

Antes de utilizar o reagente, acerte o espectrofotômetro em zero com água destilada a 600 nm e faça a leitura da absorvância do Reagente de Cor, se a mesma for superior a 0,28 ou inferior a 0,17, o mesmo não deve ser utilizado, pois indica deterioração.

A limpeza e secagem adequada do material utilizado são de fundamental importância para a obtenção de um resultado confiável. A presença de detergente no material pode produzir alterações no mesmo.

Utilize somente água de qualidade (deionizada) na realização dos ensaios.

O descarte do produto deve ser feito obedecendo às normas de proteção ambiental.

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS:

Banho-maria 37°C;
Espectrofotômetro capaz de medir absorvância em 600 nm;
Pipetas;
Cronômetro.

PROCEDIMENTO TÉCNICO:

Tomar 3 tubos de ensaio e proceder da seguinte maneira:

	Branco	Teste	Padrão
Amostra	-----	0,05 mL	-----
Água deionizada	0,05 mL	-----	-----
Padrão	-----	-----	0,05 mL
Reagente de cor	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Misturar e colocar em banho-maria 37° durante 5 minutos e determinar a absorvância do Teste e do Padrão em 600 nm, acertando o zero com o Branco. A absorvância é estável por 30 minutos.

CÁLCULOS:

$$\text{Proteína (mg/dL)} = \frac{\text{absorvância Teste} \times 50}{\text{absorvância Padrão}}$$

Ex: A teste = 0,064 A padrão = 0,43
 Proteína (mg/dL) = 0,064/0,43 x 50 = 7,44 mg/dL
 Este reagente segue a lei de Lambert Beer, podendo ser calculado um Fator (F). O Fator deve ser calculado diariamente ou sempre que for preparado um novo reagente.

$$\text{Fator (F)} = \frac{50}{\text{absorvância padrão}}$$

Proteína mg/dL = absorvância teste x F
 Ex: F = 50/0,43 = 116,28
 Proteína mg/dL = 0,064 x 116,28 = 7,44 mg/dL

Proteinúria de 24 hs: Proteínas (mg/dL) x volume urinário 24 hs/100

LINEARIDADE

A reação é linear até 100 mg/dL. Para valores maiores, diluir a amostra com NaCl 0,9% e repetir a determinação. O valor obtido deve ser multiplicado pelo fator de diluição. A amostra deve ser diluída de modo que o valor encontrado situe-se entre 20 e 80 mg/dL.

VALORES DE REFERÊNCIA

Urina: 20 a 150 mg/24h (1 a 15 mg/dL)
 Líquor: 10 a 45 mg/dL

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO:

Sensibilidade: a sensibilidade do método foi determinada utilizando-se solução de albumina em NaCl. A sensibilidade encontrada foi de 2,0 mg/dL.

Repetitividade: foram realizadas 20 análises consecutivas em 3 amostras. Os resultados obtidos foram:

	N	MÉDIA	DP	CV%
AMOSTRA 1	20	8,47	0,13	1,51
AMOSTRA 2	20	25,48	0,44	1,74
AMOSTRA 3	20	101,468	0,62	0,61

Reprodutibilidade: foram realizadas análises durante 6 meses consecutivos em 3 amostras. Os resultados obtidos foram:

	N	MÉDIA	DP	CV%
AMOSTRA 1	30	8,35	0,75	9,03
AMOSTRA 2	30	25,7	0,84	3,3
AMOSTRA 3	30	101,27	1,07	1,06

SIGNIFICADO CLÍNICO

No estado normal, o glomérulo impede a passagem das moléculas de proteína para a urina. Entretanto, diminutas quantidades são eliminadas, mas em taxas mínimas, não reveláveis pelos métodos de pesquisa rotineiramente empregados.

A proteinúria é classificada em funcional e orgânica. Entre as funcionais, incluem-se a produzida por esforço muscular exagerado, a decorrente do frio excessivo e a ortostática, também denominada benigna. Na gravidez pode haver proteinúria, sendo de pequena quantidade, ocasional e intermitente.

A proteinúria orgânica é subdividida em: 1) pré-renal, encontrada nos estados febris, insuficiência cardíaca, mixedema, mieloma múltiplo; 2) renal, encontrada na glomerulonefrite, nefrite lúpica, síndrome nefrótica, toxemia gravídica, nefropatias tóxicas; 3) pós-renal, cistite, prostatite, uretrite, infecção da pelve renal ou dos ureteres.

Os valores de proteína no líquido, variam com a idade, sendo mais elevados nos 6 primeiros meses de vida. Reduzindo-se a níveis abaixo do normal nas crianças e atingindo os valores normais após os 10 anos de idade. Após os 45 anos ocorre uma elevação progressiva com a idade. Concentrações elevadas de proteínas no líquido, podem ocorrer por pequenas hemorragias (determinadas por tumores e processos compressivos), perturbações da permeabilidade meníngea (meningites), desintegração do parênquima nervoso (mielocelulites infecciosas). Nos processos inflamatórios agudos das meninges, o aumento de proteínas é em geral acentuado.

Referências Bibliográficas:

- 1- Orsonneau, J; Doust P; Massoubre C; Lustenberger P; Bernard S. An improved pyrogallol red-molibdate method for determining total urinary protein, Clinical Chemistry, nov. 1989.
- 2- Watanabe N; Kamel S; Ohkubo A; Yamanaka M; Ohsawa S; Makino K; Tokuda K. urinary protein as measured with a pyrogallol red-molibdate complex, manually and in a Hitachi 726 automated analyzer, Clinical Chemistry, aug 1986.
- 3- Durgawale P; Kanase S; Shukla P; Sontakke S. A sensitive and economical modified method for estimation of cerebrospinal fluid proteins; Indian Journal of Biochemistry, 2005.
- 4- Marshall T. Protein determination in cerebrospinal fluid by protein dye-binding assay; British Journal of Biomedical Science; 2001.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO:

As garantias do fabricante ao consumidor seguem estritamente as relacionadas na Lei 8.078, de 11 de setembro de 1990- **Código de Defesa do Consumidor.**

Este sistema diagnóstico tem garantida sua performance e qualidade até a data de vencimento se forem obedecidas as condições abaixo:

- 1- O usuário seguir rigorosamente as instruções de uso;
- 2- As condições de armazenamento devem estar de acordo com o estabelecido nas instruções de uso;
- 3- Todos os produtos que apresentarem problemas técnicos comprovados serão substituídos sem ônus para o consumidor.

APRESENTAÇÃO:

RenyProte50

Nº testes: 50

Reagente de cor: 50 mL

Padrão: 5 mL

RenyProte200

Nº testes: 200

Reagente de cor: 2 x 100 mL

Padrão: 5 mL

ELABORADO E FABRICADO POR:

RENYLAB QUIM. FARM. LTDA.

Rodovia BR 040 km 697 Caiçaras

Barbacena-MG CEP: 36205-666

Telefax: (32) 3331-4489

e-mail: renylab@renylab.ind.br

Farm. Resp: Renê Vaz de Mello CRF-MG: 2709

MS: 80002670049

Revisão: dezembro 2009