



# 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 corrosivo. H319: Provoca irritación ocular grave. 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 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
<b>Calibrador / Suero Patrón</b>	-	20 ul	-
<b>Muestra</b>	-	-	20 ul
<b>Reactivo A</b>	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  $\Delta A$  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).

- 10 x 20 ml (Cód. 1009908)\*.

- 6 x 120 ml (Cód. 1690009).

- 2 x 40 ml (Cód. 1009805)\*.

## 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, 4<sup>th</sup> ed., 2001.



# Proteínas Totales

AA

Método colorimétrico para a determinação de proteínas totais em soro

## SIGNIFICADO CLÍNICO

As proteínas são compostos orgânicos macromoleculares, amplamente distribuídos no organismo e especialmente para a vida. Atuam como elementos estruturais e de transporte e aparecendo como enzimas, hormônios, anticorpos, fatores coagulantes, etc. No plasma, as proteínas contribuem a manter o volume de fluido circulante, transportam substâncias relativamente não solúveis e atuam na inativação de compostos tóxicos e na defesa contra agentes invasores.

A determinação de proteínas totais é útil para o monitorio de mudanças produzidas por diferentes doenças.

Em condições patológicas como a perda renal, desnutrição, infecções prolongadas, etc., apresentam-se as hipoproteïnemias, no entanto, em outras como o mieloma múltiplo, endocardite bacteriana e hemoconcentrações de diferentes origens, (ex. desidratação) observam-se as hiperproteïnemias.

## FUNDAMENTOS DO MÉTODO

As ligações de peptídeos das proteínas totais reagem com o íon cúprico, em meio alcalino, para se obter um complexo de cor lilás com máximo de absorvância a 540 nm, cuja intensidade é proporcional à concentração de proteínas totais na amostra.

## REAGENTE FORNECIDO

**A. Reagente A:** complexo EDTA/Cu 13 mmol/l em hidróxido de sódio 875 mmol/l e alquil aril poliéter (AAP).

## REAGENTE NÃO FORNECIDO

**Calibrador A plus / Proti 2 Suero Patrón** da Wiener lab.

## INSTRUÇÕES DE USO

**Reagente A:** pronto para uso.

## PRECAUÇÕES

O Reagente Fornecido é para uso diagnóstico "in vitro".  
O Reagente A é corrosivo. H319: Provoca irritação ocular grave. H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. P262: Não pode entrar em contacto com os olhos, a pele ou a roupa. P305 + P351 + P338: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar. P302 + P352: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes. P280: Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial. Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas. Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

## ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

**Reagente Fornecido:** é estável sob temperatura ambiente até a data do vencimento indicada na embalagem.

## AMOSTRA

Soro

**a) Coleta:** deve-se obter esteja livre de hemólise.

**b) Aditivos:** não são necessários.

**c) Substâncias interferentes conhecidos:** não observam-se interferências por bilirrubina até 100 mg/l nem hemólise ligeira e em nenhum dos casos apresenta-se turbidez por quilomicrons. Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

**d) Estabilidade e instruções de armazenamento:** de não ser processado rapidamente o soro pode ser conservado sob refrigeração (2-10°C) até 3 dias ou uma semana congelado.

## MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro.
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Tubos ou cubetas espectrofotométricas.
- Banho-maria a 37°C.
- Relógio ou timer.

## CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda: 540 nm em espectrofotômetro ou em fotocolorímetro com filtro verde (520-560 nm).
- Temperatura de reação: 37°C
- Tempo de reação: 15 minutos
- Volume de amostra: 20 ul
- Volume de Reagente A: 2,0 ml (vide PERFORMANCE)
- Volume final de reação: 2,02 ml

## PROCEDIMENTO

Em três tubos marcados B (Branco), P (Padrão) e D (Desconhecido), colocar:

	B	P	D
<b>Calibrador / Suero Patrón</b>	-	20 ul	-
<b>Amostra</b>	-	-	20 ul
<b>Reagente A</b>	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml

Misturar. Incubar 15 minutos a 37°C. Ler em espectrofotômetro a 540 nm ou em fotocolorímetro com filtro verde (520-560 nm) zerando o aparelho com Branco de Reagente.

## ESTABILIDADE DA MISTURA DE REAÇÃO FINAL

A cor é estável 12 horas devendo ler a absorbância dentro deste período de tempo.

