

Método

Colorimétrico - Verde de Bromocresol.

Finalidade

Sistema para a determinação quantitativa da albumina no soro por método reação de ponto final.

Somente para uso diagnóstico in vitro.

Princípio

A albumina presente na amostra confere a propriedade de se ligar a uma grande variedade de moléculas complexas de corantes e ânions orgânicos. O sistema de medição baseia-se na reação da albumina com o verde de bromocresol em meio ácido formando um complexo colorido, que é medido colorimetricamente entre 600 e 640 nm, sendo diretamente proporcional à concentração de albumina na amostra.

Significado Clínico

Sendo a mais importante proteína do plasma humano, a albumina tem sua produção no fígado e é frequentemente usada como parâmetro para avaliação do estado e função hepática.

A elevação da albumina sérica está relacionada à desidratação. Diminuições da albumina ocorrem nas cirroses e demais doenças hepáticas como alcoolismo crônico, na síndrome nefrótica, nas doenças inflamatórias como as doenças autoimunes, falência cardíaca.

Reagentes

Reagente nº 1 - Reagente de Cor - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tampão Fosfato (pH 3,6) 60 mmol/L; verde de bromocresol 0,1 mmol/L e Brij 35 > 6,0 mmol/L.

Reagente nº 2 - Padrão - Conservar entre 2 e 8°C. Manter bem vedado para evitar evaporação. Contém: Albumina 3,8 g/dL e azida sódica 0,1%.

Estabilidade, Condições de Armazenamento e Transporte

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo do produto, quando conservados na temperatura recomendada (2 a 8°C), bem vedados e se evitado de contaminação durante o uso. Antes de serem abertos, os reagentes podem ser transportados em temperatura que não exceda 30°C, até um limite de 120 horas. **Não congelar.**

Cuidados Especiais e Precauções

- As amostras a serem analisadas devem ser tratadas como material potencialmente infectante.
- Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- O Padrão (2) contém azida sódica que é tóxica e irritante para pele e mucosa.
- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em www.bioanalitica.com.br.
- Reagentes de lotes diferentes não devem ser misturados.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Não utilizar os reagentes quando se apresentarem turvos.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.
- Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.

Materiais Necessários e Não Fornecidos

- Analisador bioquímico automático, semiautomático ou espectrofotômetro;
- Pipetas de vidro e/ou automáticas;
- Ponteiros, estantes;
- Tubos de ensaio;
- Cronômetro.

Amostra

Usar soro. A albumina é estável por 3 dias armazenada entre 2 e 8°C e 7 dias a 10°C negativos, quando livres de contaminação.

Para descarte dos reagentes e materiais biológicos deve-se seguir as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Interferências e Limitações

Plasmas obtidos com heparina de lítio e oxalato de potássio associado com fluoreto de sódio fornecem resultados falsamente diminuídos. O valor da albumina tende a ser mais baixo em pacientes com depressão e em pessoas obesas.

O uso de torniquete por mais de 3 minutos provoca o aumento do valor da albumina.

Concentrações de triglicérides até 1216 mg/dL, hemoglobina até 655 mg/dL e ácido ascórbico até 20 mg/dL não produzem interferências significativas. Valores de bilirrubina maior 18,0 mg/dL produzem interferências significativas nas amostras.

Preparação dos Reagentes

Os reagentes estão prontos para uso.

Procedimento Técnico

Equipamentos Automáticos

Para uso em analisadores automáticos, verificar o protocolo de automação no site www.bioanalitica.com.br ou através do SAC.

Nota: Recomendamos o uso do Calibrador – Ref. BA052 para calibração. Para avaliar a precisão das dosagens, recomendamos o uso do Controle N – Ref. BA115 e Controle P – Ref. BA118.

Método de Ponto Final

Identificar 3 tubos de ensaio: B (Branco), T (Teste), P (Padrão) e proceder como a seguir:

	Branco	Teste	Padrão
Amostra	---	0,01 mL	---
Padrão (2)	---	---	0,01 mL
Reagente de Cor (1)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Homogeneizar bem e manter a reação por 2 minutos em temperatura ambiente. Ler a absorbância da Amostra e do Padrão em 630 nm (600 - 640 nm), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 10 minutos. Esta técnica é adequada para fotômetros cujo volume mínimo de solução para leitura é igual ou menor que 1,0 mL. Verificar a necessidade de ajuste do volume, e modificar proporcionalmente para não alterar os cálculos e o desempenho do teste. Volumes de amostra menores que 0,01 mL são críticos em aplicações manuais, pois aumentam a imprecisão da medição.

Cálculos

Albumina (g/dL) = (Absorbância do Teste ÷ Absorbância do Padrão) × Concentração do Padrão

Fator de Calibração = Concentração do Padrão ÷ Absorbância do Padrão

Exemplo com Padrão

Absorbância do Teste = 0,240

Absorbância do Padrão = 0,302

Concentração do Padrão = 3,8 g/dL

Albumina = (0,240 ÷ 0,302) × 3,8 = 3,02 g/dL

Exemplo com fator de Calibração

Fc = 3,8 ÷ 0,302 = 12,6

Albumina = 0,240 × 12,6 = 3,02 g/dL

Características do Desempenho

Comparação de Métodos

O método foi comparado com outro produto com metodologia semelhante através de 40 amostras de soro humano. Através de modelos estatísticos, os resultados foram analisados e resultaram na equação de regressão linear onde Método Bioanalítica (y) = 1,136 + 0,582 * Método comparativo (x) e coeficiente de correlação igual a 0,993.

Sensibilidade

Uma amostra proteica não contendo albumina, foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio. A média encontrada foi 0,0400 g/dL equivalente a 20 determinações, com desvio padrão de 0,0125 g/dL.

A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde à média mais 3 vezes o desvio padrão, que é igual a 0,0774 g/dL.

Linearidade

A reação é linear até 6,0 g/dL. Para amostras com valores acima de 6,0 g/dL, diluir a amostra com Cloreto de Sódio 150 mmol/L (0,85%), repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Repetitividade

A repetitividade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (g/dL)	2,23	4,32	7,46
Desvio Padrão (g/dL)	0,01	0,02	0,02
Coefficiente de Variação (%)	0,46	0,44	0,24

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 20 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (g/dL)	1,15	3,3	6,24
Desvio Padrão (g/dL)	0,04	0,05	0,11
Coefficiente de Variação (%)	3,32	1,46	1,81

Valores de Referência

Estes valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Sugere-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores para população atendida. Os resultados dos testes devem ser analisados por um profissional responsável.

Crianças e Adolescentes	1 – 30 dias	2,6 – 4,3 g/dL
	31 – 182 dias	2,8 – 4,6 g/dL
	183 – 365 dias	2,68 – 4,8 g/dL
	1 – 18 anos	2,9 – 4,7 g/dL
Adultos		3,5 – 5,5 g/dL

Para converter os valores de g/dL em $\mu\text{mol/L}$ (SI) multiplicar por 144,9.

Controle Interno da Qualidade

O laboratório clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, para assegurar que todos os procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente definidos. Ressaltamos que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica, que deve ser monitorada pelos laboratórios. Portanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens. Sugere-se utilizar soluções estabilizadas da linha de controles e calibradores da Bioanalítica.

Observações

- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes. A limpeza da vidraria deve ser feita com detergente neutro. O enxágue deve ser exaustivo sendo os últimos com água destilada ou deionizada.

• A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, a água deve ser do Tipo II, com resistividade > 1 megaohms/cm ou condutividade < 1 microsiemens/cm e concentração de silicatos < 0,1 mg/L. Para o enxágue inicial da vidraria, a água pode ser do Tipo III, com resistividade > 0,1 megahoms ou condutividade < 10 microsiemens.

No enxágue final, utilizar água do Tipo II. Coluna deionizadora com sua capacidade saturada libera água alcalina, vários íons e também substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando de maneira imprevisível os resultados. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

Referências Bibliográficas

- 1 – Bartholomew RJ, Delany AM. Proc Austral Assoc Clin Biochem 1966;1:214.
- 2 – Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Fundamento de Química Clínica, 4 Ed - Guanabara Koogan SA; 1998.
- 3 - Tonks, D. B., Quality Control in Clinical Laboratories, Wanner-Chilcott Laboratories, Diagnostic Reagents Division, Scarborough. Canadá, 1972. 1983.
- 4 – Peters T, Biamont GT, Doumas BT. Albumin in serum. Em Faulkner WR. Meites S, eds. Selected Methods of Clinical Chemistry, Volume 9, Washington: AACC Press, 1982:319.
- 5 - Bioanalítica: Dados internos de arquivo do P&D.

Termos e Condições de Garantia

A Bioanalítica Diagnóstica garante o desempenho e a qualidade deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que utilizados, armazenados e transportados nas condições adequadas.

Apresentação

Ref.	Volume	Reagente 1	Reagente 2
BA019-250	250 mL	1 x 250 mL	1 x 2 mL

Bioanalítica Diagnóstica S/A.

Rua Álvares da Silva, 12 - União
CEP: 31160-360 – Belo Horizonte MG - Brasil
Tel. +55 31 3657-0051
www.bioanalitica.com.br
E-mail: bioanalitica@bioanalitica.com.br
CNPJ: 20.264.948/0001-61 – Indústria Brasileira
SAC: 0800 006 8111
E-mail: sac@bioanalitica.com.br

Revisão: Outubro / 2022.