

FINALIDADE

Sistema colorimétrico para quantificação da albumina no soro e outros líquidos biológicos.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO

Solução de verde bromocresol tamponada em pH 4 reage especificamente com albumina, formando um complexo corado de cor verde. A intensidade da cor é proporcional ao teor de albumina sérica.

PARTICULARIDADES DO SISTEMA

O verde de bromocresol reage especificamente com albumina, fazendo-se a leitura em **630nm**. Nesse comprimento de onda não há interferência de bilirrubina ou hemoglobina em concentrações moderadas. Alta concentração do verde bromocresol e presença de tween 80, tornam o reagente estável à temperatura ambiente. Devido a sua alta sensibilidade, utiliza-se apenas 20µL de soro num volume final de 5mL.

METODOLOGIA

Verde bromocresol.

REAGENTES

Reagente de cor concentrado: solução 2,5mmol de Verde Bromocresol em solução 0,82M de Ácido Láctico tamponado pH 4. Contém ainda 30mL de Tween 80 por litro.

Solução padrão 4g/dL: solução de albumina bovina estabilizada com azida sódica 1:1000.

APRESENTAÇÃO

NOVAS APRESENTAÇÕES!

Albumina Ref. 250

Reagente de cor concentrado 1 x 25mL
Solução padrão 4g/dL 1 x 4 mL

Albumina Ref. 500

Reagente de cor concentrado 2 x 25mL
Solução padrão 4g/dL 1 x 4 mL

NÚMERO DE TESTES

Albumina Ref. 250

Manual 50 testes / 20µL de soro
100 testes / 10µL de soro
Automático (*) 800 testes

Albumina Ref. 500

Manual 100 testes / 20µL de soro
200 testes / 10µL de soro
Automático (*) 1600 testes

(*) A quantidade de testes na automação é variável de acordo com o equipamento.

Protocolos de automação encontram-se disponíveis no site Doles ou através do Serviço de Atendimento ao Consumidor.

EQUIPAMENTOS E MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro capaz de medir a absorvância em **630 nm** ou **filtro vermelho**.
- Tubos de ensaio.
- Pipetas graduadas.

- Pipeta semiautomática de 20µL.
- Frasco de vidro, cor âmbar, com capacidade volumétrica de 250mL.
- Cronômetro.
- Água destilada ou deionizada.
- Balão volumétrico de 250mL.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Reagente de cor concentrado: armazenar à temperatura de 2-30°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco.

Reagente de cor de uso: após o preparo da solução de uso, a mesma permanece estável por 18 meses, se mantida entre 2-8°C.

Solução padrão 4g/dL: armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco.

CUIDADOS E PRECAUÇÕES COM O USO DOS REAGENTES

Todos os reagentes são somente para **uso diagnóstico *in vitro***. A solução de verde bromocresol é irritante. Seu manuseio deve ser cuidadoso, evitando-se contato com pele e mucosas. Em casos de contaminação acidental, lavar a parte afetada em água corrente. O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se aos critérios de biossegurança estabelecidos pelo laboratório, de acordo com as normas locais, estaduais ou federais.

Observar ainda a simbologia constante nos rótulos do produto:



Irritante

AMOSTRA

Soro isento de hemólise. A albumina permanece estável no soro por 30 dias, à temperatura de 2-8°C, e por 2 meses, à temperatura de 10°C negativos. O plasma pode ser usado quando colhido com edta e heparina. Demais líquidos biológicos (líquido pleural, ascítico, etc.) devem ser centrifugados previamente.

Evitar estase prolongada na coleta de sangue, pois a hemoconcentração aumenta os níveis de proteínas plasmáticas.

Concentrações de bilirrubina até 30mg/dL, hemólise moderada (até 400mg/dL de Hb no soro) não interferem na reação.

Todas as amostras biológicas devem ser consideradas como potencialmente infectantes.

PROCEDIMENTO TÉCNICO

Preparo do reagente de cor de uso (Novo PREPARO!):

Transferir todo o conteúdo de 01 frasco do **reagente de cor concentrado** para um balão volumétrico e completar o volume a **250mL**, com água destilada ou deionizada. A solução permanece estável por 18 meses, sob refrigeração (2-8°C).

Identificar 3 tubos de ensaio com **B (branco)**, **T (teste)** e **P (padrão)**.

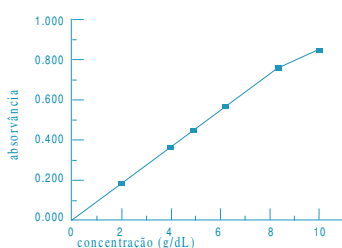
Proceder como segue:

	B	T	P
Reagente de cor (uso)	5mL	5mL	5mL
Amostra	-	20µL	-
Solução Padrão	-	-	20µL



Homogeneizar por inversão e, dentro de 1 a 2 minutos, ler as absorvâncias do teste e padrão em espectrofotômetro ou fotocolorímetro, em **630nm** ou **filtro vermelho**, acertando o zero com o **branco**.

