



Bioclin

PROTEÍNAS TOTAIS MONOREAGENTE

REF K031

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Método para a determinação das Proteínas Totais. 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 Iodeto de Potássio previne a sua auto-redução.

REAGENTES

Número 1 - Biureto - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Hidróxido de Sódio 0,2 mol/L, Tartarato de Potássio e Sódio 32 mmol/L, Iodeto de Potássio 6 mmol/L, Sulfato de Cobre 12 mmol/L.

Numero 2 - Padrão - Conservar entre 2 e 8°C. Agitar antes de usar. Contém: Albumina 4g/dL, estabilizador e Azida Sódica 15,38 mmol/L.

APRESENTAÇÃO

| Apresentação | Reagente Nº 1 | Reagente Nº 2 |
|--------------|---------------|---------------|
| 1 | 250 mL | 2 mL |
| 2 | 500 mL | 2 mL |
| 3 | 5 x 40 mL | 2 mL |
| 4 | 10 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 entre 15 e 30°C não deverá exceder a 72 (setenta e duas) horas. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.**
- 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.
- Não usar plasma.
- 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.

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

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

AMOSTRAS

Soro 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.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

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 (g/dL) = $\frac{\text{Absorbância da Amostra}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 4$

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

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

g/dL = Absorbância da Amostra x Fator de Calibração

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, icterica, 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.

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 sadias 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

CONTROLE DE QUALIDADE

Exatidão

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA

O kit Proteínas Totais Monoreagente foi comparado com outro método para do-sagem de proteínas totais comercialmente disponível. Foram realizadas 07 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi $Y = 0,970X + 0,246$ e o coeficiente de correlação 0,995. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão**REPETIBILIDADE**

A repetibilidade 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) | 5,49 | 6,69 | 8,41 |
| Desvio padrão (g/dL) | 0,07 | 0,09 | 0,08 |
| Coefficiente de Variação (%) | 1,36 | 1,27 | 0,90 |

REPRODUTIBILIDADE

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

| | Amostra 1 | Amostra 2 | Amostra 3 |
|-------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Concentração Média (g/dL) | 5,50 | 6,71 | 8,40 |
| Desvio padrão (g/dL) | 0,01 | 0,02 | 0,01 |
| Coefficiente de Variação (%) | 0,18 | 0,23 | 0,12 |

Sensibilidade

A sensibilidade do kit Proteínas Totais foi calculado a partir de 20 determinações de uma amostra isenta da presença de proteínas totais. A média encontrada foi de 0,022 g/dL com desvio padrão de 0,007 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.

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 - Fax: (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

EC REP **OBELIS S.A.**

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium










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: Setembro/2013

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> TESTES |  | INFLÁMVEL |
|  | CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO |  | CORROSIVO |
|  | PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO |  | TÓXICO |
|  | REPRESENTANTE EUROPEU AUTORIZADO |  | MARCA CE |
|  | PROTEGER DA LUZ E CALOR |  | NÃO UTILIZAR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA |



Bioclin

PROTEÍNAS TOTALES MONORREACTIVO

REF K031

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Método colorimétrico para la determinación de Proteínas Totales.
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 previene la auto-reducción.

REACTIVOS

Número 1 - Biureto - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Hidróxido de Sodio 0,2 mol/L, Tartarato de Potasio y Sodio 32 mmol/L, Iodeto de Potasio 6 mmol/L, Sulfato de Cobre 12 mmol/L.

Número 2 - Patrón - Almacenar entre 2 y 8°C. Agitar antes de usar. Contiene: Albumina 4g/dL, estabilizador y Azida Sódica 15,38 mmol/L.

PRESENTACIÓN

| Presentación | Reactivo Nº 1 | Reactivo Nº 2 |
|--------------|---------------|---------------|
| 1 | 250 mL | 2 mL |
| 2 | 500 mL | 2 mL |
| 3 | 5 x 40 mL | 2 mL |
| 4 | 10 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 entre 15 y 30°C no deberá exceder a 72 (setenta y dos) horas. Mantener al abrigo de la luz y evitar humedad. **No congelar.**

CAUIDADOS ESPECIALES

1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.

