

PROTEÍNAS TOTAIS MONOREAGENTE

REF K031

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Método para a determinação das Proteínas em amostras biológicas de soro, plasma (EDTA ou Heparina), líquidos pleural, sinovial e ascítico. Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Biureto

As ligações peptídicas das proteínas (-CONH-) reagem com os íons cúpricos, em meio alcalino, formando um complexo de coloração violeta que é proporcional ao teor das Proteínas no meio. A presença do Tartarato de Sódio e Potássio estabiliza o reagente e a concentração adequada de lodeto de Potássio previne a sua auto-redução.

REAGENTES

Número 1 - Biureto - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Hidróxido de Sódio < 500 mmol/L, Tartarato de Potássio e Sódio < 100 mmol/L, lodeto de Potássio < 20 mmol/L e Sulfato de Cobre < 200 mmol/L.
Número 2 - Padrão - Conservar entre 2 e 8°C. Agitar antes de usar. Contém: Albumina 4g/dL, estabilizante e conservante.

APRESENTAÇÃO

Apresentação	Reagente Nº 1	Reagente Nº 2
1	250 mL	2 mL
2	500 mL	2 mL
3	10 x 20 mL	2 mL
4	10 x 40 mL	2 mL
5	5 x 40 mL	2 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro ou colorímetro, relógio ou cronômetro, pipetas, tubos de ensaio, Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin. Encontram-se no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8°C. O transporte em temperaturas até 30°C não deverá exceder 5 dias. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- Somente para uso diagnóstico *in vitro*.**
- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.
- O Reagente Nº 1 é cáustico, manusear com cuidado. O Reagente Nº 2 contém Azida sódica, irritante para pele e mucosas.
- Determinar o fator periodicamente e a cada lote do produto.
- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

9- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.

10- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Soro e plasma (EDTA ou Heparina) obtido livre de hemólise e líquidos (pleural, sinovial e ascítico). O analito é estável por 07 dias entre 2 e 8°C e 60 dias a 10°C negativos^{8, 9}.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

A estabilidade de calibração do kit Proteínas Totais Monoreagente instalado em equipamento com refrigeração é de até 15 dias. Esta estabilidade pode variar de acordo com as condições do teste, do equipamento e do ambiente. Portanto, sugere-se acompanhar o desempenho do produto utilizando soros controles.

PREPARO DO REAGENTE

Os reagentes são pronto para uso.

TÉCNICA

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

Marcar 3 tubos de ensaio : B (Branco), A (Amostra), P (Padrão) e proceder como a seguir :

	Branco	Padrão	Amostra
Amostra	---	---	50 µL
Padrão	---	50 µL	---
Biureto	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL

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

CÁLCULOS

Proteínas Totais = $\frac{\text{Absorbância da Amostra}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 4$

Como a reação segue a Lei de Lambert-Beer, o Fator de Calibração pode ser usado.

Fator de calibração = $\frac{\text{Concentração do Padrão (4 g/dL)}}{\text{Absorbância do Padrão}}$

Proteínas Totais = Absorbância da Amostra x Fator de Calibração (g/dL)

Os resultados serão expressos em g/dL.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

O método descrito não é aplicado para a dosagem das Proteínas na urina e no líquido. Para estas amostras usar o kit Bioprot U/LCR Bioclin.

INTERFERENTES

Amostra hemolisada, icterícia, lipêmica ou medicamentos como: digitálicos, corticoesteróides, esteróides anabólicos interferem nas dosagens. Os estrogênios, laxativos e contraceptivos orais interferem, produzindo valores reduzidos das Proteínas. Para amostras com Bilirrubina acima de 40 mg/dL e Hemoglobina acima de 180 mg/dL fazer um Branco da Amostra da seguinte maneira: misturar 2,5 mL de NaCl 0,85% com 0,05 mL de amostra. Determinar a absorbância a 545 nm acertando o zero com água destilada ou deionizada. Diminuir a absorbância assim obtida da absorbância do teste e calcular a concentração.

Nenhuma interferência foi observada para Ácido Ascórbico até 60 mg/dL e Fator Reumatóide até 300 UI/mL.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

RASTREABILIDADE

O padrão do kit é rastreável ao material de referência SRM 927D do NIST (National Institute of Standards and Technology).

