



Proteínas Totales

AA

Método colorimétrico para la determinación de proteínas totales en suero

SIGNIFICACION CLINICA

Las proteínas son compuestos orgánicos macromoleculares, ampliamente distribuidos en el organismo, esenciales para la vida. Actúan como elementos estructurales y de transporte y aparecen bajo la forma de enzimas, hormonas, anticuerpos, factores de coagulación, etc.

En el plasma, las proteínas contribuyen a mantener el volumen del fluido circulante, transportan sustancias relativamente insolubles y actúan en la inactivación de compuestos tóxicos y en la defensa contra agentes invasores.

La determinación de proteínas totales es útil para el monitoreo de cambios ocasionados por diversos estados de enfermedad. En condiciones patológicas como pérdidas renales, desnutrición, infecciones prolongadas, etc., suelen presentarse hipoproteinemias, mientras que en otras como mieloma múltiple, endocarditis bacteriana y hemoconcentración de diversos orígenes, (ej.: deshidratación) se observan hiperproteinemias.

FUNDAMENTOS DEL METODO

Los enlaces peptídicos de las proteínas reaccionan con el ión cúprico en medio alcalino, para dar un complejo color violeta con máximo de absorción a 540 nm, cuya intensidad es proporcional a la concentración de proteínas totales en la muestra.

REACTIVO PROVISTO

A. Reactivo A: complejo EDTA/Cu 13 mmol/l en hidróxido de sodio 875 mmol/l y alquil aril poliéter (AAP).

REACTIVO NO PROVISTO

Calibrador A plus / Proti 2 Suero Patrón de Wiener lab.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo A: listo para usar.

PRECAUCIONES

El Reactivo Provisto es para uso diagnóstico "in vitro". El Reactivo A es irritante. R36/38: irrita los ojos y la piel. S24/25: evitar el contacto con los ojos y la piel. S26: en caso de contacto con los ojos, lávese inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. S28: en caso de contacto con la piel, lávese inmediata y abundantemente con agua. S37/39: usar guantes adecuados y protección para los ojos/la cara.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivo Provisto: es estable a temperatura ambiente hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

MUESTRA

Suero

- a) Recolección:** debe obtenerse suero libre de hemólisis.
- b) Aditivos:** no se requieren.
- c) Sustancias interferentes conocidas:** no se observa interferencia por bilirrubina hasta 100 mg/l, ni hemólisis ligera y en ningún caso se presenta turbiedad por quilomicrones. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.
- d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** si no se procesa inmediatamente el suero puede conservarse hasta 3 días en refrigerador (2-10°C) o una semana en congelador.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Tubos o cubetas espectrofotométricas.
- Baño de agua a 37°C.
- Reloj o timer.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 540 nm en espectrofotómetro o en fotocolorímetro con filtro verde (520-560 nm).
- Temperatura de reacción: 37°C
- Tiempo de reacción: 15 minutos
- Volumen de muestra: 20 ul
- Volumen de Reactivo A: 2,0 ml (Ver PERFORMANCE)
- Volumen final de reacción: 2,02 ml

PROCEDIMIENTO

En tres tubos marcados B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), colocar:

| | B | S | D |
|----------------------------------|--------|--------|--------|
| Calibrador / Suero Patrón | - | 20 ul | - |
| Muestra | - | - | 20 ul |
| Reactivo A | 2,0 ml | 2,0 ml | 2,0 ml |

Mezclar con varilla. Incubar durante 15 minutos a 37°C. Leer en espectrofotómetro a 540 nm o en fotocolorímetro con filtro verde (520-560 nm) llevando a cero con el Blanco de Reactivo.

