

## 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 monitoro 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 absorvância 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 irritante. R36/38: irrita os olhos e a pele. S24/25: evitar o contato com os olhos e a pele. S26: caso de contato com os olhos, lavar imediatamente com abundante água e procurar um serviço médico. S28: caso de contato com a pele, lavar imediatamente com abundante água. S37/39: usar luvas apropriadas e proteção para os olhos e a cara.

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 quilomicros.

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
<b>Padrão</b>	-	20 uL	-
<b>Amostra</b>	-	-	20 uL
<b>Reagente A</b>	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 absorvância 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)

Absorvância da amostra: 0,213

Absorvância 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 tubo 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 (La-

**borcontrol 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 saudáveis, 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 réplicas 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 do comprimento de onda, conforme com a sensibilidade necessária para um  $\Delta A$  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", AACC Press, 4<sup>th</sup> 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