



# QUIMIPROT - Proteína Total Biureto

## Finalidade:

Reação colorimétrica para determinação quantitativa da proteína total em amostras de soro, líquido ascítico, pleural e sinovial humanos. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

## Princípio:

A proteína presente na amostra reage com íons de cobre (II) em meio alcalino, originando um complexo colorido que pode ser quantificado por espectrofotometria (550 nm). A intensidade da cor violeta é proporcional ao total da proteína presente, quando comparado a uma solução com concentração conhecida de proteína.

## Metodologia:

Biureto

## Significado Clínico:

O nível de proteínas totais no soro é basicamente um reflexo de síntese hepática ou da perda de proteínas devido a doenças renais, desnutrição severa, queimaduras graves e hemodiluição. Aumentos nos níveis são encontrados na desidratação, mieloma múltiplo, doença hepática crônica, macroglobulinemia, crioglobulinemia, lupus eritematoso, artrite reumatóide, sarcoidose, infecções crônicas, linfogranuloma e endocardite bacteriana sub-aguda.

Diminuição dos níveis são encontrados nas doenças renal, nefrose, hiperhidratação, desnutrição grave, queimaduras graves, síndrome de má absorção, deficiência de cálcio e vitamina D, e hepática terminal.

Líquido Ascítico: valores abaixo de 2,5 g/dL são encontrados em cirrose e insuficiência cardíaca, acima de 3,0 g/dL são encontrados em carcinomatose, ascite quilosa, pancreatite.

Líquido Pleural: valores abaixo de 2,5 g/dL são encontrados em cirrose, insuficiência cardíaca e síndrome nefrótica e acima de 3,0 g/dL são encontrados em neoplasias, infecções, pancreatite, colagenoses, embolia e quilotórax.

Líquido Sinovial: valores elevados podem ocorrer em processos inflamatórios articulares.

## Reagentes:

Reagente único pronto para uso.

Conservar entre 15 - 25°C e manter ao abrigo da luz.

Contém: Sulfato de cobre 10mmol/L, tartarato de sódio e potássio 15mmol/L, iodeto de potássio 15 mmol/L, hidróxido de sódio 140 mmol/L.

Padrão (cód 3006): Conservar entre 2 - 25°C. Solução aquosa com concentração de proteína rastreável ao método de referência proposto pelo NIST. Verifique a concentração do padrão no rótulo do frasco.

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto e on board (em um compartimento refrigerado do analisador) possuem estabilidade de aproximadamente 20 dias. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

## Precauções e Cuidados Requeridos:

Este reagente deve ser usado somente para diagnóstico "in vitro". O reagente contém hidróxido de sódio que é corrosivo e pode provocar queimaduras. Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.

O padrão contém azida sódica como conservante (0,05%). Este componente pode reagir com cobre e chumbo podendo tornar-se um metal explosivo. Ao descartá-lo, adicionar grande quantidade de água.

Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos. Não usar se a absorvância do branco ultrapassar 0,150 (convertido para 1,0 cm de espaço ótico) quando medido em 550 nm e se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco o que indica contaminação do reagente. Presença de precipitado, indica deterioração do reagente, não devendo ser usado.

## Material Necessário não Fornecido:

- Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorvância em 550 nm (540 - 560nm).
- Pipetas para medição de amostras e reagente.
- Água destilada/deionizada.
- Consumíveis do analisador quando usado.
- Soros Controle e Calibradores.
- Medidor de tempo.

## Amostra:

Soro - a proteína na amostra é estável por 3 dias se estiver refrigerado à temperatura de 2 - 8°C ou 7 dias a -20°C. Líquidos Ascítico, Pleural e Sinovial - centrifugar por 10 minutos a 3000 rpm e utilizar o sobrenadante para proceder o ensaio. Não utilizar amostras de urina ou líquido, devido a metodologia

utilizada.

O uso de torniquete por mais de 3 minutos, provoca o aumento do valor da albumina.

Todas as amostras e controles são considerados potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança

## Preparo do Paciente:

É recomendado um jejum de 6 horas e coleta pela manhã. Todavia, poderá ser modificado segundo orientação médica.

## Interferências:

Bilirrubina  $\geq$  200 mg/dL, Hemoglobina  $\geq$  100 mg/dL, Triglicérides  $\geq$  196 mg/dL podem interferir no resultado.

Lipemia, Hemólise grosseira ou expansores de plasma (Dextran, PVP e Hemacel) podem causar resultados falsamente elevados. Todos os anticoagulantes interferem nos resultados.

Algumas drogas e substâncias afetam a concentração da proteína, sugerimos consultar Young et al.

## Parâmetros do Sistema:

Temperatura: 37°C  
Comprimento de Onda: 550 nm (540 - 560 nm).  
Tipo de Reação: Colorimétrica de ponto final  
Direção: Crescente  
Relação Amostra/Reativo: 1:100  
Vol. Amostra: 10µL  
Vol. Reagente: 1,0 mL  
Tempo de Incubação: 10 minutos

## Calibração:

Utilizar Quimicalib Ebram Cód.7023/12023 ou o padrão que acompanha o kit do cód 3006. A concentração de proteína total no Quimicalib é rastreável ao método de referência proposto pelo CLSI e no padrão ao Material de Referência Padrão proposto pelo NIST.

## Procedimento Automatizado:

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente.

Aplicação no sistema semi-automático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual até o item 2 (incubação), em seguida utilizar o equipamento para leitura, seguindo protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.

## Procedimento Manual:

1. Separar 3 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	Branco	Padrão	Amostra/S.C.
Água destilada	10µL	-	-
Calibrador	-	10µL	-
Amostra/S. C.	-	-	10µL
Reagente	1,0mL	1,0mL	1,0mL

2. Homogeneizar os tubos e deixar em Banho-Maria (BM) 37°C por 10 minutos. O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagente nos tubos de ensaio.

3. Zerar o aparelho com o branco do reagente a 550 nm (540 - 560nm), proceder as leituras registrando as absorvâncias do padrão, amostra e soro controle (S.C.).

Nota: a cor final é estável por 60 minutos em temperatura ambiente. \* Soros fortemente lipêmicos exigem um branco de amostra.

Adicione 0,010 mL (10 µL) de amostra a 1,0mL de solução salina, homogeneizar e ler a absorvância contra água. Subtraia este valor da absorvância do paciente para obter a leitura corrigida.

Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0 mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influência no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostra menores do que 10 µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

## Cálculos:

( Abs. = Absorvância)  
(Conc. = Concentração)

$$\text{Proteína Total Amostra (g/dL)} = \frac{\text{Abs. amostra}}{\text{Abs. Padrão}} \times \text{Conc. do padrão (g/dL)}$$

$$\text{Proteína Total (g/dL)} - \text{Albumina (g/dL)} = \text{Globulina (g/dL)}$$

Fórmula para cálculo da Globulina:

$$\text{Proteína Total (g/dL)} - \text{Albumina (g/dL)} = \text{Globulina (g/dL)}$$

## Exemplo:

Absorvância da amostra = 0,350  
Absorvância do padrão = 0,400  
Concentração do padrão = 8,0 g/dL

$$\text{Proteína Total} = \frac{0,350}{0,400} \times 8,0 = 7,0 \text{ g/dL}$$

## Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 15 g/dL.

Amostras com valor superior a 15 g/dL devem ser diluídas com NaCl a ponto de ficarem entre 0,1 e 15 g/dL e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

## Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos o uso dos soros controle Quimicontrol Normal e Quimicontrol Anormal Ebram Cód. 7024/12024 e 7031/12031.

## Valores Esperados:

Soro = 6,5 - 8,0 g/dL  
Líquido Ascítico- transudato = < 2,5 g/dL  
Líquido Ascítico - Exsudato = < 3,0 g/dL  
Líquido Pleural - Transudato = < 2,5 g/dL  
Líquido Pleural - Exsudato = 3,0 g/dL  
Líquido Sinovial = 2,5 - 3,0 g/dL

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Conversão para Unidade do Sistema Internacional (SI): g/L  
Proteína Total (g/dL) x 10 = Proteína Total (g/L)

## Estudos Comparativos:

Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia similar produziram os seguintes resultados estatísticos:

Número de Amostras:	40
Intervalo dos resultados	6,24 - 8,11
Coefficiente de Correlação:	0,990
Inclinação:	0,999
Intercepta:	0,19 (g/dL)

## Precisão:

Estudos de precisão foram executados com dois níveis (normal e patológico) sendo que cada amostra fora processada por 10 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (g/dL)	6,24	8,11
D.P. (g/dL)	0,06	0,11
C.V. (%)	0,9	1,4

## Exatidão:

As amostras foram processadas por 10 dias consecutivos, uma vez por dia e em duplicata. Os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (g/dL)	6,24	8,11
D.P. (g/dL)	0,10	0,13
C.V. (%)	1,6	1,6

## Sensibilidade Metodológica:

0,1 g/dL

## Especificidade:

Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

## Observações:

- A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade  $\geq$  1 mega ohm ou condutividade  $\leq$  1 microsiemens e concentração de silicatos < 0,1 mg/L (água tipo II). Para o enxágue da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade  $\geq$  0,1 megaohms ou condutividade  $\leq$  10 microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II.

## Apresentação:

Linha Bioquímica Geral: 1 x 200mL + 1 x 1,0mL

Linha Bulk: 1 x 500mL

Linha Quimisat 450: 2 x 45mL

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebtram.com ou www.ebram.com.

## Referência Bibliográfica:

- Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, WB Saunders, Philadelphia (1986)
- Riegler, E. Anal. Chem. 53:242 (1914)
- Kingsley, G.R. J. Biol. Chem. 131:197 (1939)
- Kingsley, G.R. J. Lab.Clin. Med. 27:640 (1942)
- Weichselbaum, T. Amer. J. Clin. Path. 16:40 (1948)
- Gomall, A. et al. J. Biol. Chem. 177:752 (1949)
- Henry, R.J. et. Al. Clinical Chemistry: Principals and Technics, Harper & Row, New York, p. 415 (1974)
- Young, D.S. et al. Clin. Chem. 21:1D (1975)
- Tietz, N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders, Philadelphia p. 299 (1976).
- Miller, O., Gonçalves, R.R., Laboratório para o Clínico, 8 ed., Atheneu, (1998).
- Arquivos da EBRAM.



### APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA

<b>GENERAL</b>	
Measurement Mode:	ABSORB
Reaction Mode:	R-S
Calibration Mode:	Calibrator (SLOPE AVG)
Reagent Blank:	Reagent/Dil
Cleaner:	Before
Wavelength:	550 nm
Decimal Position:	1
Unit:	g/dl
<b>ANALYSIS</b>	
Dilution Name:	STD
Factor:	Main STD
Time:	Sample Dil Name: H2O
Post Dil Factor: 2.00	Conc. Factor: No
Sample:	Circle: 1
Volume:	Dil: 20ul
Reagent:	Circle: 1
Volume:	150ul
Start Reagent 1:	Circle:
Volume:	Dil:
Start Reagent 2:	Circle:
Volume:	Dil:
<b>CALCULATION</b>	
Sample Limit:	No
Point:	
Reaction Direction:	Increase
Check:	On
Conversion Factor:	1.00000
Offset:	0.00000
Test Range Low:	0.1
High:	15.0
Norm Range Low:	6.5
High:	8.0
Number of Slats:	1
Calculation Step A:	Endpoint
Readings First:	CS
Last:	15
Reaction Limit:	
Point:	
Calib. Interval:	On Request
<b>CALIBRATION</b>	
Reagent Blank:	
Reagent Range:	
Reagent Range Low:	0.0000
Blank Range Low:	-0.0010
High:	0.1500
Blank Range High:	0.1000
Factor:	
Calibrator Pos:	(*)
STD1:	STD2:
STD3:	STD4:
STD5:	STD6:
STD7:	STD8:
Calc. Model:	
Correction STD:	
Replicate:	Duolic
Deviation:	5%
<b>CONTROL</b>	
CS1 - Pos (*) Assay (***) Low (***) High (***)	
CS2 - Pos (*) Assay (***) Low (***) High (***)	
CS3 - Pos (*) Assay (***) Low (***) High (***)	
(*) colocar a posição correspondente do Rack CAUCS	
(**) colocar o valor correspondente do calibrador	
(***) colocar o valor correspondente do soro controle	

