

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão PROTEÍNAS TOTAIS	Página 1 de 3 POP BIO xxx/xx
-------------------------------	--	---------------------------------

PROTEÍNAS TOTAIS

INDICAÇÃO MÉDICA DO EXAME

A determinação das proteínas totais em amostras de sangue e outros líquidos biológicos é útil para avaliar o estado nutricional e as alterações protéicas nas doenças.

PRINCÍPIO

Os íons cobre (Cu^{+2}) em meio alcalino (Reagente de Biureto) reagem com as ligações peptídicas das proteínas séricas formando cor púrpura, que tem absorvância máxima em 545 nm, proporcional à concentração das proteínas na amostra.

AMOSTRA

Preparo do paciente

Recomenda-se jejum mínimo de 8 horas.

Tipos de amostra

Usar soro e líquidos (pleural, sinovial e ascítico). A metodologia não é adequada para a dosagem das proteínas na urina e no líquido. Para estas amostras usar a metodologia proposta por Meulemans e Pennock ou utilizar o produto Sensiprot Labtest (Cat. 36).

Armazenamento e estabilidade da amostra

O analito é estável por 3 dias entre 2 - 8 °C e 7 dias a 10 °C negativos.

Volume mínimo

(Definir o volume mínimo a ser encaminhado para análise)

Volume ideal

(Definir o volume ideal a ser encaminhado para análise)

Critérios para rejeição da amostra

Presença de hemólise intensa ou expansores de plasma (Dextran[®], PVP[®] e Hemacel[®]) pois levam a resultados falsamente elevados.

Fazer referência ao manual ou POP de colheita, separação e distribuição de material.

PRODUTO UTILIZADO

Proteínas Totais, Catálogo 99 ANVISA - 10009010080
Labtest Diagnóstica
Av. Paulo Ferreira da Costa, 600
Lagoa Santa, MG, 33400-000

Reagentes

Reagente Biureto: Armazenar entre 15 - 30 °C.

Contém hidróxido de sódio 600 mmol/L, sulfato de cobre 12 mmol/L, estabilizador e antioxidante. Manusear com cuidado; reagente corrosivo. Não pipetar com a boca.

Padrão - 4,0 g/dL; Armazenar entre 15 - 30 °C. Após o manuseio, sugere-se armazenar bem vedado para evitar evaporação. Contém albumina bovina 4 g/dL e azida sódica 15,4 mmol/L.

Precauções e cuidados especiais

1. **Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente.** *Fazer referência ao manual ou POP de segurança.*
2. **Os reagentes não abertos, quando armazenados nas condições indicadas são estáveis até a data de expiração impressa no rótulo. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos à contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.** *O laboratório deve estabelecer a estabilidade em suas condições operacionais.*
3. **O padrão contém azida sódica, que é tóxica. Deve-se tomar cuidado para evitar a ingestão e, no caso de contato com os olhos, lavá-los imediatamente com grande quantidade de água e procurar auxílio médico. A azida pode formar compostos altamente explosivos com tubulações de chumbo e cobre. Utilizar grandes volumes de água para descartar o reagente.** *Fazer referência ao manual ou POP de segurança.*

EQUIPAMENTOS

Procedimento manual

1. Fotômetro capaz de medir com exatidão a absorvância em 545 nm (530 a 550 nm).
2. Pipetas para medir amostras e reagentes.
3. Cronômetro.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão PROTEÍNAS TOTAIS	Página 2 de 3 POP BIO xxx/xx
-------------------------------	--	---------------------------------

Procedimento automatizado

Indicar o nome, modelo e o local onde se encontra o equipamento analítico; fazer referência ao manual ou POP para utilização do mesmo.

Procedimento alternativo

Indicar o equipamento alternativo e os procedimentos para medição dos ensaios. Enumerar as diferenças esperadas quando procedimentos manuais substituem procedimentos automatizados.

CONTROLE DA QUALIDADE

Materiais

Identificar os materiais para controle interno e externo da qualidade (fabricante, número de catálogo), instruções de preparo e frequência da utilização dos mesmos.

Limites de tolerância

Descrever o procedimento para definição dos limites de tolerância, o sistema adotado para utilização do mapa de Levey-Jennings e das regras de controle e as providências a serem tomadas diante de valores que ultrapassem tais limites. Fazer referência ao manual ou POP para utilização dos materiais de controle.

Verificação de novo lote de controles e/ou reagentes

Descrever o procedimento de verificação de novos lotes de controles e de reagentes.

Gerenciamento dos dados

Definir como os dados relativos ao controle da qualidade são arquivados e gerenciados. Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

PROCEDIMENTO

Procedimento manual

- Tomar 3 tubos de ensaio e proceder como a seguir:

	Branco	Teste	Padrão
Amostra	----	0,02 mL	----
Padrão (nº 2)	----	----	0,02 mL
Água destilada ou deionizada	0,02 mL	----	----
Biureto de Uso	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

- Misturar e incubar a 37 °C durante 10 minutos.
- Determinar as absorbâncias do teste e do padrão em 545 nm (530 a 550 nm), acertando o zero com o branco. A cor é estável durante 1 hora.

Procedimento automatizado

Fazer referência ao manual ou POP para utilização do equipamento analítico. Anexar o guia de aplicação dos reagentes para o sistema automático.

Precauções e cuidados especiais

- Para manusear e descartar reagentes e material biológico, aplicar as normas estabelecidas de segurança.** Fazer referência ao manual ou POP de segurança.
- A limpeza e secagem adequadas do material são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.** Fazer referência ao manual ou POP de limpeza e verificação da qualidade da limpeza dos materiais.
- A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação.** Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade ≥ 1 megaohm ou condutividade ≤ 1 microsiemens e concentração de silicatos $< 0,1$ mg/L (água tipo II). Para o enxágüe da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágüe final utilizar água tipo II. Quando a coluna deionizadora está com sua capacidade saturada ocorre a produção de água alcalina com liberação de vários íons, silicatos e substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando os resultados de modo imprevisível. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água. Fazer referência ao manual ou POP de água reagente.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão PROTEÍNAS TOTAIS	Página 3 de 3 POP BIO xxx/xx
--	---	---

CÁLCULOS

Ver linearidade.

$$\text{Proteínas (g/dL)} = \frac{\text{Absorbância do teste}}{\text{Absorbância do padrão}} \times 4$$

Devido a grande reprodutibilidade que pode ser obtida com a metodologia, o método do fator pode ser empregado.

$$\text{Fator de calibração} = \frac{4}{\text{Absorbância do padrão}}$$

Proteínas (g/dL) = Absorbância do teste x Fator

RESULTADOS

Unidade de medida

g/dL

Valores de referência

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

Líquido sinovial: 1,0 a 3,0 g/dL.

Líquido pleural: concentração de proteína no soro/concentração de proteína no líquido < 0,5

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Linearidade

A reação é linear entre 1,0 e 14,0 g/dL. Para valores maiores diluir a amostra com NaCl 150 mmol/L e repetir a determinação. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição. Diluir a amostra de tal modo que o valor encontrado se situe entre 4,0 e 8,0 g/dL. *Indicar o procedimento de diluição utilizado no laboratório.*

Interferências

1- As concentrações de bilirrubina até 32 mg/dL, hemoglobina até 130 mg/dL e triglicérides até 500 mg/dL não produzem interferências significativas.

2- Concentrações de triglicérides entre 500 mg/dL e 1100 mg/dL produzem interferências positivas que podem ser minimizadas utilizando o Branco da Amostra ou fotometria de leitura bicromática com filtro primário em 545 nm e filtro secundário em 700 nm.

3- Concentrações de hemoglobina maiores que 130 mg/dL produzem interferências positivas que não podem ser minimizadas utilizando o Branco da Amostra.

4- Para avaliar a concentração aproximada da hemoglobina em uma amostra hemolisada pode-se proceder do seguinte modo: Diluir 0,05 mL da amostra em 2,0 mL de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e medir a absorbância em 405 ou 415 nm acertando o zero com água deionizada ou destilada.

