

USO

Reação colorimétrica para determinação quantitativa de proteína em amostras de soro ou plasma. 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 (545 nm). A intensidade da cor violeta é proporcional ao total da proteína presente, quando comparado a uma solução com concentração conhecida de proteína.

AMOSTRA.

- **Amostra:** Soro ou plasma heparinizado, colhido recentemente e não hemolisado; Líquidos: ascítico, pleural, sinovial.
- **Armazenamento e estabilidade pré analítico :** A Proteína no soro é estável por 3 dias se estiver refrigerado à temperatura de 2 - 8°C e 7 dias a -20°C.
- **Líquidos Ascítico, Pleural e Sinovial:** Centrifugar por 10 minutos, utilizar o sobrenadante para o ensaio.
Pode-se utilizar plasma como amostra, mas o resultado estará aumentado em 0,2 g/dl devido à presença de fibrinogênio.
Não utilizar amostras de urina ou líquido, devido a metodologia utilizada.
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 seguindo orientação médica.

PRODUTO UTILIZADO

QUMIPROT – PROTEÍNA TOTAL MS: **10159820118**

Fabricante: Ebram Produtos Laboratoriais Ltda.

Rua Julio de Castilhos, 500.

Belenzinho – São Paulo –SP – Brasil - CEP: 03059-001

Para maiores informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM:

Tel. (011) 2291-2811 ou sac@ebram.com

EQUIPAMENTOS

- **Procedimento Manual**
Espectrofotômetro ou fotômetro com cubeta termostaticada 37°C para leituras a 540 nm
Cubetas ou fluxo contínuo com 1.0 cm de passo óptico
Banho-Maria 37°C
Pipetas calibradas ou dispensador automático para reagentes e amostras
- **Procedimento Automatizado**
Indicar o nome, modelo e o local onde se encontra o equipamento analisador automatizado, fazendo referência ao manual (ou POP) para utilização do mesmo
- **Procedimento alternativo**
Indicar o equipamento alternativo e os respectivos procedimentos para medição dos ensaios. Enumerar as diferenças esperadas quando procedimentos manuais substituem automatizados.

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. 12021/7024 e 12031/7031.

PROCEDIMENTO

- **Procedimento Manual**
1. Separar 3 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	Branco	Calibrador	Amostra/S.C
Água destilada	20µL	-	-
Calibrador	-	20µL	-
Amostra/S.C.	-	-	20µL
Reagente	1,0mL	1,0 mL	1,0 mL

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUMIPROT – PROTEÍNA TOTAL	Página 2 de 3 POPPIOxxx/xx
-------------------------------	--	-------------------------------

2. Colocar 1,0 mL do reagente em cada tubo e deixar em banho - maria (BM) a 37°C por 60 segundos. O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagentes nos tubos de ensaio.
 3. Zerar o espectrofotômetro a 540 nm com o reagente.
 4. Cuidadosamente, adicionar 20µL do calibrador no tubo correspondente, homogeneizar e deixar em BM a 37°C por 4 minutos. Proceder da mesma forma para soros controle e amostras.
 5. Registrar as absorvâncias.
- 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.

- **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.

- **Precauções e cuidados especiais**

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 545 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.

CÁLCULOS

$$\frac{\text{Absorvância da amostra}}{\text{Absorvância do calibrador}} \times \text{Conc. do calib.} = \text{Proteína(g/dL)}$$

RESULTADOS

- Unidade de medida: g/dl
 - Valores de Referência
 - 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 exudato: < 3,0 g/dL
 - Líquido Sinovial: 2,5 a 3,0 g/dL
- Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- **Linearidade / Sensibilidade**

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 12 g/dL.
Amostras com valor superior a 12 g/dL devem ser diluídas com NaCl a ponto de ficarem entre 1 e 12 g/dL e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.
Sensibilidade : 0,172 g/dL
- **Interferências:**

Hemólise grosseira e lipemia podem causar resultados falsamente elevados. Dextran normalmente não interfere no teste.
Algumas drogas e substâncias afetam a concentração da proteína, sugerimos consultar Young et al.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Proteína total é utilizada para monitorar mudanças grosseiras nos níveis de proteína causados por vários estados de doença. O teste é feito normalmente em conjunto com outros, como albumina, testes de função hepática ou eletroforese de proteína. A relação albumina/globulina é freqüentemente calculada para obter informações adicionais.

Aumentos nos níveis são encontrados na desidratação, mieloma múltiplo e doença hepática crônica. Diminuição dos níveis são encontrados nas doenças renal e hepática terminal.

REFERÊNCIAS

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

	Nome	Assinatura	Data
Elaborado por			
Aprovado por			
Revisado por			
Desativado por			
Razão			

VER: ABR/14