



## QUIMIPROT - Proteína Total

### Biureto

REG. MS: 10159820240

#### EBRAM PRODUTOS LABORATORIAIS LTDA.

Rua Julio de Castilhos, 500 - Belenzinho  
São Paulo - SP - Tel.: +55 11 2291 2811  
CEP 03059-001 | Indústria Brasileira  
CNPJ.: 50.657.402/0001-31

#### RESPONSÁVEL TÉCNICA

Dra. Nadjara Novaes Longen | CRF-SP - 37.451

Para mais informações, entrar em contato com o **SAC EBRAM**  
0800 500 2424 ou ☎ 11 2574 7110  
sac@ebram.com | www.ebram.com

Revisão Agosto/2023

**FINALIDADE.** Reação colorimétrica para determinação quantitativa da proteína total em amostras de soro, líquido ascítico, pleural e sinovial. 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 2 - 25°C e manter ao abrigo da luz. Contém: Hidróxido de sódio 600 mM, sulfato cúprico 12 mM, tartarato de sódio e potássio 32 mM, iodeto de potássio 30 mM. Padrão (cód.: 3006): Conservar entre 2 - 8°C. Solução aquosa contendo concentração padrão de proteína total rastreável ao Material de Referência Padrão ERM-DA470k/IFCC. 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.
- Cronômetro.

**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  $\geq 20$  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 x 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, para kits com padrão. A concentração de proteína total no Quimicalib é rastreável ao material de referência NIST SRM927d e no padrão ao ERM-DA470k/IFCC.

**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.

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

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

- Homogeneizar os tubos e deixar em Banho-Maria (BM) 37°C por 10 minutos. O nível de água na BM deve ser superior ao nível de reagente nos tubos de ensaio.
- Zerar o aparelho com o branco do reagente a 550 nm (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 lipêmicos exigem um branco de amostra. Adicione 0.010 mL (10 µL) 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 1,0 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.=Absorbância)

(Conc. = Concentração)

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

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)

## EXEMPLO:

Absorbância da amostra = 0,350

Absorbância do padrão = 0,400

Concentração do padrão = 8,0 g/dL

$$\text{Proteína total} = \frac{0,350}{0,400} \times 8,0$$

Proteína total da amostra = 7,0 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.

Caninos: 5,4 - 7,1 g/dL

Felinos: 5,4 - 7,8 g/dL

Bovinos: 6,74 - 7,46 g/dL

Equinos: 5,2 - 7,9 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 (mg/dL)	6,24	8,11
D.P. (mg/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 (mg/dL)	6,24	8,11
D.P. (mg/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 enxágüe da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade  $\geq 0,1$  megaohms ou condutividade  $\leq 10$  microsiemens. No enxágüe final utilizar água tipo II.

## APRESENTAÇÃO.

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

Linha Bulk: 1 x 500mL

## 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. 21:10 (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.

## SÍMBOLOS UNIVERSAIS UTILIZADOS EM EMBALAGENS DE DIAGNÓSTICO IN VITRO

 CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO	 REAGENTE	 FABRICADO POR
 O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTES	 DATA DE VALIDADE (ÚLTIMO DIA DO MÊS)	 NÚMERO DO LOTE
 LIMITE DE TEMPERATURA (CONSERVAR A)	 PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO	 NÚMERO DO CATÁLOGO
 USO VETERINÁRIO		