



PROTEÍNAS TOTAIS

INSTRUÇÕES DE USO

MÉTODO:

Biureto.

FINALIDADE:

Reagentes para a determinação quantitativa de proteínas no soro e em outros líquidos biológicos. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO:

As proteínas presentes na amostra reagem com o biureto e desenvolvem uma coloração roxa, cuja absorbância em 550 nm é proporcional a concentração proteica.

SIGNIFICADO CLÍNICO:

A dosagem de proteína total isoladamente no soro informa sobre o estado geral do paciente, mas apresenta baixa relevância clínica, pois a redução de uma das frações pode ser compensada pela elevação de outras. O nível de proteínas séricas é um reflexo de síntese hepática e/ou perdas renais, queimaduras extensas e hemodiluição. A elevação das proteínas plasmáticas está relacionada com quadros de artrite reumatoide, mieloma múltiplo, lúpus eritematoso, endocardite bacteriana e linfogranuloma. Sua redução está associada à desnutrição grave, hiperhidratação, deficiência de cálcio, insuficiência renal e deficiência de vitamina D.

A dosagem das proteínas no líquido sinovial tem aproximadamente 50% de sensibilidade e 60% de especificidade nas doenças inflamatórias. Sua determinação no líquido pleural é de baixa relevância clínica a não ser que seja feita uma diferenciação entre exsudato e transudato.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO DOS REAGENTES:

Conservar entre 15 e 30 °C

R1 - Reagente de Cor: Tartarato de sódio e potássio 15,0 mmol/L; Hidróxido de sódio 140,0 mmol/L; Sulfato de cobre 10,0 mmol/L; Iodeto de Potássio 15,0 mmol/L.

R2 - Reagente Padrão: Azida sódica 0,09% p/v; Albumina 5,0 g/L.

ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados entre 15 e 30 °C, se bem vedados e se for evitada a contaminação durante o uso.

TRANSPORTE:

O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 07 dias e em uma temperatura de até 37 °C.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado entre 15 e 30 °C e em sua embalagem original.

PREPARO DOS REAGENTES:

Os reagentes estão prontos para uso.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS:

- O frasco do **Reagente de Cor** deve permanecer destampado somente o tempo necessário para a pipetagem, pois o reagente sofre interferência do oxigênio.
- A presença de um precipitado escuro, bem como a alteração na cor do reagente, são sinais de deterioração.
- Pequenas partículas brancas em suspensão podem ocorrer devido ao pH do reagente. Caso isso ocorra, filtrar o reagente e realizar uma calibração para certificar o funcionamento do reagente.
- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes. O R2 contém azida sódica. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele, mucosas e olhos. Se em contato, enxaguar abundantemente com água e consultar um médico;
- Recomendamos a aplicação das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução do teste;
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes;
- A limpeza dos materiais utilizados é de grande importância. A vidraria utilizada deve ser criteriosamente limpa e seca;
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental;
- Não misturar reagentes de lotes diferentes;
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, evitando contaminação cruzada.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Espectrofotômetro UV/VIS;
- Tubos e pipetas;
- Cronômetro.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS

• SORO

A proteína é estável por até 3 dias na amostra se armazenada de 2 a 8 °C e 7 dias a -20 °C. Soros fortemente lipêmicos podem causar turvação. Nesse caso, adicionar 3,0 mL de éter a reação de cor. Agitar por 60 minutos; centrifugar a 2000 rpm por 5 minutos e efetuar a leitura fotométrica da camada inferior.

• LÍQUIDOS ASCÍTICO, PLEURAL e SINOVIAL

A amostra deve ser centrifugada por 10 minutos a 3000 rpm. Utilizar o sobrenadante para proceder com o ensaio.

INTERFERÊNCIAS

Todos os anticoagulantes interferem na dosagem, bem como bilirrubina superior a 15 mg/dL, triglicéridos superior a 170 mg/dL e hemoglobina superior a 18 mg/L. Amostras de soro hemolisado ou contendo expansores plasmáticos (Dextran, Hemacel, ou PVP) fornecem valores falsamente elevados.

PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Observações:

- A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos;
- Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro. Deve-se tomar extremo cuidado com resíduos de detergente na vidraria;
- A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, aminas e agentes

oxidantes que deterioram os reativos.

2. Leitura do teste:

- Comprimento de onda: 550 nm;
- Cubeta: 1 cm;
- Temperatura: Ambiente (10 – 30 °C);
- Medição: Contra o reagente branco. Somente um reagente branco por série é necessário.

3. ESQUEMA DE PIPETAGEM

- Pipetar dentro das cubetas ou tubos.

	Branco	Amostra/Padrão
Amostra/Padrão	-	10 µL
R1 – Reagente de Cor	1000 µL	1000 µL

Homogeneizar, incubar por 10 minutos a temperatura ambiente (10 – 30 °C). Medir a absorbância da amostra (Aa) e do padrão (Ap) contra o reagente branco a 550 nm. A cor é estável por até 60 minutos ao abrigo da luz.

