

Proteínas Totais Cepa - Colorimétrica

Método

Biureto - Colorimétrico

Finalidade

Kit para determinação das proteínas totais em amostras de soro e outros líquidos biológicos.

Princípio do método

As proteínas do soro formam, através de suas ligações peptídicas, complexos corados com os íons cúpricos em meio alcalino contidos no reagente de biureto. Os complexos resultantes apresentam máximo de absorção em 545 nm e a intensidade de cor formada é proporcional à concentração de proteínas no meio.

Reagentes fornecidos

1. Biureto-Estoque - Solução contendo hidróxido de sódio 1860 mmol/L, tartarato duplo de sódio e potássio 430 mmol/L, Sulfato de Cobre 120 mmol/L e Iodeto de potássio 300 mmol/L (1 x 50 mL).
2. Padrão - Solução aquosa de albumina bovina 4,0 g/dL, contendo azida sódica 0,1g/dL (1 x 2,0 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 ou outros líquidos biológicos (pleural, sinovial e ascítico).

Proteínas totais em soro, líquido pleural, ascítico e sinovial são estáveis durante 3 dias quando mantidos 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 água e esgoto.

Procedimento

Ler, cuidadosamente, as instruções desta bula.

Preparo dos reagentes:

Transferir o conteúdo do frasco de **Reagente nº 1 (Biureto-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 plástico ao abrigo da luz. Este reagente é estável seis meses entre 15 a 30°C.

Dosagem em soro, líquidos sinovial, ascítico ou pleura:

1. Pipetar, em diferentes tubos de ensaio, como a seguir:

	Branco	Amostra	Padrão
Água destilada	20 µL	-	-
Amostra	-	20 µL	-
Padrão	-	-	20 µL
Reagente de Trabalho	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

2. Determinar as absorbâncias da amostra e do Padrão em 545 nm acertando o zero com o branco. A cor formada é estável por 3 horas.

Cálculos

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{4}{(\text{Abs. do Padrão})}$$

Proteínas totais (g/dL) = Absorbância da amostra x Fator de calibração

Linearidade

A reação é linear até 10,0 g/dL. Para valores acima de 10,0 g/dL, diluir a amostra com solução de NaCl 0,85% e repetir a determinação. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Valores de referência

- Soro ou Plasma: 6,0 a 8,0 g/dL*

*Estes valores são dados apenas a título orientativo. É recomendável que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores 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: 98,8%.

Coefficiente de variação intra-ensaio (repetitividade): A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, mostrou um coeficiente de variação igual a 1,28%.

Coefficiente de variação inter-ensaio (reprodutibilidade): A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência,

mostrou um coeficiente de variação igual a 1,80%.

Especificidade analítica: A comparação com método similar validado (que também utiliza a metodologia do biureto) demonstrou um coeficiente de correlação, r, igual a 0,995 a partir da análise de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi: $y = 0,98x + 0,056$

Sensibilidade analítica: O método apresenta uma variação de absorbância em 545 nm igual a 0,050 em cada acréscimo de 1g/dL na concentração de albumina. O limite de detecção do método é igual a 0,6 g/dL.

Interferentes

Hiperlipemia, ácido ascórbico mesmo em elevadas concentrações (acima de 25 mg/dl) e bilirrubina até 10 mg/dl não interferem. Hemoglobina acima de 150 mg/dl (hemólise significativa) interfere levando a resultados falsamente elevados.