2- Seguir rigurosamente la metodología indicada para obtener resultados exactos.

3- El agua empleada para la limpieza del material y en la preparación de reactivos debe ser de obtención reciente y exenta de agentes contaminantes.

4- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos, agentes oxidantes y reductores que pueden alterar de forma significativa los resultados.

5- El Reactivo Nº 1 es cáustico, manipular con cuidado. El Reactivo Nº 2 contiene azida sódica, irritante para piel y mucosas.

6- No usar plasma.

7- Determinar periódicamente y con cada lote el factor de calibración.

8- 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.

9- 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 a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.

10- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.

11- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Suero libre de hemólisis y líquidos (pleural, sinovial, ascítico). El análisis es estable en suero por 7 días a temperaturas entre 2 y 8°C o 60 días a, -10°C.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

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

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

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

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

Los resultados seran espesos 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, producen interferencias en las Proteínas Totales. Los estrógenos,

laxantes, y anticonceptivos orales interfieren produciendo valores disminuidos de Proteínas.

Para muestras con Bilirrubina 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.

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 |

Estos 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

CONTROL DE CALIDAD

Exactitud

COMPARACIÓN DE METODOS Y ESPECIFICIDAD METODOLÓGICA

El kit Proteínas Totales Monorreactivo fue comparado con otro método para dosificación de proteínas totales comercialmente disponible. Fueron realizadas 07 análisis y los resultados fueron evaluados. La ecuación lineal obtenida fue $Y = 0,970X + 0,246$ y el coeficiente de correlación 0,995. Con estos resultados se puede concluir que el Kit presenta buena especificidad metodológica.

Precisión**REPETIBILIDAD**

La repetibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

| | Muestra 1 | Muestra 2 | Muestra 3 |
|--------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Concentración Promedio (g/dL) | 5,49 | 6,69 | 8,41 |
| Desvío Patrón (g/dL) | 0,07 | 0,09 | 0,08 |
| Coefficiente de variación (%) | 1,36 | 1,27 | 0,90 |

REPRODUCTIBILIDAD

La reproductibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

| | Muestra 1 | Muestra 2 | Muestra 3 |
|--------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Concentración Promedio (g/dL) | 5,50 | 6,71 | 8,40 |
| Desvío Patrón (g/dL) | 0,01 | 0,02 | 0,01 |
| Coefficiente de Variación (%) | 0,18 | 0,23 | 0,12 |

Sensibilidad

La sensibilidad del kit Proteínas Totales fue calculada a partir de 20 determinaciones de una muestra exenta de la presencia de proteínas totales. El promedio encontrado fue 0,022 g/dL, con desvío patrón de 0,007 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.

Linealidad

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.

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 – Fax: +55 (31) 3439-5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ 19.400.787/0001-07 – Indústria Brasileira

**OBELIS S.A.**

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

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: Septiembre/2013

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

NÚMERO DEL CATÁLOGO



ELABORADO POR



NÚMERO DE LOTE



CONTROL



FECHA DE FABRICACIÓN



CONTROL POSITIVO

ESTABLE HASTA
(último día del mes)

CONTROL NEGATIVO

TEMPERATURA LIMITE
(conservar a)

RIESGO BIOLÓGICO

CONTENIDO SUFICIENTE
PARA <N> TESTES

INFLAMABLE

CONSULTAR INSTRUCCIONES
DE USO

CORROSIVO

DISPOSITIVO DE
DIAGNÓSTICO IN VITRO

TÓXICO

EUROPEA REPRESENTANTE
AUTORIZADO

MARCADO CE

PROTEGER DEL
LUZ Y CALORNO UTILICE SI EL
EMBALAJE ESTA
DAÑADA



TOTAL PROTEIN MONOREAGENT

REF K031

USAGE INSTRUCTIONS

FUNCTION

Method for determination of total protein. 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 stabilizes the reagent and the appropriate concentration of Potassium Iodate prevents its self-reduction.