CURVA DE CALIBRAÇÃO



Padrão	Absorvância	Conc. (g/dL)
1	0.000	0
2	0.183	2
3	0.364	4
4	0.458	5
5	0.571	6.25
6	0.762	8.33
7	0.850	10

Obs.: Não utilizar esta curva para determinar o resultado de seu ensaio.

- A curva de calibração é a representação gráfica da relação entre os valores das absorvâncias com os valores das concentrações de um conjunto de soluções padrão. São necessários três passos para confeccioná-la: (1) preparo das soluções padrão; (2) medição dos valores de absorvância das soluções padrão, de acordo com o especificado no procedimento técnico da presente instrução de uso, e (3) montagem de um gráfico, em papel especial, linear, onde são relacionados os valores de absorvância com os de concentração, conforme demonstrado na figura acima. As dosagens para montagem da curva foram feitas em um espectrofotômetro "Ultrospec III", Pharmacia Biotec, comprimento de onda de 630nm e cubetas com passagem de luz de 10mm.
- A curva de calibração demonstra a linearidade da reação até uma determinada concentração, na qual pode ser determinado um fator de calibração (F), de acordo com a Lei de Beer. As curvas de calibração são utilizadas para substituir os cálculos matemáticos na determinação das concentrações das amostras. A leitura da amostra é localizada no gráfico apropriado e a concentração correspondente determinada a partir da curva. Tal procedimento será válido se a leitura da amostra estiver no intervalo da linearidade da reação.
- **A reação é linear entre 0 e 8g/dL (ver curva acima). Obtendo-se valores mais elevados, dilui-se a amostra com solução fisiológica e procede-se à nova dosagem. Multiplicar o valor encontrado pelo fator de diluição.**
- **O kit de Albumina Doles possui padrão no intervalo de linearidade da metodologia de Verde Bromocresol, desta maneira, o laboratório deve realizar o ensaio com o padrão que acompanha o kit e calcular seu fator de calibração (F), de acordo com o exemplo estabelecido nos cálculos.**
- **O fator deve ser refeito periodicamente e a cada lote do produto.**
- As soluções padrão utilizadas na montagem da curva de calibração foram rastreadas contra "Albumin Standards, catálogo nº A-1533 de Sigma Chemical Company", cujas concentrações são de 2, 4, 6, 8 e 10g/dL.

CÁLCULOS

$$\text{Albumina (g/dL)} = \frac{\text{absorvância T}}{\text{absorvância P}} \times 4$$

Exemplo:

Leitura: Padrão: 0,364 Teste: 0,250

$$\text{Albumina (g/dL)} = \frac{0,250}{0,364} \times 4 = 2,72$$

Como a reação corada segue estritamente a lei de Beer, basta a determinação de um **fator(F)** para cálculo dos resultados.

$$\text{Fator de calibração} = \frac{4}{\text{absorvância de P}}$$

$$\text{Albumina (g/dL)} = \text{absorvância do teste} \times F$$

Para obtenção do fator, recomenda-se dosar em triplicata o padrão, ler as absorvâncias e tirar a média aritmética das mesmas.

Exemplo:

Leituras: 0,363; 0,364; 0,365

$$\text{Média aritmética: } \frac{0,363 + 0,364 + 0,365}{3} = 0,364$$

$$\text{Fator(F)} = \frac{4}{0,364} = 10,98$$

Leitura do teste: 0,250

Albumina (g/dL) = 0,250 x 10,98 = 2,74

EXPRESSÃO DOS RESULTADOS EM UNIDADES S.I.

Multiplicar o resultado encontrado em g/dL por 10.

Exemplo: albumina (g/dL) = 2,74

Resultado expresso em unidades S.I. = 2,74 x 10 = 27,4 g/L

LIMITAÇÕES DO SISTEMA

- Para se obter ótimo desempenho do sistema, é necessário que o procedimento técnico seja rigorosamente seguido conforme instruções de uso. Qualquer alteração poderá levar a resultados errôneos.
- Algumas drogas como: esteroides anabolizantes, andrógenos, corticosteróides, dextran, insulina, progesterona e agentes citotóxicos, podem aumentar os níveis de albumina.
- Algumas drogas como: estrógenos, drogas hepatotóxicas, anticoncepcionais orais, aspirina, penicilina e sulfonamidas, podem diminuir os níveis de albumina.
- Nas condições em que há aumento acentuado das frações alfa-1 e alfa-2 globulinas, essas podem adsorver o corante verde de bromocresol falseando resultados elevados de albumina.