Hemoglobina (mg/dL) \cong Absorbância₄₀₅ x 601

Hemoglobina (mg/dL) \cong Absorbância₄₁₅ x 467

5- Minimização da Ação de Interferentes - Branco da Amostra: Misturar 1,0 mL de NaCl 150 mmol/L (0,85%) com 0,02 mL da amostra. Medir a absorbância em 545 nm, acertando o zero com água destilada ou deionizada. Subtrair a absorbância assim obtida da absorbância do teste e calcular a concentração. Este sistema de correção só pode ser aplicado nos casos em que a amostra produz uma interferência fotométrica como ocorre nas amostras lipêmicas ou com concentração de bilirrubina maior que 32 mg/dL.

3- Para uma revisão das fontes fisiopatológicas e medicamentosas de interferência nos resultados e na metodologia, sugere-se consultar Clin Chem 1975;21:1D-432D.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A dosagem isolada da proteína total tem pouco valor, porque a alteração em uma das frações pode ser compensada por alteração oposta de outra fração, como ocorre nas doenças crônicas em que há diminuição de albumina com aumento de gamaglobulina. Ocorrência similar pode ser observada em respostas de fase aguda, tais como infecções ou traumas, ocasião em que muitas proteínas plasmáticas produzidas no fígado aumentam sua concentração, enquanto a albumina se reduz, mantendo a concentração protéica total praticamente inalterada.

As proteínas estão aumentadas em algumas neoplasias, especialmente em mieloma múltiplo; na macroglobulinemia; doenças autoimunes, como artrite reumatóide e lupus eritematoso sistêmico;

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão PROTEÍNAS TOTAIS	Página 4 de 3 POP BIO xxx/xx
--	---	---

doenças granulomatosas como a sarcoidose, leishmaniose visceral; endocardite bacteriana sub-aguda e linfogranuloma; em alguns casos de doença hepática crônica, como hepatite autoimune e na desidratação.

As proteínas estão diminuídas na gravidez; hiperhidratação, desnutrição grave, cirrose e outras doenças hepáticas, incluindo alcoolismo crônico; imobilização prolongada; insuficiência cardíaca; nefrose e insuficiência renal; hipertireoidismo; deficiência de cálcio e vitamina D e na síndrome de má absorção.

A dosagem de proteína no líquido sinovial tem sensibilidade de 52% e especificidade de 56% nas doenças inflamatórias. A determinação da concentração de proteínas no líquido pleural é de pouco valor, exceto quando combinada com outros parâmetros que permitam fazer a diferença entre exsudato e transudato. Em 15 a 20% dos indivíduos com hepatopatias acompanhadas de ascite, a concentração de proteína no líquido ascítico é superior a 2,5 g/dL. Nos pacientes com ascite de etiologia neoplásica, as concentrações de proteínas são menores que 2,5 g/dL.

REFERÊNCIAS

1. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2a. Edição, WB Saunders Company:Philadelphia, 1986, 695-700.
2. Faulkner WR, Meites S. Selected Methods for the Small Clinical Chemistry Laboratory, AACC:Washington,1982;9:317-320.
3. Henry RJ, Cannon DC, Winkelman JW. Clinical Chemistry, Principles and Technics, 2a. Edição. Harper & Row:New York, 1974,405-435.
4. Inmetro – Boas Praticas de Laboratório Clínico e Listas de Verificação para Avaliação, Qualitymark eds:Rio de Janeiro, 1997.
5. Meulemans O. Clin Chim Acta 1960;5:757.
6. Pennock CA., Passant LP, Bolton FG. J Clin Path 1968;21:518.
7. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin Chem 1981;27:493-501.
8. Labtest: Dados de Arquivo.

	Nome	Assinatura	Data
Elaborado por:			_/_/_
Aprovado por:			_/_/_
Implantado por:			_/_/_
Substitui POP:			
Revisado por:			_/_/_
Revisado por:			_/_/_
Revisado por:			_/_/_
Desativado por:			_/_/_
Razão:			

Número	Destino
Cópias	