



Total Protein

Método colorimétrico para la determinación de proteínas totales en suero y plasma

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.

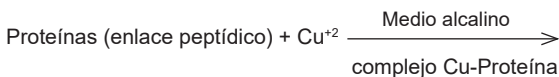
En el plasma, las proteínas contribuyen a mantener el volumen del fluido circulante, transportan sustancias relativamente insolubles y actúan en la inactivación de compuestos tóxicos y en la defensa contra agentes invasores.

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

En medio alcalino, los enlaces peptídicos de las proteínas reaccionan con el ión cúprico formando el complejo violeta-púrpura del biuret. La intensidad de absorción de este complejo a 540 nm es directamente proporcional a la concentración de las proteínas totales en la muestra.

El tartrato de sodio y potasio presente en el reactivo, inhibe la formación de hidróxido de cobre, evitando así su precipitación. El ioduro de potasio previene la reducción del ión cúprico a óxido cuproso.



REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: hidróxido de sodio, 600 mmol/L; tartrato sódico-potásico 127,6 mmol/L.

B. Reactivo B: hidróxido de sodio, 600 mmol/L; tartrato sódico-potásico 127,6 mmol/L; ioduro potásico 120 mmol/L; sulfato de cobre 48,9 mmol/L.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Calibrador A plus de Wiener lab.
- Solución fisiológica (NaCl 9 g/L).

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Los Reactivos Provistos son corrosivos. RH315 + H320: Provoca irritación cutánea y ocular. H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. P262: Evitar el contacto con los ojos, la piel o la ropa. P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir enjuagando. P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica. Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Una vez abiertos, no deben permanecer destapados ni fuera del refrigerador por períodos prolongados.

Puede observarse una ligera alteración del color del Reactivo B sin cambios en el desempeño del mismo.

Evitar contaminaciones.

Proteger de la luz.

MUESTRA

Suero o plasma

a) Recolección: obtener la muestra de la manera usual.

b) Aditivos: en caso de emplear plasma como muestra, se recomienda el uso de heparina o EDTA (**Anticoagulante W** de Wiener lab.) como anticoagulantes.

c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por dextrán hasta 30 g/L, hemoglobina hasta 750 mg/dL, triglicéridos hasta 4000 mg/dL, ni bilirrubina hasta 20 mg/dL (200 mg/L).

Las muestras que poseen precipitados deben ser centrifugadas previo a su ensayo.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra debe ser preferentemente fresca. Puede conservarse hasta una semana en refrigerador (2-10°C) o 6 meses a -20°C.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Micropipetas para medir los volúmenes indicados.
- Analizador automático

PROCEDIMIENTO

(Analizador automático)

A continuación se detalla un procedimiento general para Total Protein en un analizador automático. Cuando se implemente la técnica en un analizador en particular, siga las instrucciones de trabajo del mismo. En una cubeta mantenida a la temperatura elegida, colocar:

Muestra o Calibrador	3 uL
Reactivo A	120 uL

Incubar durante 120 segundos a 37°C. Leer a 540 nm de longitud de onda primaria y 700 nm de longitud de onda secundaria.

Reactivo B	40 uL
-------------------	-------

Incubar durante 300 segundos a 37°C. Leer a 540 nm de longitud de onda primaria y 700 nm de longitud de onda secundaria.

Los analizadores Wiener lab. calculan automáticamente la concentración del analito de cada muestra.

CALIBRACION

El Calibrador A plus es procesado de la misma manera que las muestras y a partir de él se calcula el factor correspondiente. Los valores de concentración de proteínas totales son variables lote a lote. Consultar los valores en el manual de instrucciones de Calibrador A plus de Wiener lab.

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

Adultos: 6,4 - 8,3 g/dL (64 - 83 g/L)

Sangre de cordón: 4,8 - 8,0 g/dL (48 - 80 g/L)

Prematuros: 3,6 - 6,0 g/dL (36 - 60 g/L)

Neonatos: 4,6 - 7,0 g/dL (46 - 70 g/L)

1 semana: 4,4 - 7,6 g/dL (44 - 76 g/L)

7 meses -1 año: 5,1 - 7,3 g/dL (51 - 73 g/L)

1-2 años: 5,6 - 7,5 g/dL (56 - 75 g/L)

> 3 años 6,0 - 8,0 g/dL (60 - 80 g/L)

Estos valores son sólo orientativos. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia, dentro de su población de pacientes.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

Proteínas totales (g/dL) x 10 = Proteínas totales (g/L)

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Para preservar la integridad de los reactivos deben evitarse todo tipo de contaminaciones, empleando para la medición únicamente micropipetas perfectamente limpias y secas. Se recomienda utilizar Standatrol S-E 2 niveles de Wiener lab, como material de control de calidad, ya que con controles

de otras marcas comerciales pueden obtenerse valores diferentes al rango especificado, dado que los mismos dependen del método o sistema utilizado.

PERFORMANCE

a) Precisión: basado en el protocolo EP5-A2 del CLSI, se obtuvieron los siguientes coeficientes de variación como estimadores de la precisión intraensayo (CV_i) y total (CV_t):

Nivel	CV_{wr}	CV_t
4,4 g/dL	0,36%	0,96%
6,7 g/dL	0,65%	1,16%
7,3 g/dL	0,57%	0,88%

b) Linealidad: la linealidad se evaluó utilizando un protocolo basado en el EP6-A de la CLSI. La reacción es lineal hasta 12 g/dL. Para valores superiores, diluir la muestra 1+4 partes con solución fisiológica (NaCl 9 g/L), repetir la determinación y multiplicar el resultado por el factor de dilución.

c) Límite de cuantificación: se evaluó utilizando un protocolo basado en el EP17-A de la CLSI. El límite de cuantificación es de 2,5 g/dL.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consultar las adaptaciones correspondientes a los analizadores de la línea Wiener lab. para el método Total Protein. Para la calibración debe utilizarse Calibrador A plus de Wiener lab.

PRESENTACION

3 x 125 mL Reactivo A

1 x 125 mL Reactivo B
(Cód. 1999736)

4 x 30 mL Reactivo A

4 x 10 mL Reactivo B
(Cód. 1008105)*

BIBLIOGRAFIA

- Dumas, B; Bayse, D; Carter, R; Peters, T schaffer, R.- A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. development and validation. - Clin. Chem. 27/10:1642, 1981.
- Glick, M; Ryder, K; Jackson, S. - Graphical comparisons of interferences in clinical chemistry instrumentation. - Clin. Chem. 32:470, 1986.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Tholen, D; Kallner, A; Kennedy, J; Krouwer, J; Meier, K. - Evaluation of precision of quantitative measurement methods; Approved Guideline - Second Edition. Vol. 24 N° 25, 2004.
- Tholen, D; Kroll, M; Astles, J; Happe, T; Krouwer, J; Laszky, F. EP6-A. - Evaluation of the Linearity of quantitative Measurement Procedures: A Statical approach; Aproved Guideline. - Vol. 23 N° 16, 2003.
- Tholen, D; Linnert, K; Kondratovich, M; Armbruster, D; Garret, P; Jones, R; Kroll, M; Lequin, R; Pankratz, T; Scassellati, G; Schimmel, H; Tsai, J. EP17-A. - Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. - Vol. 24 N° 34, 2004.

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"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control




Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo

 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.
PM-1102-78



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina