

Finalidade

Método colorimétrico para a determinação de proteínas totais em soro.

Significado clínico

As proteínas são compostos orgânicos macromoleculares, amplamente distribuídos no organismo e especialmente para a vida. Atuam como elementos estruturais e de transporte e aparecendo como enzimas, hormônios, anticorpos, fatores coagulantes, etc.

No plasma, as proteínas contribuem a manter o volume de fluido circulante, transportam substâncias relativamente não solúveis e atuam na inativação de compostos tóxicos e na defesa contra agentes invasores.

A determinação de proteínas totais é útil para o monitorio de mudanças produzidas por diferentes doenças.

Em condições patológicas como a perda renal, desnutrição, infecções prolongadas, etc., apresentam-se as hipoproteïnemias, no entanto, em outras como o mieloma múltiplo, endocardite bacteriana e hemoconcentrações de diferentes origens, (ex. desidratação) observam-se as hiperproteïnemias.

Fundamentos do método

As ligações de peptídeos das proteínas totais reagem com o íon cúprico, em meio alcalino, para se obter um complexo de cor lilás com máximo de absorbância a 540 nm, cuja intensidade é proporcional à concentração de proteínas totais na amostra.

Reagentes fornecidos

A. Reagente A: complexo EDTA/Cu 13 mmol/L em hidróxido de sódio 875 mmol/L e alquil aril poliéter (AAP).

S. Padrão: solução de globulinas em estado nativo. A concentração especifica-se conforme o lote.

Instruções de uso

Reagentes fornecidos: prontos para uso.

Precauções

Os reagentes fornecidos são para uso diagnóstico "in vitro".

O Reagente A é corrosivo. H319: Provoca irritação ocular grave. H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. P262 Não pode entrar em contato com os olhos, a pele ou a roupa. P305 + P351 + P338: SE ENTRAR EM CONTATO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Caso use lentes de contato, retire-as, se for possível. Continuar enxaguando. P302 + P352: SE ENTRAR EM CONTATO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes. P280 Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/óculos de proteção/proteção facial.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

Estabilidade e instruções de armazenamento

Reagentes Fornecidos: são estáveis sob 15-30°C até a data do vencimento indicada na embalagem.

Amostra

Soro

a) Coleta: deve-se obter esteja livre de hemólise.

b) Aditivos: não são necessários.

c) Estabilidade e instruções de armazenamento: de não ser processado rapidamente o soro pode ser conservado sob refrigeração (2-10°C) até 3 dias ou uma semana congelado.

Interferências

Não são observadas interferências por bilirrubina até 100 mg/L nem hemólise ligeira e em nenhum dos casos apresenta-se turbidez por quilomícrons.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro.
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Tubos ou cubetas espectrofotométricas.
- Banho-maria a 37°C.
- Relógio ou timer.

Condições de reação

- Comprimento de onda: 540 nm em espectrofotômetro ou em fotocolorímetro com filtro verde (520-560 nm).
- Temperatura de reação: 37°C
- Tempo de reação: 15 minutos
- Volume de amostra: 20 uL
- Volume de Reagente A: 2,0 mL (vide "Desempenho")
- Volume final de reação: 2,02 mL

Procedimento

Em três tubos marcados B (Branco), P (Padrão) e D (Desconhecido), colocar:

	B	P	D
Padrão	-	20 uL	-
Amostra	-	-	20 uL
Reagente A	2,0 mL	2,0 mL	2,0 mL

Misturar. Incubar 15 minutos a 37°C. Ler em espectrofotômetro a 540 nm ou em fotocolorímetro com filtro verde (520-560 nm) zerando o aparelho com Branco de Reagente.

Estabilidade da mistura de reação final

A cor é estável 12 horas devendo ler a absorbância dentro deste período de tempo.

Cálculos dos resultados

$$\text{Proteínas totais (g/dL)} = D \times f \quad f = \frac{\text{P.T. (g/dL)}^*}{P}$$

*Concentração de proteínas totais no Padrão

$$\text{Relação A/G} = \frac{\text{Albumina (g/dL)}}{\text{P.T. (g/dL)} - \text{Alb. (g/dL)}}$$

Exemplo:

(Os dados apresentados a seguir são ilustrativos)

Absorbância da amostra: 0,213

Absorbância do Padrão: 0,170

Se a concentração de proteínas totais no Padrão é 5,11 g/dL:

$$\text{Fator} = \frac{5,11 \text{ g/dL}}{0,170} = 30,1$$

Proteínas totais (g/dL) = 0,213 x 30,1 = 6,41 g/dL

Relação A/G

Concentração de proteínas totais na amostra = 6,41

Concentração de albumina na amostra = 3,65

$$\text{Relação A/G} = \frac{3,65}{6,41 - 3,65} = \frac{3,65}{2,76} = 1,35$$

Curva de calibração

Para conferir o bom desempenho do aparelho e ter uma resposta linear nos comprimentos de onda fixadas para as reações, pode-se preparar uma curva com quantidades crescentes de Padrão (ex. 20 e 40 uL) com um volume de Reagente A de 2,0 mL em todos os casos. Se os valores obtidos para o segundo tubo fogem de 5% dos calculados conforme à leitura do primeiro deve ser utilizado para os cálculos a curva de calibração.

Conversão de unidades ao sistema SI

Proteínas totais (g/dL) x 10 = Proteínas totais (g/L)

Método de controle de qualidade

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Laborcontrol 1** e **Laborcontrol 2** da Laborlab) com concentrações conhecidas de proteínas totais, com cada determinação.

Valores de referência

Foi determinado o conteúdo de proteínas totais em soro de pessoas saudias, de ambos os sexos, com hábitos alimentares normais e idades entre 17 e 40 anos.

Foram obtidos os seguintes dados:

Proteínas totais: 6,1 a 7,9 g/dL

Relação A/G: 1,2 a 2,2

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

Limitações do procedimento

Vide "Interferências".

Pode ser utilizado plasma como amostra, mas o resultado da proteinemia será incrementado em 0,2 g/dL pela presença de fibrinogênio.

Desempenho

a) Reprodutibilidade: processando replicas das mesmas amostras em diferentes dias obtiveram-se os seguintes resultados:

Nível	D.P.	C.V.
4,6 g/dL	± 0,022 g/dL	0,49 %
5,8 g/dL	± 0,023 g/dL	0,56 %
7,0 g/dL	± 0,028 g/dL	0,39 %

b) Recuperação: adicionando quantidades conhecidas de proteínas a diferentes amostras se obteve uma recuperação de 96 a 103%.

c) Limite de detecção: dependendo do fotômetro utilizado e da comprimento de onda, conforme com a sensibilidade necessária para um ΔA mínimo de 0,001, a menor mudança de concentração detectável será de 0,01 g/dL.

d) Linearidade: a reação é linear até 17 g/dL. Se o aparelho utilizado na leitura teve-se baixa sensibilidade fotocolorimétrica, pode empregar-se 20 uL de amostra com 1,5 mL de Reagente A. Neste caso a linearidade chega até 12 g/dL de proteínas totais.

Parâmetros para analisadores automáticos

Para a programação do aparelho consulte o manual de uso do analisador a ser utilizado.

Para a calibração, pode-se utilizar Laborcal da Laborlab.

Apresentação

1 x 250 mL **Reagente A**

1 x 1,8 mL **Padrão**

(Cód. 1770260)

Referência

- Gasbarro, L.; Bandinelli R. & Tomassini, G. - Clin. Chim. Acta 36/1:275 (1972).
- Strickland, R.D.; Freeman, M.L. & Gurule E.T. - Anal. Chem. 33:545 (1961).
- Pastewka, J. W. & Ness, A.T. - Clin. Chim. Acta 12:523 (1965).
- Peters, T. Jr. - Clin. Chem. 14:1147 (1968).
- Henry, R., Sobel, C. & Berkman, S. - Anal. Chem. 29/10:1491 (1957).
- Kachmar, J.F. - Fundamentals of Clinical Chemistry - Tietz, Saunders, pág. 177 (1970).
- Rojkin, M.L.; Olguín de Mariani, M.C.; Drappo, G.A. y Sosa, C.F. - Bioq. del Atlántico VI/63: 1931 (1974).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCC Press, 4th ed., 2001.

Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.

SÍMBOLOS



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado na Comunidade Europeia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após da reconstituição



Conteúdo



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar as instruções de uso



Calibrador



Controle



Controle Positivo



Controle Negativo



Número de catálogo



Produtos para Laboratórios Ltda.
Estrada do Capão Bonito, 489
Guarulhos - SP - Brasil - CEP: 07263-010
CNPJ: 72.807.043/0001-94
Atendimento ao cliente:
+55 (11) 2480 0529/+55 (11) 2499 1277
sac@laborlab.com.br
www.laborlab.com.br