### APLICAÇÃO PARA EXPRESS 550

Test Name: Total Protein	Test: PT			
Test Bar Code:				
Test Type: Endpoint	Curve Type: Blanked Linear			
Units: g/dl	Nº of Decimal Places: 1			
Primary Wavelength: 540	Secondary Wavelength: 800			
Read Time Interval: 20	Sample Blank: No			
Factor:				
Calibration Interval: 999				
Normalization Interval:				
Nº of Calibrators: 2	Nº of Replicates: 2			
Low Blank A Limit: 0.100	High Blank A Limit: 0.250			
Low A Limit: 0.25	High A Limit: 0.250			
Low Normal: 6.5	High Normal: 8.0			
Linearity Limit: 15	Curve S.D. Limit: 0.300			
Test Name: Total Protein	Test: PT			
Test Bar Code:				
Sample Volume: 9ul	Sample Diluent:			
Reagent Dilution Ratio: 2	Predilution Ratio: 1			
Reagent Dilution:				
Reagent 1	Reagent Volume	Bar Code	Diluent Volume	Lag Time
Reagent 2	275	ZD2A		240
Reagent 3				
Reagent 4				
Controls:				

### APLICAÇÃO PARA SELECTRA

Name:	Proteína Total
Abbr. Name:	PT
Mode:	Endpoint
Wavelength:	546 nm
Units:	g/dl
Decimals:	1
Low Conc:	0
High Conc:	15
Calibrator Name:	(*)
Repeat:	2
Number:	1
Concentration:	(**)
Interval:	(*)
Cut off:	NO
Prozone Check:	NO
Ref Male Low:	6.5
Ref Male High:	8.0
Ref Female Low:	6.5
Ref Female High:	8.0
Ref Pad Low:	(*)
Ref Pad High:	(*)
Control 1:	(*)
Control 2:	(*)
Control 3:	(*)
Comelat Factor:	1.000
Comelat Offset:	0.000
<b>DUAL MODE</b>	
Name:	Proteína Total
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25 ml
Normal Volume:	250ul
Reagent Volume:	253ul
<b>SAMPLE</b>	
Normal Volume:	5ul
Reagent Volume:	2ul
R2 Bottle:	5ml
Normal Volume:	0
Reagent Volume:	0
Predilution:	NO
Slope Blank:	
Delay Min Time:	
Linearity Limit:	
Point One, Two:	
Incubation Time:	4.5 min
Low Absorbance:	-0.100
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	-0.100
R ABS H Limit:	0.200
Substr. Depletion:	
Reagent Blank:	
R ABS Deviation:	YES #
Cal Low Limit:	(*)
Cal High Limit:	(*)
Factor:	#
<b>MONO MODE</b>	
Name:	Proteína Total
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25ml
Normal Volume:	250ul
Reagent Volume:	253ul
<b>SAMPLE</b>	
Normal Volume:	5ul
Reagent Volume:	2ul
Delay Min Time:	
Linearity Limit:	
Predilution:	NO
Incubation Time:	
Point One, Two:	4.5 min (**)
Low Absorbance:	-0.100
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	-0.100
R ABS H Limit:	0.200
Substr. Depletion:	
Reagent Blank:	
R ABS Deviation:	YES #
Cal Low Limit:	(*)
Cal High Limit:	(*)
Factor:	#
(*) Dados colocados pelo usuário	
(**) Colocar o valor correspondente do calibrador	
(***) Para Selectra I o tempo de incubação será de 11.5 min	
#) Dados calculados pelo analisador	

### APLICAÇÃO PARA BTR 810

Name:	Proteína
Point Final:	
Units:	g/dl
Mode/Linum:	Monocromática
Filter:	546
Temper. Estab.:	3
Factor:	
Tempos de Incubação:	
Tempos de Intervalo:	
Nº de Intervalos:	
Temperatura:	37°C
Volume Análise:	400
Time Resposta:	Crescente
Estandart:	**