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de la reacción es estable durante 12 horas por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de ese lapso.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Empleando el **Suero Patrón** tal como se indica en PROCEDIMIENTO, los cálculos se realizan como sigue:

$$\text{Proteínas totales (g/dl)} = D \times f \quad f = \frac{\text{P.T. (g/dl)}^*}{S}$$

*Concentración de proteínas totales en el **Calibrador A plus** o en el **Suero Patrón**

$$\text{Relación A/G} = \frac{\text{Albúmina (g/dl)}}{\text{P.T. (g/dl)} - \text{Alb. (g/dl)}}$$

Curva de calibración

Para constatar que el fotocolorímetro tenga una respuesta lineal en la longitud de onda fijada para la reacción, puede prepararse una curva de calibración con cantidades crecientes de **Suero Patrón** (ej.: 20 y 40 ul) con un volumen de Reactivo A de 2,0 ml en todos los casos. Si el valor obtenido para el segundo tubo se aparta en más de un 5% del calculado de acuerdo a la lectura del primero debe emplearse para los cálculos la curva de calibración.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

Proteínas totales (g/dl) x 10 = Proteínas totales (g/l)

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de proteínas totales, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

Se determinó el contenido de proteínas totales en suero de personas sanas, de ambos sexos, con alimentación mixta normal y edades entre 17 y 40 años.

Se obtuvieron los siguientes rangos:

Proteínas totales: 6,1 a 7,9 g/dl

Relación A/G: 1,2 a 2,2

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes en MUESTRA.

Puede usarse plasma como muestra, pero el resultado de la proteinemia estará incrementado en 0,2 g/dl debido a la presencia de fibrinógeno, que no está considerado dentro de la definición de Proteínas Totales.

PERFORMANCE

a) **Reproducibilidad:** procesando replicados de las mismas muestras en distintos días se obtuvieron los siguientes resultados:

| Nivel | D.S. | C.V. |
|----------|--------------|--------|
| 4,6 g/dl | ± 0,022 g/dl | 0,49 % |
| 5,8 g/dl | ± 0,023 g/dl | 0,56 % |
| 7,0 g/dl | ± 0,028 g/dl | 0,39 % |

b) **Recuperación:** agregando cantidades conocidas de proteínas a distintas muestras se obtuvo una recuperación de 96 a 103 %.

c) **Límite de detección:** depende del fotómetro empleado y de la longitud de onda. De acuerdo con la sensibilidad requerida para un ΔA mínimo de 0,001, el menor cambio de concentración detectable será de 0,01 g/dl.

d) **Linealidad:** la reacción es lineal hasta 17 g/dl.

Si el instrumento usado en la lectura tuviese baja sensibilidad fotocolorimétrica, puede emplearse 20 ul de muestra con 1,5 ml de Reactivo A. En este caso la linealidad alcanza a 12 g/dl de proteínas totales.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

Para la calibración, se puede utilizar **Calibrador A plus** de Wiener lab.

PRESENTACION

- 10 x 20 ml (Cód. 1009327).

- 10 x 20 ml (Cód. 1009630).

- 10 x 20 ml (Cód. 1009273).

- 6 x 120 ml (Cód. 1690009).

BIBLIOGRAFIA

- Gasbarro, L.; Bandinelli R. & Tomassini, G. - Clin. Chim. Acta 36/1:275 (1972).

- Strickland, R.D.; Freeman, M.L. & Gurule E.T. - Anal. Chem. 33:545 (1961).

- Pastewka, J. W. & Ness, A.T. - Clin. Chim. Acta 12:523 (1965).

- Peters, T. Jr. - Clin. Chem. 14:1147 (1968).

- Henry, R., Sobel, C. & Berkman, S. - Anal. Chem. 29/10:1491 (1957).






















- Kachmar, J.F. - Fundamentals of Clinical Chemistry - Tietz, Saunders, pág. 177 (1970).


- Rojkin, M.L.; Olguín de Mariani, M.C.; Drappo, G.A. y Sosa, C.F. - Bioq. del Atlántico VI/63: 1931 (1974).

- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

| | | | |
|--|--|---|--------------------------------|
|  | Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro" |  | Elaborado por: |
|  | Representante autorizado en la Comunidad Europea |  | Nocivo |
|  | Uso diagnóstico "in vitro" |  | Corrosivo / Caústico |
|  | Contenido suficiente para <n> ensayos |  | Irritante |
|  | Fecha de caducidad |  | Consultar instrucciones de uso |
|  | Límite de temperatura (conservar a) |  | Calibrador |
|  | No congelar |  | Control |
|  | Riesgo biológico |  | Control Positivo |
|  | Volumen después de la reconstitución |  | Control Negativo |
|  | Contenido |  | Número de catálogo |
|  | Número de lote | | |

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. N°: 1558/96



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina