



Método

Verde de Bromocresol (VBC)

Finalidade

Kit para determinação da albumina em amostras de soro.

Princípio do método

A albumina forma um complexo com o verde de bromocresol em pH ácido, modificando sua absorção espectral. É o princípio do “erro protéico dos indicadores”. A absorbância do complexo formado, medida em 630 nm, é proporcional à concentração de albumina presente na amostra.

Significado clínico

Sintetizada pelo fígado, a albumina corresponde aproximadamente dois terços das proteínas totais do plasma e exerce praticamente três funções básicas no organismo: manutenção da pressão oncótica, reposição de aminoácidos e transporte geral ou carregadora de proteínas. Geralmente, os níveis diminuídos de albumina sérica, quando associados com altos níveis de globulinas, particularmente a α -globulina, refletem doenças hepáticas crônicas (cirroses, alcoolismo crônico). A albumina sérica pode estar baixa em pacientes com ascite mesmo quando a velocidade de síntese está normal. As doenças inflamatórias crônicas, enteropatias com perdas protéicas, doença renal com albuminúria, má nutrição e gestação relacionadas a utilização de contraceptivos orais, podem ser causas superpostas de hipoalbuminemia em pacientes com doenças hepáticas. Os níveis aumentados da albumina sérica ocorrem na desidratação e pela prolongada aplicação de torniquete para a venopunção.

Composição dos reagentes

Reagente de Cor (Estoque)	
Tampão Citrato.....	200 mmol/L
Verde de Bromocresol	1,0 mmol/L
Surfactantes	0,1%
Preservativos.....	0,1%

Padrão	
Albumina	3,8g/dL
Azida Sódica.....	15 mmol/L

Apresentação

Código	Reag. Cor Estoque	Padrão
0002	1x50 mL	1x2 mL

Condições de uso e armazenagem

A data de validade aparece no rótulo da embalagem. Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado. Todos os reagentes devem ser mantidos sob refrigeração na faixa de 2 a 8°C. Manter ao abrigo da luz. Os reagentes devem permanecer fora do refrigerador somente o tempo necessário para as dosagens.

Insumos e equipamentos necessários não fornecidos

- Água destilada ou deionizada
- Banho-maria

- Cronômetro
- Espectrofotômetro
- Pipetas manuais ou automáticas
- Ponteiras descartáveis
- Vidraria

Precauções e cuidados especiais

- Somente para uso diagnóstico “in vitro”.
- Não misturar ou trocar lotes de reagentes diferentes.
- Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.
- Caso haja contato com quaisquer reagentes lavar a área afetada com água em profusão. Em caso de ingestão de reagentes procurar auxílio médico imediato munidos desta instrução de uso.
- Utilizar equipamentos de proteção individual segundo normas de biossegurança.
- A água (destilada ou deionizada) utilizada na limpeza do material ou nos procedimentos deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- Certificar-se das condições adequadas de funcionamento dos equipamentos de análise.
- O descarte do material utilizado deve ser feito segundo os critérios de biossegurança.
- Lavar as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.

Amostra biológica

- Soro.
- A albumina em soro é estável durante 3 dias quando mantida entre 2 a 8°C . Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante. Usar luvas descartáveis durante a manipulação do material biológico. As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos para este fim. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de esgoto.

Procedimento

Ler ,cuidadosamente, as instruções desta bula.

Preparo dos reagentes:

Reagente de Cor de Uso: Transferir o conteúdo do frasco de **Reagente nº 1 (Reagente de cor estoque)** para um balão volumétrico de 500 mL e completar o volume com água destilada ou deionizada. Rotular como **Reagente de Trabalho**. Armazenar em frasco de vidro âmbar. Este reagente é estável seis meses entre 2 a 8°C.

Atenção: O uso de água deionizada na diluição do **Reagente nº 1 (Reagente de Cor estoque)** oriunda de colunas saturadas pode provocar a contaminação irreversível do reagente. Este reagente é muito sensível às mudanças de pH, fato este que interfere decisivamente nos resultados finais das dosagens.

Dosagem

- Permitir que reagentes e amostras atinjam a temperatura ambiente;
- Pipetar, em diferentes tubos de ensaio, como a seguir:

	Branco	Amostra	Padrão
Água Destilada	5µL	-	-
Amostra	-	5µL	-
Padrão	-	-	5µL
Reagente de Cor de Uso	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

- Homogeneizar bem e incubar durante 5 minutos à temperatura ambiente;
- Determinar as absorbâncias do padrão e das amostras em 630 nm, acertando o zero com o branco. A cor formada é estável por 30 minutos.

Cálculos

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{3,8}{(\text{Abs.do Padrão})}$$

Albumina (g/dL) = Absorbância da amostra × Fator de calibração.

Exemplo:

Concentração do padrão: 3,8 mg/dL

Absorbância do padrão: 0,231 D.O

Absorbância da amostra: 0,290 D.O

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{3,8}{(0,231)} = 16,4 \quad \text{Amostra (g/dL)} = 16,4 \times 0,290 = 4,7$$

Unidades SI: Albumina (µmol/L) = Albumina (g/dL) × 144,9

Linearidade

A reação é linear até 6,0 g/dL (869,4 µmol/L). Para valores acima de 6,0 g/dL, diluir a amostra com solução de NaCl 0,85% e repetir a dosagem. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Valores de referência

Idade	g/dL
1-30 Dias	2,6 – 4,3
31-182 Dias	2,8 – 4,6
183 – 365 Dias	2,8 – 4,8
1 – 18 Anos	2,9 – 4,7
> 18 Anos	3,5 – 5,5

*Estes valores são dados apenas a título orientativo. É recomendável que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de referência.

Controle de qualidade

O laboratório deve ter como prática de rotina o uso de soros controle comerciais. Preferivelmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

Dados estatísticos de desempenho do teste

Recuperação: 101,7%

Repetitividade

Concentração média	n	CV
2,2 g/dL	20	2,1
4,5 g/dL	20	1,7

Reprodutibilidade

Concentração média	n	CV
--------------------	---	----

2,2 g/dL	20	2,4
4,5 g/dL	20	1,9

Especificidade analítica: A comparação com método similar validado (que também utiliza a metodologia do verde de bromocresol) demonstrou um coeficiente de correlação, r, igual a 0,991 a partir da análise de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi: y = 0,95x + 0,16

Sensibilidade analítica: O limite de detecção do método é igual a 0,5 g/dL.

Interferentes

Ácido ascórbico mesmo em concentrações elevadas (acima de 20 mg/dL), hemoglobina até 200 mg/dL, hiperlipemia e bilirrubina até 20 mg/dL não interferem. Triglicérides acima de 250 mg/dL pode interferir positivamente na reação.

Referências bibliográficas

- DOUMAS,B.T.,Watson,W.A. & Biggs, H.G. Clin.Chim. Acta 31:87,1971
- GASBARRO, et.al. Clin. Chim. Acta 36:255,1972
- BARTHOLOMEW,R.J. & Delaney A.M. Proc. Austral Assoc. Clin. Biochem.1.;214,1966

Número de testes

Código	Número de Testes
0002	500

Automação

Os reagentes podem ser utilizados em analisadores automáticos. Vide programação no verso ou solicite informações ao seu distribuidor.

Dados do fabricante

MBiolog Diagnósticos Ltda.
Rua Gama, 337 – Vila Paris – Contagem – MG – CEP 32372-120
Resp. Técnico: Fabrício Galvão de Brito – CRF-MG 9587

SAC - Serviço de Atendimento ao Cliente

☎(31) 3507 - 0707
✉ sac@mbiolog.com.br

<i>Parâmetros para programação</i>	
<i>COBAS MIRA / COBAS MIRA PLUS</i>	
GENERAL	
MEASUREMENT MODE	ABSORB
REACTION MODE	R-S (1)
CALIBRATION MODE	**CALIBRATOR (2)
REAGENT BLANK	REAG/DIL (2)
CLEANER	NO (1)
WAVELENGTH	600 nm (3)
DECIMAL POSITION	1
UNIT	g/dL
ANALYSIS	
POST. DIL FACTOR	2
CONC. FACTOR	NO - SPACE
SAMPLE CYCLE	1
VOLUME	3 µL
DILUTION NAME	H2O - 0
VOLUME	20 µL
REAGENT CYCLE	1
VOLUME	300 µL
CALCULATION	
SAMPLE LIMIT	NO - SPACE
REACTION DIRECTION	INCREASE (1)
CHECK	ON (1)
CONVERSION FACTOR /OFFSET	1/0
TEST RANGE LOW	0
HIGH	6
NORMAL RANGE LOW	3,5
HIGH	5,5
NUMBER OF STEPS	1
CALCULATION STEP A	ENDPOINT (1)
READING FIRST	CB
LAST	5
CALIBRATION	
CALIBRATION INTERVAL	ON REQUEST - 3
TIME	NO - SPACE
REAGENTE RANGE LOW	NO - SPACE
HIGH	NO - SPACE
BLANK RANGE LOW	NO - SPACE
HIGH	NO - SPACE
STANDARD POS	*

STD – 1		*			
* Parâmetros inserido pelo usuário. ** Cobas Mira Plus = Slope AVG					
EXPRESS 550/550 PLUS					
TEST NAME: ALBUMINA		TEST: ALB			
TEST BAR CODE: *					
TEST TYPE: END POINT		CURVE TYPE: BLAN. LINEAR			
UNITS: g/dL		Nº OF DECIMAL PLACE: 1			
PRIMARY WAVELENGHT: 600		SECONDARY WAVELENGHT: NO			
READ TIME / INTERVAL: 20		SAMPLE BLANK: NO			
FACTOR:					
CALIBRATION INTERVAL: *		Nº OF REPLICATES: -			
Nº OF CALIBRATOR: 2					
LOW BLANK A LIMIT: -0.200		HIGH BLANK A LIMIT: 0.400			
LOW A LIMIT: -0,250		HIGH A LIMIT: 0.800			
LOW NORMAL: 3,5		HIGH NORMAL: 5,5			
LINEARITY LIMIT: 6		CURVE S.D. LIMIT: 0,5			
SAMPLE VOLUME: 4		TEST: ALB			
SAMPLE DILUENTE BOTTLE TYPE: *		PREDILUTION RATIO: 1			
REAGENT DILUENTE BOTTLE TYPE:*					
Reagent Volume	Bar Code	Diluent Volume	LAG TIME	BT	
REAGENT 1	395	ALB1A	-	120	*

** Parâmetros inserido pelo usuário.*

<i>BIOPLUS 2000 / 200</i>			
MODO	P.F	PI	*
WL1	600	UNDIDAD	g/dL
WL2	-	DECIMALS	1
BLANK?	SIM	LIM LIN MIN	0
BLANK- AMOS – PAD?	NÃO/NÃO	LIM LIN MAX	6
CUB FLUXO ?	SIM	ABS REAT MIN	0
TEMP?	25 °C	ABS REAT MAX	0,2
VOL ASP	800	ABS PAD MIN	0.1
RETARDO	3	ABS PAD MAX	0.5
PADRÃO	SIM	VR/VN MIN	3,5
PAD (QUANT)	ÚNICA	VR/VN MAX	5,5

** Parâmetros inserido pelo usuário.*

Verificar os parâmetros das programações utilizando soros controles comerciais.