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência em g/dL, para o presente método, foram obtidos através da determinação de Proteínas Totais em populações saudias do sexo masculino e feminino.

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

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida. Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

DESEMPENHO DO PRODUTO

EXATIDÃO

Comparação de Métodos

O kit Proteínas Totais Monoreagente foi comparado com outro método para dosagem de proteínas totais comercialmente disponível. Foram realizadas 42 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi Y = 0,984X + 0,0315 e o coefiente de correlação 0,9978. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

PRECISÃO

Repetibilidade

A repetibilidade foi calculada a partir de 40 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

Repetibilidade	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (g/dL)	4,99	8,87	6,94
Desvio Padrão (g/dL)	0,04	0,03	0,02
Coefficiente de Variação (%)	0,75	0,39	0,24

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 40 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (g/dL)	4,95	8,84	6,74
Desvio Padrão (g/dL)	0,04	0,06	0,35
Coefficiente de Variação (%)	0,77	0,73	5,22

SENSIBILIDADE

A sensibilidade do kit Proteínas Totais foi calculado a partir de 40 determinações de uma amostra isenta da presença de Proteínas Totais. A média encontrada foi de 0,036 g/dL com desvio padrão de 0,002 g/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, e é igual a 0,043 g/dL.

LINEARIDADE

A reação é linear até 12 g/dL. Para valores maiores, diluir o soro com solução salina 0,85% e multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

Os níveis plasmáticos das Proteínas Totais sofrem variações de acordo com as alterações das suas várias frações. Sua concentração é influenciada pelo estado nutricional, hepático, renal e erros metabólicos.

Valores aumentados de Proteínas Totais podem ocorrer na desidratação, mieloma múltiplo, enfermidades do colágeno (lúpus eritematoso, artrite reumatóide), endocardite bacteriana subaguda.

A hipoproteinemia pode ocorrer nas seguintes condições clínicas: síndrome nefrótica, insuficiência hepática (cirrose, hepatite crônica, neoplasias), desnutrição grave, anemias graves, estados febris prolongados, infecções graves, hemorragia maciça.

A dosagem de Proteínas nos líquidos serosos (pleural e ascítico) é importante para se fazer a diferenciação entre transudatos (valor de Proteínas inferior a 50% da concentração no soro) e exudatos (valor de Proteínas superior a 50% da concentração no soro).

Os níveis de Proteínas no líquido sinovial são inferiores aos do sangue variando de 1,2 a 2,5 g/dL.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 - GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. J., Biol. Chem., 1977, 751.
2 - WEICHSELBAUM, T. E.; AMER,J., Clin. Pathol., 1946, 16,40.
3 - SLATER, L.; CARTER, P. M.; HOBBS, J. R., Ann. Clin. Biochem., 1975, 12,333.
4 - BATSAKIS, J. G.; AROUSOHN, R. S.; WALKER, W. A.; BARNES, B.; AMER, J., Clin. Pathol., 1.976, 66,238.
5 - HOEL. P. G., em Estatística Elementar, Ed. Fundo de Cultura S/A, 1969.
6 - TONKS, D. B., Clin. Chem., 1983, 9,217.
7 - CARL, A. B. and EDWARD, R. A., Tietz Textbook of Clinical Chem. 2nd ed, 1994, 695-697.
8 - WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
9 - QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.



QUIBASA QUIMICA BASICA Ltda.
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit de Proteínas Totais Monoreagente na ANVISA: 10269360116

Revisão: Maio/2024

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

	NÚMERO DE CATÁLOGO		FABRICADO POR
	NÚMERO DO LOTE		CONTROLE
	DATA DE FABRICAÇÃO		CONTROLE POSITIVO
	DATA DE VALIDADE (último dia do mês)		CONTROLE NEGATIVO
	LIMITE DE TEMPERATURA (conservar a)		RISCO BIOLÓGICO
	O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTE		INFLÂMÁVEL
	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		CORROSIVO
	PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DA LUZ E CALOR		NÃO UTILIZAR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA
	NÃO REUTILIZE		PRODUTO ESTERELIZADO
	CUIDADO		PERIGO

PROTEÍNAS TOTALES MONORREACTIVO

REF K031

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Método colorimétrico para la determinación de Proteínas en muestras biológicas de suero, plasma (EDTA o Heparina), líquidos pleural, sinovial y ascítico. Test colorimétrico, solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Biuret
Los enlaces peptídicos de las proteínas (-CONH-) reaccionan con iones cúpricos en medio alcalino, formando un complejo de color violeta que es proporcional al tenor proteico del medio. La presencia de Tartarato de Sodio y Potasio estabiliza el reactivo, y la concentración adecuada de Ioduro de Potasio previne la auto-reducción.