REAGENTS

Number 1 - Biuret - Store between 2 and 8°C. Contains: Sodium Hydroxide 0,2 mol/L, Sodium and Potassium Tartrate 32 mmol/L, Potassium Iodate 6 mmol/L, Cooper Sulphate 12 mmol/L.

Number 2 - Standard - Store between 2 and 8°C. Contains: Albumin 4g/dL, stabilizer and Sodium Azide 15,38 mmol/L.

PRESENTATION

| Presentation | Reagent N° 1 | Reagent N° 2 |
|--------------|--------------|--------------|
| 1 | 250 mL | 2 mL |
| 2 | 500 mL | 2 mL |
| 3 | 5 x 40 mL | 2 mL |
| 4 | 10 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 between 15 and 30°C should not exceed 72 (seventy two) hours. Protect from light and avoid moisture. **Do not Freeze.**

SPECIAL CARE

- 1- For professional *in vitro* diagnostic use only.
- 2- Strictly follow the methodology proposed to obtain exact results.
- 3- Water used in material cleaning must 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- Do not use plasma.
- 7- Determine the factor periodically and in each product batch.
- 8- 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.
- 9- 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.

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

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

SAMPLES

Serum obtained free of hemolysis and liquids (pleural, synovial and ascitic). The analytical is stable for 07 days between 2 and 8°C and 60 days at -10°C.

PROCESS DESCRIPTION

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

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

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

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

$$\text{g/dL} = \text{Sample Absorbance} \times \text{Calibration Factor}$$

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 hemolyzed 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.

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

QUALITY CONTROL

Accuracy

METHOD COMPARISON AND METHODOLOGICAL SPECIFICITY

The Total Protein Monoreagent kit was compared with other method for total protein dosage, commercially available. 07 analyses were performed and the results were evaluated. The linear equation obtained was $Y = 0,970X + 0,246$ and the correlation coefficient 0,995. With these results we can conclude that the kit shows good methodological specificity.

Precision

REPEATABILITY

The repeatability was calculated from 20 successive determinations, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

| | Sample 1 | Sample 2 | Sample 3 |
|-------------------------------------|----------|----------|----------|
| Average Concentration (g/dL) | 5,49 | 6,69 | 8,41 |
| Standard Deviation (g/dL) | 0,07 | 0,09 | 0,08 |
| Coefficient of Variation (%) | 1,36 | 1,27 | 0,90 |

REPRODUCIBILITY

The reproducibility was calculated from 20 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

| | Sample 1 | Sample 2 | Sample 3 |
|-------------------------------------|----------|----------|----------|
| Average Concentration (g/dL) | 5,50 | 6,71 | 8,40 |
| Standard Deviation (g/dL) | 0,01 | 0,02 | 0,01 |
| Coefficient of Variation (%) | 0,18 | 0,23 | 0,12 |

Sensitivity

The sensitivity was calculated from 20 determinations of a sample free of total protein. The average found was 0,022 g/dL with a standard deviation of 0,007 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, chronic 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 - WEICHELBAUM, 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.

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 - Fax: +55 (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil



OBELIS S.A.

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

CUSTOMER SERVICE

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

ANVISA registration for Total Protein Monoreagent kit:
10269360116

Review: September/2013

UNIVERSAL SYMBOLOGY

| | | | |
|--|---------------------------------------|--|--|
| | CATALOG NUMBER | | MANUFACTURED BY |
| | BATCH CODE | | CONTROL |
| | DATE OF MANUFACTURE | | POSITIVE CONTROL |
| | USED BY (last day of month) | | NEGATIVE CONTROL |
| | TEMPERATURE LIMITATION (store at) | | BIOLOGICAL RISK |
| | CONTAINS SUFFICIENT FOR <N> TESTS | | INFLAMMABLE |
| | CONSULT INSTRUCTIONS FOR USE | | CORROSIVE |
| | IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE | | POISON |
| | EUROPEAN AUTHORIZED REPRESENTATIVE | | CE MARK |
| | KEEP AWAY FROM SUNLIGHT | | DO NOT USE IF PACKAGE IS DAMAGED |