

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUMIPROT – PROTEÍNA TOTAL	Página 1 de 4 POPBIOxxx/xx
-------------------------------	--	-------------------------------

USO

Reação colorimétrica para determinação quantitativa de proteína em amostras de soro, líquido ascético, 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 (550nm). A intensidade da cor violeta é proporcional ao total da proteína presente, quando comparado a uma solução com concentração conhecida de proteína.

Meio alcalino

Proteína + Cu²⁺ ----- Complexo colorido

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, lúpus eritematoso, artrite reumatoide, sarcoidose, infecções crônicas, linfogranuloma e endocardite bacteriana subaguda.

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 nefrotica e acima de 3,0 g/dL são encontrados em neoplasias, infecções, pancreatite, colagenoses, embolia e quilotorax.

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

PRODUTO UTILIZADO

QUMIPROT – PROTEÍNA TOTAL MS: 10159820240

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

REAGENTES

Reagente único pronto para uso. Conservar entre 15 - 25°C e manter ao abrigo da luz. Contém: Hidróxido de sódio 600mM, sulfato cúprico 12mM, tartarato de sódio e potássio 32mM, iodeto de potássio 30mM.

Padrão (cód: 3006): Conservar entre 2 – 25°C. Solução aquosa contendo concentração padrão de proteína total rastreável ao Material de Referência Padrão proposto pelo NIST. Verifique a concentração do padrão no rotulo do frasco.

Os reagentes não abertos são estáveis ate a data de vencimento impressa no rotulo 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 ESPECIAIS

Este reagente deve ser usado somente para diagnóstico "in vitro".

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUMIPROT – PROTEÍNA TOTAL	Página 1 de 4 POPBIOxxx/xx
-------------------------------	---	-------------------------------

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 absorbância do branco ultrapassar 0,150 (convertido para 1,0cm de espaço ótico) quando medido em 550nm 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.

AMOSTRA

Soro: a proteína na amostra é estável por 3 dias se estiver refrigerado a temperatura de 2 – 8°C ou 7 dias a -20°C.

Líquidos Ascítico, Pleural e Sinovial: centrifugar por 10minutos a 3000rpm e utilizar o sobrenadante para proceder o ensaio.

Não utilizar amostras de urina ou liquor, 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.

MATERIAL NECESSÁRIO NÃO FORNECIDO

1. Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorbância em 550nm (540 – 560nm).
2. Pipetas para medição de amostras e reagente.
3. Água destilada/deionizada.
4. Consumíveis do analisador quando usado.
5. Calibradores e soro controles.
6. Medidor de tempo.

PROCEDIMENTO

- **Procedimento automático:**

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

Aplicação no sistema semiautomático: 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	Calibrador	Amostra/S.C.
Água destilada	10µL	-	-
Calibrador	-	10µL	-
Amostra/S.C.	-	-	10µL
Reagente	1,0mL	1,0mL	1,0mL

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUMIPROT – PROTEÍNA TOTAL	Página 1 de 4 POPBIOxxx/xx
--------------------------------------	--	---------------------------------------

2. Homogeneizar os tubos e deixar em Banho-Maria (BM) 37°C por 10 minutos. O nível de agua no BM deve ser superior ao nível de reagente nos tubos de ensaio.
3. Zerar o aparelho com o branco do reagente a 550nm (540 - 560nm), proceder as leituras registrando as absorbâncias do padrão, amostra e soro controle (S.C.).

Nota: a cor final é estável por 60 minutos em temperatura ambiente.

* Soros fortemente lipemicos exigem um branco de amostra. Adicione 0.010mL (10µL) de amostra a 1,0mL de solução salina, homogeneizar e ler a absorbância contra água. Subtraia este valor da absorbância do paciente para obter a leitura corrigida.

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

CÁLCULOS

(Abs. = Absorbância)

(Conc.= Concentração)

Abs da amostra

Proteína Total da Amostra ----- x Conc. do padrão (g/dL)
(g/dL)

Proteína Total (g/dL) – Albumina (g/dL) = Globulina (g/dL)

Fórmula para cálculo da globulina:

Proteína Total (g/dL) – Albumina (g/dL) = Globulina (g/dL)

RESULTADOS

Soro: 6,5 – 8,0 g/dL

Liquido Ascitico Transudato : < 2,5 g/dL

Liquido Ascitico Exsudato: < 3,0 g/dL

Liquido Pleural Transudato : < 2,5 g/dL

Liquido Pleural Exudato: < 3,0 g/dL

Liquido 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 15 g/dL.

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

Sensibilidade: 0,1 g/dL

- **Interferências:**

Bilirrubina ≥ 20 mg/dL, Hemoglobina ≥ 100 mg/dL, Triglicérides ≥ 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 substancias afetam a concentração da proteína, sugerimos consultar Young et al.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUMIPROT – PROTEÍNA TOTAL	Página 1 de 4 POPBIOxxx/xx
-------------------------------	--	-------------------------------

OBSERVAÇÕES

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

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 Nov/20