REACTIVOS

Número 1 - Biuret - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Hidróxido de Sódio < 500 mmol/L, Tartarato de Potássio y Sódio < 100 mmol/L, Iodeto de Potássio < 20 mmol/L y Sulfato de Cobre < 200 mmol/L.
Número 2 - Patrón - Almacenar entre 2 y 8°C. Agitar antes de usar. Contiene: Albumina 4g/dL, estabilizante y conservante.

PRESENTACIÓN

Presentación	Reactivo Nº 1	Reactivo Nº 2
1	250 mL	2 mL
2	500 mL	2 mL
3	10 x 20 mL	2 mL
4	10 x 40 mL	2 mL
5	5 x 40 mL	2 mL

EQUIPAMIENTO E INSUMOS OPERACIONALES

Espectrofotómetro o colorímetro, reloj o cronómetro, pipetas, tubos de ensayo, Biocontrol N y Biocontrol P Bioclin. Materiales encontrados en el mercado especializado de artículos para Laboratorios de Análisis Clínicos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento y transporte deberá ser de 2 a 8°C. El transporte, en temperaturas hasta 30°C no deberá exceder 5 días. Mantener al abrigo de la luz y evitar humedad. **No congelar.**

CAUIDADOS ESPECIALES

- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro*.**
- Seguir rigurosamente la metodología indicada para obtener resultados exactos.
- El agua empleada para la limpieza del material y en la preparación de reactivos debe ser de obtención reciente y exenta de agentes contaminantes.
- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos, agentes oxidantes y reductores que pueden alterar de forma significativa los resultados.
- El Reactivo Nº 1 es cáustico, manipular con cuidado. El Reactivo Nº 2 contiene azida sódica, irritante para piel y mucosas.
- Determinar periódicamente y con cada lote el factor de calibración.
- Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para la eliminación de reactivos y material biológico se hace de acuerdo con la legislación vigente.
- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando através del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.

- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.
- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Suero y plasma (EDTA o Heparina) obtenido libre de hemólisis y fluidos (pleural, sinovial y ascítico). El analito es estable durante 7 días entre 2 y 8°C y 60 días a 10°C negativos *, 9.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

La estabilidad de calibración del kit de Proteínas Totales Monorreactivo instalado en equipos refrigerados es de hasta 15 días. Esta estabilidad puede variar según las condiciones de la prueba, el equipo y el entorno. Por lo tanto, se sugiere seguir el rendimiento del producto utilizando sueros de control.

PREPARO DEL REACTIVO

Los reactivos son listos para uso.

TÉCNICA

La Bioclin recomienda, para uso del kit, utilizar como suero control los kits Biocontrol N y P Bioclin.

Marcar 3 tubos de ensayo: B (Blanco), P (Patrón) y M (Muestra) y proceder de la siguiente manera:

	Blanco	Patrón	Muestra
Muestra	---	---	50 µL
Patrón	---	50 µL	---
Biuret	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL

Homogenizar bien y dejar 10 minutos a temperatura ambiente. Leer la absorbancia de la Muestra y del Patrón a 545 nm (510 - 550 nm), ajustando el cero con el Blanco El color es estable durante 30 minutos.

CALCULOS

Proteínas Totales = $\frac{\text{Absorbancia de la Muestra} \times 4,0}{\text{Absorbancia del Patrón}}$ (g/dL)

Como la reacción sigue la Ley de Lambert-Beer, puede emplearse un Factor de Calibración:

Factor de Calibración = $\frac{\text{Concentración del Patrón (4 g/dL)}}{\text{Absorbancia del Patrón}}$

Proteínas Totales = Absorbancia de la Muestra x Factor de Calibración (g/dL)

Los resultados seran espresos en g/dL.

LIMITACIONES DEL PROCESO

El método no es aplicable para dosificación de Proteínas en orina o líquido cefalorraquídeo. Para estas muestras emplear el kit Bioprot U/LCR Bioclin.

INTERFERENTES

Muestras hemolizadas, ictericas, lipémicas y medicamentos como digitálicos, corticoides, esteroides anabólicos interfieren en las dosificaciones. Los estrógenos, laxantes, y anticonceptivos orales interfieren produciendo valores disminuidos de Proteínas. Para muestras con Bilirubina superiores a 40 mg/dL o Hemoglobina superior a 180 mg/dL, procesar un Blanco de Muestra de la siguiente manera: mezclar 2,5 mL de NaCl 0,85% con 0,05 mL de muestra. Determinar la absorbancia a 545 nm, ajustando el cero con agua destilada o deionizada. Restar este valor de la lectura del ensayo y usar esta diferencia en el cálculo de la concentración.

Ninguna interferencia fue observada para Ácido Ascórbico hasta 60 mg/dL y Factor Reumatoide hasta 300 UI/mL.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, que debe ser vigilada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten la evaluación, la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

TRAZABILIDAD

El patrón del kit es trazable al material de referencia SRM 927D del NIST (National Institute of Standards and Technology).

VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia para el presente método fueron obtenidos por determinaciones de Proteínas Totales efectuadas en poblaciones sanas de individuos masculinos y femeninos.

Niños y Adolescentes	
Prematuro	3,6 - 6,0 g/dL
Recién nacido	4,6 - 7,0 g/dL
7 días - 1 año	4,4 - 7,6 g/dL
1 - 2 años	5,6 - 7,5 g/dL
Más de 3 años	6,0 - 8,0 g/dL
Adultos	
6,0 - 8,0 g/dL	

Estes valores deben ser tomados como orientativos, debiendo cada laboratorio determinar su rango de valores de referencia, de acuerdo a la población atendida. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, no siendo el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

EXACTITUD

Comparación de Metodos

El kit Proteínas Totales Monorreactivo fue comparado con otro método para dosificación de proteínas totales comercialmente disponible. Fueron realizadas 42 análisis y los resultados fueron evaluados. La ecuación lineal obtenida fue Y = 0,984X + 0,0315 y el coeficiente de correlación 0,9978. Con estos resultados se puede concluir que el Kit presenta buena especificidad meotodológica.

PRECISIÓN

Repetibilidad

La repetibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

Repetibilidad	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Promedio (g/dL)	4,99	8,87	6,94
Desvío Patrón (g/dL)	0,04	0,03	0,02
Coefficiente de Variación (%)	0,75	0,39	0,24

Reproductibilidad

La reproductibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

Reproductibilidad	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Promedio (g/dL)	4,95	8,84	6,74
Desvío Patrón (g/dL)	0,04	0,06	0,35
Coefficiente de Variación (%)	0,77	0,73	5,22

SENSIBILIDAD

La sensibilidad del kit Proteínas Totales fue calculada a partir de 40 determinaciones de uma muestra exenta de la presencia del Proteínas Totales. El promedio encontrado fue 0,036 g/dL, con desvío patrón de 0,002 g/dL. La sensibilidad, que indica el límite de detección del método, corresponde al promedio más 3 veces el desvío patrón, siendo igual a 0,043 g/dL.

LINEARIDAD

La reacción es lineal hasta una concentración de 12,0 g/dL. Para valores mayores diluir el suero con solución salina 0,85%, repetir la dosificación y multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

Los niveles plasmáticos de Proteínas Totales sufren variaciones de acuerdo a las alteraciones de sus fracciones. Su concentración es influenciada por el estado nutricional, hepático, renal y por errores metabólicos.

Valores aumentados de Proteínas Totales pueden aparecer en deshidratación, mieloma múltiple, enfermedades del colágeno (lupus eritematoso, artritis reumatoidea) y endocarditis bacteriana subaguda.

Valores disminuidos pueden observarse en las siguientes condiciones clínicas: síndrome nefrótico, insuficiencia hepática (cirrosis, hepatitis crónica, neoplasia), desnutrición grave, anemias graves, estados febriles prolongados, infecciones graves y hemorragias masivas.

El dosaje de Proteínas Totales en otros líquidos (pleural, ascítico) es importante para la diferenciación entre transudados (valor de proteínas inferior al 50% de la concentración en suero) de exudados (valor de Proteínas superior al 50% de la concentración en suero).

Los niveles de Proteínas del líquido sinovial son inferiores a los de la sangre variando de 1,2 a 2,5 g/dL.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1- GORNALL, A.G.; BARDAWILL,C.J., DAVID M.M.J., Biol. Chem. 1977, 751.
2- WEISCHELBAUM, T.E., Amer. J. Clin. Pathol., 1946, 16, 40.
3- SLATER, L.; CARTER, P.M., HOBBS, J.R.; Ann. Clin.Biochem. 1975, 12, 333.
4- BATSAKIS, J.G., AROUSOHN, R.S., WALKER, W.A., BARNES, B., Amer. J. Clin. Pathol. 1976, 66, 238.
5- HOEL, P.G., en Estadística Elemental, Ed. Fundo de Cultura S.A.
6- TONKS, D.B.; Clin.Chem., 1963, 9-217.
7- CARL, A.B. and EDWARD R.A.: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. 1994, 695-697.
8 - WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
9 - QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberados al consumo, todos los reactivos **Bioclin** son ensayados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos está asegurada hasta la fecha de vencimiento que se indica en la caja, preveyendo que las condiciones de almacenamiento y transporte sean las adecuadas.



QUIBASA QUIMICA BASICA Ltda.

Rua Teles de Menezes, 92 – Santa Branca
CEP 31565-130 – Belo Horizonte – MG – Brasil
Tel.: +55 31 3439-5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ 19.400.787/0001-07 – Indústria Brasileira

ATENDIMIENTO AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente
Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro del kit de Proteínas Totales Monorreactivo en la ANVISA: 10269360116

Revisión: Mayo/2024

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NUMERO DE CATALOGO		FABRICADO POR
	NUMERO DE LOTE		CONTROLAR
	FECHA DE FABRICACIÓN		CONTROL POSITIVO
	FECHA DE VALIDEZ (último día del mes)		CONTROL NEGATIVO
	LÍMITE DE TEMPERATURA (tienda)		RIESGO BIOLÓGICO
	EL CONTENIDO ES SUFICIENTE PARA <N> PRUEBA		INFLAMABLE
	VER INSTRUCCIONES DE USO		CORROSIVO
	PRODUCTO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DE LUZ Y CALOR		NO UTILICE SI EL EMBALAJE ESTA DAÑADA
	NO REUTILIZA		PRODUCTO ESTERILIZADO
	PRECAUCIÓN		PELIGRO

TOTAL PROTEIN MONOREAGENT

REF K031

INSTRUCTIONS FOR USE

FUNCTION

Method for determination of Total in biological serum, plasma (EDTA or Heparin), pleural, synovial and ascitic fluids samples. Colorimetric test. For *in vitro* diagnostic only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Biuret

The peptidic bindings of the protein (-CONH-) reacts with the cupric ions, in an alkaline environment, forming a violet colored complex proportional to the protein content in the environment. The Sodium Tartrate and Potassium Iodate establishes the reagent and the appropriate concentration of Potassium Iodate prevines its self-reduction.

REAGENTS

Number 1 - Biuret - Store between 2 and 8°C. Contains: Sodium Hydroxide < 500 mmol/L, Sodium and Potassium Tartrate < 100 mmol/L, Potassium Iodate < 20 mmol/L and Cooper Sulphate < 200 mmol/L.

Number 2 - Standard - Store between 2 and 8°C. Shake before use. Contains: Albumin 4g/dL, stabilizer and preservative.

PRESENTATION

Presentation	Reagent N° 1	Reagent N° 2
1	250 mL	2 mL
2	500 mL	2 mL
3	10 x 20 mL	2 mL
4	10 x 40 mL	2 mL
5	5 x 40 mL	2 mL

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Spectrophotometers or colorimeter, watch and stopwatch, pipettes and test tubes, Biocontrol N and Biocontrol P Bioclin. They can be found at markets specialized in clinical analysis laboratories.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature shall be between 2 and 8°C. The transport at temperatures up to 30°C should not exceed 5 days. Protect from light and avoid moisture. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

1- For *in vitro* diagnostic use only.