CONTROLE DA QUALIDADE DO SISTEMA

1. A limpeza e a secagem adequada do material a ser utilizado são de fundamental importância para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A água utilizada na limpeza do material, no preparo dos reagentes e na dosagem, deve ser de boa qualidade.
3. Colunas deionizadoras saturadas liberam íons diversos, amins e agentes oxidantes, que deterioram os reagentes.
4. As pipetagens devem ser precisas.
5. O uso de soro controle de referência deve ser uma prática rotineira do laboratório. Recomenda-se utilizar um soro controle com valor na faixa de normalidade (**soro controle N - Doles**) e outro soro controle de valor elevado (**soro controle P - Doles**).
6. Como a reação é pH dependente, todo vasilhame utilizado deve estar rigorosamente limpo.
7. A medida do soro deve ser feita com precisão.

VALORES DE REFERÊNCIA

É recomendado que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores de referência na população atendida. Como orientação, sugerimos os seguintes valores:

Albumina 3,5 - 5,5 g/dL

SIGNIFICADO CLÍNICO

A albumina é a proteína mais abundante no soro humano. A hiperalbuminemia é rara e pode ocorrer nos casos de desidratação. A redução dos níveis, entretanto, é observada em situações como: na síndrome nefrótica e na insuficiência hepática avançada (cirrose, colangite, fígado cardíaco, hepatite crônica e neoplasia). Vale lembrar que o fígado é a principal sede de síntese da albumina.

Pode ocorrer analbuminemia, rara anomalia congênita, devido a defeito na síntese, com hiperglobulinemia compensadora.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Foram realizados 42 testes em amostras cujo teor de creatinina se situava no intervalo de 2,2 a 4,8g/dL. Esses ensaios foram realizados em paralelo com uma metodologia de referência. A comparação do kit de Albumina Doles (Y) com a metodologia acima mencionada (X) deu origem à seguinte equação de regressão linear: $Y=0,327 + 0,955 X$, sendo o coeficiente de correlação 0,99.

Testes de recuperação mostraram recuperação de 98,5 ± 2,5%.

O erro da média encontrado foi de 1,18%.

Repetitividade: foram realizadas 20 dosagens sucessivas, com 2 amostras, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2
Concentração (g/dL)	3,21	5,20
Desvio padrão	0,04	0,05
Coefficiente de variação (%)	1,25	0,96

Reprodutibilidade: foram realizadas 20 dosagens, durante 20 dias consecutivos, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2
Concentração (g/dL)	3,41	5,57
Desvio padrão	0,05	0,07
Coefficiente de variação (%)	1,47	1,26

Especificidade: o método é específico para a albumina.

Sensibilidade: a absorvância encontrada de 0,001 corresponde a 0,1g/dL de concentração de albumina, quando realizados em espectrofotômetro a 630nm. A sensibilidade do sistema está diretamente relacionada com a do aparelho utilizado no laboratório.

Diluição da matriz: estudos sucessivos de diluição da matriz mostraram que não há interferência na sensibilidade diagnóstica da presente metodologia de verde de bromocresol.

Substâncias interferentes: concentrações de bilirrubina até 30mg/dL, hemólise moderada (até 400mg/dL de Hb no soro) não interferem na reação. Lipemia moderada não interfere na presente metodologia. Certas drogas podem interferir nos níveis de albumina. Para controle de tal interferência é recomendado que o paciente seja questionado quanto ao uso de medicamentos.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- Muyada, D.S., Baysinger, V., Notrica, S. e Nakamura, R.M.: *Clin. chem.* 18:52-56, 1972.
- Dumas, I.B.T. e Bigges, H.G.: *Standard methods of clinical chemistry*, vol.7, Academic Press, 175-188, 1972.
- Pagana K.D.: *Mosby's diagnostic and laboratory test reference*, 592-594, 1992.
- Giese, R.W; Annino, J.S.: *Química clínica princípios e métodos*, 191-201, 1978.
- Tibúrcio, H.M.: *Controle interno da qualidade analítica*, 1ªed. março/1995.
- Doles: dados de arquivo.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

As garantias do fabricante ao consumidor seguem estritamente as relacionadas na Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1.990 - **Código de Defesa do Consumidor**.

Todos os reagentes que compõem este sistema para diagnóstico são garantidos na sua performance, reprodutibilidade e qualidade até a data de vencimento dos mesmos, se obedidas as condições abaixo:

1. O usuário do sistema seguir, rigorosamente, o procedimento técnico.
2. As condições de armazenamento deverão estar de acordo com o estabelecido nas instruções de uso.
3. Os materiais necessários e não fornecidos deverão estar em boas condições técnicas.

Todos os produtos que apresentarem problemas técnicos comprovados serão substituídos, sem ônus para o consumidor.

Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda.

CNPJ: 01.085.513/0001-05

Rodovia BR 153, Km 1273, Lt.07, Chácara Retiro

CEP: 74001-970 Goiânia - GO - Brasil

Caixa Postal 1051

e-mail: doles@doles.com.br

M.S.: nº 10231810032

Revisão: 15 (10/2009)

NBR ISO 9001

Sistema da Qualidade certificado desde 1999