Referências bibliográficas

1. WEICHSELBAUN, T.E.: Am. J. Clin. Path. 10:49, 1946
2. TIETZ, N.W.: Fundamentals of Clin. Chem. W.B. Saunders Co., 1970.
3. PENNOCK, C.A., Passant, L.P. & Bolton, F.G. J. Clin. Path 21:518, 1968
4. JOSEPHSON, B. & Gyllenswärd, C. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 9:29, 1957

Apresentação

Número de testes: 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) 3394–9005 (Ramal: 211)

 sac@mbiolog.com.br

COBAS MIRA/ PLUS®		
GENERAL		
MEASUREMENT MODE	ABSORB	
REACTION MODE	R-S - 1	
CALIBRATION MODE	CALIBRATOR - 2	
REAGENT BLANK	REAG/DIL - 2	
CLEANER	NO - 1	
WAVELENGTH	550 nm - 3	
DECIMAL POSITION	2	
UNIT	g/dL	
ANALYSIS		
POST. DIL FACTOR	2	
CONC. FACTOR	NO - SPACE	
SAMPLE CYCLE	2	
VOLUME	6 µL	
DILUTION NAME	H2O - 0	
VOLUME	24 µL	
REAGENT CYCLE	1	
VOLUME	276 µL	
CALCULATION		
SAMPLE LIMIT	NO - SPACE	
REACTION DIRECTION	INCREASE - 1	
CHECK	ON - 1	
CONVERSION FACTOR	1	
OFFSET / TEST RANGE	0 / 0	
	HIGH	12 g/dL
NORMAL RANGE LOW	NO - SPACE	
	HIGH	NO - SPACE
NUMBER OF STEPS	1	
CALCULATION STEP A	ENDPOINT -1	
READING FIRST	CB	
LAST	6	
CALIBRATION		
CALIBRATION INTERVAL	ON REQUEST - 3	
TIME	NO - SPACE	
REAGENTE RANGE LOW	-0,1	
	HIGH	0,2
BLANK RANGE LOW	-0,10 ÅA	
	HIGH	0,20 ÅA
STANDARD POS	IPU*	
STD – 1	IPU**	
IPU*: Insira a posição do calibrador no equipamento. IPU**:Insira a concentração do calibrador no equipamento. Pode-se utilizar o Padrão do kit para calibração (Valor do padrão: 4 g/dL). Para “COBAS MIRA PLUS”, substituir a opção “CALIBRATOR” por “SLOP AVG”.		

EXPRESS 550/PLUS®				
TEST NAME: PROT. TOTAIS		TEST: PROT.		
TEST BAR CODE: IPU*				
TEST TYPE: END POINT		CURVE TYPE:: BLAN. LINEAR		
UNITS: g/dL		N° OF DECIMAL PLACE: 1		
PRIMARY WAVELENGHT: 540		SECONDARY WAVELENGHT: 600		
READ TIME / INTERVAL: 20		SAMPLE BLANK: NO		
FACTOR:				
CALIBRATION INTERVAL: 180 h		N° OF REPLICATES: 2		
N° OF CALIBRATOR: IPU*				
LOW BLANK A LIMIT: -0.250		HIGH BLANK A LIMIT: 0.350		
LOW A LIMIT: -0.250		HIGH A LIMIT: 0,3		
LOW NORMAL: 6		HIGH NORMAL: 8		
LINEARITY LIMIT: 12		CURVE S.D. LIMIT: 0.250		
SAMPLE VOLUME: 6 µL		TEST: PROT.		
SAMPLE DILUENTE BOTTLE TYPE: *		PREDILUITION RATIO: 1		
REAGENT DILUENTE BOTTLE TYPE:*				
REAGENT DILUENT:	VOL. RAG.	BD DIL	LAG TIME	BT
REAGENT 1:	300		560	*
IPU: Inserido Pelo Usuário				
*: Entre com o tipo de frasco utilizado. Plástico ou Vidro				
Pode-se utilizar o Padrão do kit para calibração (Valor do padrão: 4 g/dL).				

BIO 2000® & LABQUEST®			
MODO	P.F	P1	IPU*
uUWLI	546	UNDIDAD	g/dL
WL2		DECIMALS	1
BLANK?	SIM	LIM LIN MIN	0
BLANK- AMOS – PAD?	NÃO/NÃO	LIM LIN MAX	15
CUB FLUXO ?	SIM	ABS REAT MIN	-0.01
TEMP?	37 °C	ABS REAT MAX	400
VOL ASP	400	ABS PAD MIN	6
RETARDO	3	ABS PAD MAX	8
PADRÃO	SIM	VR/VN MIN	2.4
PAD (QUANT)	ÚNICA	VR/VN MAX	7
IPU: Inserido Pelo Usuário			
Pode-se utilizar o Padrão do kit para calibração (Valor do padrão: 4 g/dL).			

RA-50®	
TEMPERATURA	25°C
VOLUME DA AMOSTRA	20 µL
VOLUME DO REAGENTE	1000 µL
CONCENTRAÇÃO DO PADRÃO	IPU*
TIPO DE REAÇÃO	P.F / PADRÃO / BRANCO DE REAG.
UNIDADES	g/dL
COMPRIMENTO DE ONDA	546 nm
INCLINAÇÃO DA REAÇÃO	CRESCENTE
LINEARIDADE	15 g/dL
RET. VALOR DO BRANCO	NÃO
PRECISÃO DO RESULTADO	0.1 mg/dL
VOLUME DE ASPIRAÇÃO	500 µL
Pode-se utilizar o Padrão do kit para calibração (Valor do padrão: 4 g/dL).	
A opção “ PADRÃO” pode ser substituída pela opção “FATOR”. Porém, este deve ser calculado previamente.	
RA-100®	
TEST Nº / TEST NAME	PROTÉINAS TOTAIS
UNITS	g/dL
LOW NORMAL	6.5
HIGH NORMAL	8.3
FACTOR	
STAND. CON	IPU*
TYPE	1
WAVELENGTH	550
SAMPLE VOLUME	5
SAMPLE PRIME VOL.	2.5
SAMPLE FLUSH VOL.	250
REAGENT. VOL	250
REAG. PRIME VOL.	12.5
REAG. FLUSH VOL.	450
INCUBATION TIME	595
REAG. ABS LOW	0.01
REAG. ABS HIGH	0.3
REACT. ABS LOW	0
REACT. ABS HIGH	0,5
MAX LIN RSLT	15
TEMPERATURA	37 °C
IPU* Inserido Pelo Usuário Pode-se utilizar o Padrão do kit para calibração (Valor do padrão: 4 g/dL).	

BTS-310®	
LOCALIDAD	IPU*
NOMBRE TECNICA	PROTEINAS TOTAIS
UNIDADES	9
MODO DE CÁLCULO	PFE
MODO DE LECTURA	MONO
FILTRO REFERENCIA	-
FILTRO LECTURA	546
FATOR	-
TIEMPO ESTBILIDAD	1
TIEMPO INCUBACION	-
TIEMPO INTERVALO	-
NÚMERO DE INTERVALOS	-
VOLUME DE ASPIRAÇÃO	400
TIPO DE REACION	Crescente
ESTANDAR	4 (Padrão do kit)
Nº ESTANDARTES	-
DUP. ESTANDARTES	-
DUP. MUESTRAS	-
ESCALAS ABS	-
CONC.	-
FACTOR DILUCION	-
TEMPERATURA	37°C

ABBOT VP®	
NAME INDEX – TES NAME	PROT.
TEMPERATURE	37°C
FILTER ID CODE	550/650
UNITS	g/dL
DILUTION 1:	51 (1:51)
REV. TIME	2
AUX. DISP	NO
FRR	NO
REACTION UP	YES
STANDARD	YES
LOW STANDARD	4 (Padrão do kit)
HIGH STANDARD	4 (Padrão do kit)
REAG. BLANK	YES
END. POINT	YES
BGN PRT REVOVUTION	5
PRT REVOLUTION	1
INITIAL REAGENT AD	0,3
UP LIMIT	YES
MAX ABSB LIMIT	0,42

Todos os equipamentos são marcas registradas de seus fabricantes