- 2-** Strictly follow the methodology proposed to obtain exact results.
- 3-** Water used in material cleaning must to be recent and free of contaminants.
- 4-** Saturated deionizer columns release alkaline water, many ions, oxidizing agents and reducers that may alter the results significantly.
- 5-** Reagent N° 2 is caustic, handle carefully. Reagent N° 1 contains sodium azide, irritating to skin and mucous membrane.
- 6-** Determine the factor periodically and in each product batch.
- 7-** We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.
- 8-** To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Material Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Advisory Service Customer) of Quibasa.

9- Do not use the product in case of damaged packaging.

10- It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLES

Serum and plasma (EDTA or Heparin) obtained free of hemolysis and fluids (pleural, synovial and ascitic). The analyte is stable for 7 days between 2 and 8°C and 60 days at negative 10°C°, 9.

PROCESS DESCRIPTION

The calibration stability of the Total Protein Monoreagent kit installed on refrigerated equipment is up to 15 days. This stability may vary depending on the conditions of the test, equipment and environment. Therefore, it is suggested to follow the product performance using control serum.

REAGENT PREPARATION

The reagents are ready for use.

TECHNIQUE

Bioclin recommends, as control serum, Biocontrol N and P Bioclin Kits.

Mark 3 test tubes: B (Blank), P (standard), A (Sample) and proceed as follows:

	Blank	Standard	Sample
Sample	---	---	50 µL
Standard	---	50 µL	---
Biuret	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL

Homogenize well and let it rest for 10 minutes. Read the sample and standard absorbances at 545 nm (510 - 550 nm), matching the zero with the blank. The color is stable for 30 minutes.

CALCULATIONS

Total Protein = $\frac{\text{Sample absorbance}}{\text{Standard Absorbance}} \times 4$ (g/dL)

As the reaction follows the Lambert-Beer law, the Calibration Factor can be used.

Calibration factor = $\frac{\text{Standard Concentration}}{\text{Standard Absorbance}}$ (4 g/dL)

Total Protein = Sample Absorbance x Calibration Factor (g/dL)

The results are express in g/dL

PROCEDURE LIMITATIONS

The described method is not applied to the Protein dosage in urine and liquor. For this samples use the Bioclin Bioprot U/LCR kit.

INTERFERENCES

The hemolized sample, jaundice, lipemic or medicine such as: digitalytics, corticosteroids, anabolic steroids interfere in the dosages. The estrogen, laxatives and oral contraceptives interfere, producing reduced values of the proteins.

For samples with bilirubin above 40 mg/dL and Hemoglobin above 180 mg/dL make the Blank of the Sample as follows: mixture 2.5 mL of NaCl 0.85% with 0.05 mL of sample. Determine the absorbance at 545 nm matching the zero with distilled or deionized water. Reduce the absorbance obtained from the absorbance test and calculate the concentration.

No interference was observed by Ascorbic Acid until 60 mg/dL and Rheumatoid Factor until 300 U/mL.

INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control, where all procedures, rules, limits and tolerance to variations be clearly established. It is important to mention that all measurement systems present a analytical variety, and it must be monitor by the laboratory. Therefore, it is recommendable the use of controls, allowing the precision and accuracy of the dosages.

TRACEABILITY

The kit's standard is traceable to the reference material NIST (National Institute of Standards and Technology) SRM 927D.

REFERENCE VALUES

The reference values in g/dL, for this method were obtained through the determination of the Total Protein in healthy populations of male and female.

Children and Teenagers	
Premature	3.6 - 6.0 g/dL
Newborn	4.6 - 7.0 g/dL
7 days - 1 year	4.4 - 7.6 g/dL
1 - 2 years	5.6 - 7.5 g/dL
Over 3 years	6.0 - 8.0 g/dL
Adults	
6.0 - 8.0 g/dL	

These values should be used as guidelines, each laboratory should establish its range of reference values, according to the population served.

The results provided by this kit must be interpreted by the medical professional responsible, not being the only criterion for the determination of diagnosis and/or treatment of the patient.

