

Ref. BA334

MS 81666810006

Método

Colorimétrico – Biureto.

Finalidade

Sistema para a determinação quantitativa das Proteínas Totais no soro e líquidos sinovial, pleural e ascítico por reação de ponto final.

Somente para uso diagnóstico in vitro.

Princípio

As ligações peptídicas das proteínas (-HN-CO-) reagem com os íons de cobre, em meio alcalino, formando um complexo de coloração violeta cuja absorbância medida em 545 nm. A intensidade de cor formada é diretamente proporcional à concentração das proteínas na amostra.

Significado Clínico

Os glomérulos funcionam como ultra filtros das proteínas plasmáticas, por isso um excelente método para avaliação de enfermidades renais é a determinação de proteínas na urina. A concentração de proteína total do soro está aumentada em pacientes com desidratação, mieloma múltiplo, macroglobulinemia, crioglobulinemia, lúpus eritematoso, artrite reumatoide, sarcoidose, infecções crônicas, linfo granuloma e endocardite bacteriana subaguda.

Os valores de proteinúria podem também estar elevados nas hemorragias e nos estados febris. Valores aumentados na urina, mesmo em indivíduos saudáveis, podem apresentar após exercícios físicos vigorosos e na desidratação. Na nefropatia diabética ocorre proteinúria intensa com valores de 3 a 4 g/24 horas. Valores de proteína total estão diminuídos na hiper-hidratação, desnutrição grave, insuficiência renal, nefrose, queimaduras graves, síndrome de má absorção, deficiência de cálcio e de vitamina D.

Reagentes

Reagente nº 1 - Biureto - Conservar entre 15 e 30°C. Contém: Hidróxido de Sódio 200 mmol/L, Sulfato de Cobre 12 mmol/L.

Reagente nº 2 - Padrão - Conservar entre 15 e 30°C. Manter bem vedado para evitar evaporação. Contém: Albumina 4 g/dL, Azida Sódica 0,10 g/dL.

Estabilidade e Condições de Armazenamento

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo do produto e na embalagem externa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evitado a contaminação durante o uso. A temperatura de armazenamento deverá ser de 15 a 30°C.

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 Biureto (1) contém Hidróxido de Sódio que é corrosivo e irritante para pele e mucosa, podendo causar queimaduras. No caso de contato com os olhos lavar imediatamente com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.
- 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 ou pelo telefone 0800 006 8111.
- Reagentes de lotes diferentes não devem ser misturados.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.
- O tempo de reação, pipetagens e temperatura de trabalho são muito importantes para obtenção de resultados corretos.
- Usar pipetas de vidro e ponteiras 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;
- Ponteiras, estantes;
- Tubos de ensaio;
- Cronômetro.

Amostra

Soro, líquidos sinovial, pleural e ascítico. Amostras de soro e líquidos são estáveis 3 dias entre 2 e 8°C e 7 dias a 10°C negativos, quando livres de contaminação.

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

Interferências e Limitações

Concentrações de bilirrubina até 18,0 mg/dL, triglicérides até 1216 mg/dL e ácido ascórbico até 20 mg/dL não produzem interferências significativas. Valores de hemoglobina maior que 523 mg/dL produzem interferências significativas nas amostras.

Preparação dos Reagentes

Reagente líquido pronto para uso.

Procedimento Técnico

Equipamentos Automáticos

Para determinação em equipamento automático, verificar no site www.bioanalitica.com.br

Método de Ponto Final

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

	Branco	Teste	Padrão
Amostra	---	0,02 mL	---
Água Deionizada	0,02 mL	---	---
Padrão (2)	---	---	0,02 mL
Biureto (1)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Homogeneizar bem e colocar em repouso a temperatura ambiente por 10 minutos. Ler a absorbância do Teste e do Padrão em 545 nm (510 - 550 nm), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 30 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

$$\text{Proteínas Totais (g/dL)} = (\text{Absorbância do Teste} \div \text{Absorbância do Padrão}) \times \text{Concentração do Padrão}$$

$$\text{Fator de Calibração} = \text{Concentração do Padrão} \div \text{Absorbância do Padrão}$$

Exemplo com Padrão

$$\text{Absorbância do Teste} = 0,411$$

$$\text{Absorbância do Padrão} = 0,235$$

$$\text{Concentração do Padrão} = 4 \text{ g/dL}$$

$$\text{Proteínas Totais} = (0,411 \div 0,235) \times 4 = 6,99 \text{ g/dL}$$

Exemplo com Fator de Calibração

$$Fc = 4 \div 0,235 = 17,02$$

$$\text{Proteínas Totais} = 0,411 \times 17,02 = 6,99 \text{ g/dL}$$

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) = $-0,135 + 1,039 * \text{Método comparativo (x)}$ e coeficiente de correlação igual a 0,991.

Sensibilidade

Uma amostra proteica não contendo Proteínas Totais, foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio. A média encontrada foi 0,1100 g/dL equivalente a 20 determinações, com desvio padrão de 0,0126 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 0,1479 g/dL.

Linearidade

A reação é linear até 14 g/dL. Para amostras com valores acima de 14 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:

Ref. BA334

MS 81666810006

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (g/dL)	3,44	6,98	14,59
Desvio Padrão (g/dL)	0,03	0,02	0,07
Coeficiente de Variação (%)	2,71	0,25	0,46

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)	5,61	7,20	12,32
Desvio Padrão (g/dL)	0,15	0,31	0,16
Coeficiente de Variação (%)	2,60	4,25	1,33

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 - g/dL	
Prematuro	3,6 a 6,0
Recém-nascido	4,6 a 7,0
7 dias a 1 ano	4,4 a 7,6
1 a 2 anos	5,6 a 7,5
Acima de 3 anos	6 a 8

Adultos: 6,0 a 8,0 g/dL.

Unidades Convencionais (g/dL) x 10 = Unidades SI (g/L).

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 - Gornall AG, Bardawill CS, David MM. J Biol Chem 1949; 177:751.
- 2 - Kaplan A, Szabo LL, Opheim KE. Clinical Chemistry: Interpretation and Techniques, Philadelphia: Lea & Febiger 1988:145-166.
- 3 - Batsakis JG.; Arousohn RS.; Walker WA; Barnes B.; Amer J., Clin. Pathol, 1.976, 66,238.
- 4 - Slater L.; Carter PM.; Hobbs J R., Anal. Clin. Biochem., 1975, 12,333.
- 5 - Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin Chem 1981; 27:493-501.
- 7 - Weichselbaum TE. Am J Clin Path 1946; 10:49.
- 8 - Young, DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2, 5 ed. Washington DC: AACC Press, 2000.
- 9 - 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
BA334-250	250 mL	1 x 250 mL	1 x 3 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.