### APLICAÇÃO PARA QUICK LAB

Mode:	Point Final
Linum:	Monocromática
Filter:	546
Temperatura:	37°C
Volume Análise:	400
Units:	g/dl
Linum Lin:	15
Inclinação:	
Cálculo:	padão
Padão:	**
Factor:	
Delay Inicial:	
Quant. Intervalo:	
Tempos Intervalo:	
Tempos Estab.:	5 seg

### APLICAÇÃO PARA BIO 2000

Mode:	P.F.
WL1:	546
Blank:	sim
Blk. Area Pad:	Não/Não
Tempo:	37°C
Vol. Análise:	400
Reagent:	3
Pad:	
Padão:	
Pad.:	**
Unit:	g/dl
Dec:	1
Int. Cn:	
nº Int.:	
AMIN:	
%Lim. Lin:	
Dir:	
Lim. Lin - Min/Max:	0000 / 0015
Abs. Real - Min/Max:	0.0 / 1.0
Abs. Pad - Min/Max:	0.0 / 1.0
Vol/Vn - Min/Max:	6.5 / 8.0

### APLICAÇÃO PARA RA-XT

Name:	PROT
Immunosay:	NO
Chemistry Type:	ENDPOINT
Bio. Type:	
Immuno Chemistry:	
% Sample Volume:	12 (8ul)
Wavelength:	540
Biochemical Chemistry:	NO
Biochemical Factor:	
K1:	
K2:	
Bio Limit 1:	
Bio Limit 2:	
Detection Limit:	
Delay Time:	6.00
Blank Type:	
Incubation:	
% Reagent Volume:	60 (300ul)
2nd Reagent:	
2nd Reagent Volume:	
A2 Delay:	
Units:	g/dl
Unit Factor:	1.0000
Decimal Point:	1
RBL Low:	0.000
RBL High:	0.125
Range Low:	0.1
Range High:	15.0
Calibration Factor:	(*)
Reagent Rate:	
Standard Value:	(**)
Normal Low:	6.5
Normal High:	8.0
Slope:	1.000
Intercept:	0.000
C1*10E-6:	
C2*10E-6:	
D1*10E-6:	
Delay R:	
Linear Factor:	
Final Limit:	
Endpoint Limit:	0.0100
(*) Colocar o valor correspondente do calibrador	
(**) Colocar o valor correspondente do calibrador	

### APLICAÇÃO PARA AIRONE

Measure Unit:	g/dl	Decimals:	1	Reaction Type:	Endpoint
Volume (ul):	Serum: 13	Plasma: 13	Urine: -		
	Reagent 1: 400	Reagent 2: 0			
Abs. Range (m. Abs):	Min: 0	Max: 1.500			
Linearity Limit:	15.00	Reagent Blanking: Yes			
Contaminating:	No	Differential: No			
Filter 1:	546	Filter 2: None			
Time (sec):	Mix 1: 2.00	Incubation 1: 240	Lag Phase: 2		
	Mix 2: 0.00	Incubation 2: 0	Measure: 1		
Measurement Type:	Standard	Factor:	0.00		
Normal Range					
		Homens	Mulheres		
Age (yrs)	Min.	Max.	Min.	Max.	
Below 10:					
From 10 to 80:	6.5	8.0	6.5	8.0	
Over:					

Ebram Prods. Laboratoriais Ltda.  
 Rua Júlio de Castilhos, nº 500 - Belenzinho  
 São Paulo - SP - Cep: 03059-001  
 Tel.: (11) 2291-2811  
 Indústria Brasileira  
 CNPJ.: 50.657.402/0001-31  
 www.ebram.com  
 sac@ebram.com  
 SAC.: (11) 2291-2811  
 Resp. Téc.: Nadjara Novaes Longen  
 CRF-SP - 37.451  
 Nº do Reg. MS: 10159820118  
 Edição: Mai/19

Disponemos de programações para outros analisadores, entre em contato com SAC EBRAM.