PRODUCT PERFORMANCE

ACCURACY

Comparison of Methods

The Total Protein Monoreagent kit was compared wit other method for total protein dosage, commercially available. 42 analyses were performed and the results were evaluated. The linear equation obtained was Y = 0.984X + 0.0315 and the correlation coefficient 0.9978. With these results we can conclude that the kit shows good methodological specificity.

PRECISION

Repeatability

The repeatability was calculated from 40 successive determinations, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

Repeatability	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Average Concentration (g/dL)	4.99	8.87	6.94
Standard Deviation (g/dL)	0.04	0.03	0.02
Coefficient of Variation (%)	0.75	0.39	0.24

Reproducibility

The reproducibility was calculated from 40 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

Reproducibility	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Average Concentration (g/dL)	4.95	8.84	6.74
Standard Deviation (g/dL)	0.04	0.06	0.35
Coefficient of Variation (%)	0.77	0.73	5.22

Sensitivity

The sensitivity was calculated from 40 determinations of a sample free of Total Protein. The average found was 0.036 g/dL with a standard deviation of 0.002 g/dL. The sensitivity, that indicates the method detection limit, corresponds to the average plus 3 times the standard deviation, and is equal to 0.043 g/dL.

Linearity

The reaction is linear up to 12 g/dL. For higher values dilute the serum with saline 0.85%, repeat the dosage and multiply the result obtained per the dilution factor.

Diagnostic Significance

The plasmatic levels of the Total Proteins suffer variation according to the changes of its various fractions. Its concentration is influenced by the nutritional state, hepatic, kidney and metabolic errors.

Increased values of the Total Protein can occur in dehydration, multiple myeloma, collagen diseases (erythematous lupus, rheumatoid arthritis), bacterial sub-acute endocarditis.

The hypoproteinemia can happen in the following clinical conditions: nephrotic syndrome, hepatic insufficiency (cirrhosis, chronicle hepatitis, neoplasia), severe innutrition, severe anemia, extended fever state, fever infections, massive bleeding.

The Proteins in serum liquids (pleural and ascitic) is important to difference between transudates (Protein values below 50% of serum concentration) and exudates (Protein values superior to 50% of serum concentration).

The Protein levels in sensorial liquids are inferior to the blood varying from 1.2 a 2.5 g/dL.

Bibliographic References

1 - GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. J., Biol. Chem., 1977, 751.
2 - WEICHSELBAUM, T. E.; AMER,J., Clin. Pathol., 1946, 16,40.
3 - SLATER, L.; CARTER, P. M.; HOBBS, J. R., Ann. Clin. Biochem., 1975, 12,333.
4 - BATSAKIS, J. G.; AROUSOHN, R. S.; WALKER, W. A.; BARNES, B.; AMER, J., Clin. Pathol., 1.976, 66,238.
5 - HOEL. P. G., em Estatística Elementar, Ed. Fundo de Cultura S/A, 1969.
6 - TONKS, D. B., Clin. Chem., 1983, 9,217.
7 - CARL, A. B. and EDWARD, R. A., Tietz Textbook of Clinical Chem. 2nd ed, 1994, 695-697.
8 - WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
9 - QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Department of Quality Control. The quality of reagents is assured until expiration date stated on the presentation packaging, when stored and transported under appropriate conditions.



QUIBASA QUIMICA BASICA Ltda.

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Phone: +55 31 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service
Phone.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for Total Protein Monoreagent kit:
10269360116

Review: May/2024

UNIVERSAL SYMBOLOGY

CATALOG NUMBER

LOT NUMBER

MANUFACTURING DATE

VALIDITY DATE
(last day of the month)

TEMPERATURE LIMIT
(store)

CONTENT IS SUFFICIENT
FOR <N> TEST

SEE INSTRUCTIONS
FOR USE

IN VITRO DIAGNOSTIC
PRODUCT

KEEP AWAY
FROM SUNLIGHT

DO NOT REUSE

CAUTION

MADE BY

CONTROL

POSITIVE CONTROL

NEGATIVE CONTROL

BIOLOGICAL RISK

FLAMMABLE

CORROSIVE

TOXIC

DO NOT USE IF
PACKAGE IS
DAMAGED

PRODUCT
STERILIZED

DANGER