4. Cálculos

Ap = Absorbância do padrão;

Aa = Absorbância da amostra;

Cp = Concentração do padrão (g/dL)

$$\text{Proteína (g/L)} = (Aa/Ap) \times Cp$$

Utilizando fator de calibração (FC):

FC = Cp/Ap

Proteína = Aa x FC µg/dL

4.1 Exemplo com padrão:

Ap = 0,220;

Aa = 0,351;

Cp = 4,0 g/dL

$$\text{Proteína (g/dL)} = (Aa/Ap) \times Cp$$

$$\text{Proteína} = (0,351/0,220) \times 4 = 6,38 \text{ g/dL}$$

4.2 Exemplo com fator de calibração:

Ap = 0,220;

Aa = 0,351;

Cp = 4,0 g/dL

$$FC = 4/0,362 = 18,20;$$

$$\text{Proteína (g/dL)} = 0,351 \times 18,20 = 6,38 \text{ g/dL};$$

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO:

1. Linearidade da reação:

A reação é linear até a concentração de proteína de 12 g/dL. Para valores superiores:

- Diluir a amostra com solução de cloreto de sódio a 0,9%;
- Efetuar nova determinação;
- Multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado.

Recomenda-se inicialmente a diluição 1+1.

2. Valores de referência

Valor de Referência	g/dL
Soro	6,5 - 8,0
Líquido Ascítico	Transudato < 2,5

Líquido Ascítico	Exsudato > 3,0
Líquido Pleural	Transudato < 2,5
Líquido Pleural	Exsudato > 3,0
Líquido Sinovial	2,5 - 3,0

Para converter os valores de g/dL em g/L, multiplicar por 10.

Estes valores devem ser utilizados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

3. Sensibilidade

0,26 mg/dL de proteína.

4. Comparação de métodos

O kit para a dosagem de Proteína Total foi comparado com outros kits comercialmente disponíveis. Amostras diversas foram utilizadas na comparação dos testes, dentre essas, soros controle e amostras de pacientes. Os resultados obtidos mostraram boa concordância.

5. Repetibilidade e reprodutibilidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação da repetibilidade e reprodutibilidade do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Trinta determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de Proteína Total da VIDA Biotecnologia para a determinação da repetibilidade e 10 determinações por soro controle para a reprodutibilidade. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

5.1 Repetibilidade

Soro Controle	N	MÉDIA	DP	CV%
SC1	30	7,04	0,28	3,98
SC2	30	5,31	0,17	3,20
SC3	30	6,43	0,23	3,58

5.2 Reprodutibilidade

Soro Controle	N	MÉDIA	DP	CV%
SC1	10	7,12	0,32	4,49
SC2	10	5,47	0,21	3,84
SC3	10	6,48	0,28	4,32

6. Controle de Qualidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Dez determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de Proteína Total da VIDA Biotecnologia. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

Soro Controle	Valor alvo	Média dos valores obtidos	% de Recuperação
SC1	7,08	7,12	100,6
SC2	6,41	6,47	100,9
SC3	5,38	5,31	98,7

Todo soro controle contendo valores determinados pelo método do Biureto para Proteína Total pode ser empregado.

RISCOS RESIDUAIS IDENTIFICADOS

As medidas de redução dos riscos foram implementadas e o produto não apresenta riscos maiores que os benefícios obtidos com o seu uso; e se usado por profissionais qualificados e treinados, cientes das precauções descritas nos produtos, desempenhará suas funções com qualidade, segurança e

eficácia.

APRESENTAÇÃO DO KIT

CÓDIGO	REAGENTE	VOLUME	NÚMERO DE DETERMINAÇÕES
100/530-250	R1 – COR	1 X 250,0 mL	250
	R2 – PADRÃO	1 x 3,0 mL	

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GORNALL, A.G.; BARDAWILL, C.J.; DAVID, M. M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. J. Biol. Chem. v.177, p.751-766, 1949.
- HENRY, R. J.; SOBEL, C.; BERKMAN, S. Interferences with biuret methods for serum proteins. Use of Benedict's qualitative glucose reagent as a biuret reagent. Anal. Chem. v.29, p.1491-1495, 1957.
- YOUNG, D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2, 5 ed. Washington DC: AACC Press, 2000.
- WESTGARD, J. O. et al. A multi-rule shewhart chart quality

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR:

A VIDA Biotecnologia garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nessa instrução sejam seguidos corretamente.

Nº DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO E DATA DE VALIDADE, VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

PRODUZIDO E DISTRIBUÍDO POR: VIDA Biotecnologia LTDA

CNPJ: 11.308.834/0001-85
Avenida José Cândido da Silveira 2100 – Horto Florestal – CEP 31035-536; Belo Horizonte. Minas Gerais – www.vidabiotecnologia.com.br
Departamento de Serviços Associados | (31)34663351; dsa@vidabiotecnologia.com.br
Responsável Técnico: Renato Silva CRBIO4 – 57360/04-D
Reg. M.S. 80785070038
Rev.: 01/2022

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NO RÓTULO DO PRODUTO	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Número de catálogo
	Produto para Diagnóstico In Vitro
	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Data de Fabricação (mm/aaaa)
	Número de Lote