## CÁLCULOS DOS RESULTADOS

Utilizando o **Suero Patrón** conforme indica o PROCEDIMENTO, os cálculos devem-se realizar da seguinte maneira:

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

\*Concentração de proteínas totais no **Calibrador A plus** ou no **Suero Patrón**

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

## Curva de calibração

Para conferir o bom desempenho do aparelho e ter uma resposta linear nos comprimentos de onda fixadas para as reações, pode-se preparar uma curva com quantidades crescentes de **Suero Patrón** (ex. 20 e 40 ul) com um volume de Reagente A de 2,0 ml em todos os casos. Se os valores obtidos para o segundo tubo fogem de 5% dos calculados conforme à leitura do primeiro deve ser utilizado para os cálculos a curva de calibração.

## CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

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

## MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Standatrol S-E 2 níveis**) com concentrações conhecidas de proteínas totais, com cada determinação.

## VALORES DE REFERÊNCIA

Foi determinado o conteúdo de proteínas totais em soro de pessoas saudáveis, de ambos os sexos, com hábitos alimentares normais e idades entre 17 e 40 anos.

Foram obtidos os seguintes dados:

Proteínas totais: 6,1 a 7,9 g/dl

Relação A/G: 1,2 a 2,2

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

## LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. Pode ser utilizado plasma como amostra, mas o resultado da proteinemia será incrementado em 0,2 g/dl pela presença de fibrinogênio, que não é considerado pela definição de Proteínas Totais.

## DESEMPENHO

a) **Reprodutibilidade:** processando replicas das mesmas amostras em diferentes dias obtiveram-se os seguintes resultados:

Nível	D.P.	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) **Recuperação:** adicionando quantidades conhecidas de proteínas a diferentes amostras se obteve uma recuperação de 96 a 103%.

c) **Limite de detecção:** dependendo do fotômetro utilizado e da comprimento de onda, conforme com a sensibilidade necessária para um  $\Delta A$  mínimo de 0,001, a menor mudança de concentração detectável será de 0,01 g/dl.

d) **Linearidade:** a reação é linear até 17 g/dl. Se o aparelho utilizado na leitura teve-se baixa sensibilidade fotocolorimétrica, pode empregar-se 20 ul de amostra com 1,5 ml de Reagente A. Neste caso a linearidade chega até 12 g/dl de proteínas totais.

## PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para a programação do aparelho consulte o manual de uso do analisador a ser utilizado.

Para a calibração, pode-se utilizar **Calibrador A plus** da Wiener lab.

## APRESENTAÇÃO

- 10 x 20 ml (Cód. 1009327).
- 10 x 20 ml (Cód. 1009630).
- 10 x 20 ml (Cód. 1009273).
- 10 x 20 ml (Cód. 1009908)\*.
- 6 x 120 ml (Cód. 1690009).
- 2 x 40 ml (Cód. 1009805)\*.

## REFERÊNCIA

- 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, 4<sup>th</sup> ed., 2001.



# Proteínas Totales

AA

Colorimetric method for the determination of total proteins in serum

## SUMMARY

Proteins are macromolecular organic compounds widely distributed in the body and are essential for life. They act as structural and transport elements and also appear as enzymes, hormones, antibodies, coagulation factors, etc. In plasma, proteins help to maintain the circulating fluid volume, transporting relatively insoluble substances, and they act in the inactivation of toxic compounds and in the defense against invasive agents.

The determination of total proteins is useful to monitor changes caused by different diseases. Under pathological conditions such as renal loss, malnutrition, long-term infections, etc., hypoproteinemias may appear; while hyperproteinemias are observed with multiple myeloma, bacterial endocarditis and hemoconcentration of diverse origins.

## PRINCIPLE

Protein peptidic bonds react with the cupric ion in alkaline medium, rendering a violet complex with a maximum absorption at 540 nm, being its intensity proportional to the total proteins concentration of the sample.

## PROVIDED REAGENTS

**A. Reagent A:** 13 mmol/l EDTA/Cu complex in 875 mmol/l sodium hydroxide and alkyl aryl polyether (AAP).

## NON-PROVIDED REAGENTS

Wiener lab.'s **Calibrador A plus / Proti 2 Suero Patrón**.

## INSTRUCTIONS FOR USE

**Reagent A:** ready to use.

## WARNINGS

The Reagent is for "in vitro" diagnostic use.

Reagent A is corrosive. H319: Causes serious eye irritation. H314: Causes severe skin burns and eye damage. P262: Do not get in eyes, on skin, or on clothing. P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. P302 + P352: IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water. P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories. The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

## STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

**Provided Reagent:** is stable at room temperature until the expiration date shown on the box.

## SAMPLE

Serum

**a) Collection:** obtain non-hemolyzed serum.

**b) Additives:** not required.

**c) Known interference substances:** no interference from bilirubin up to 100 mg/l, nor from mild hemolysis is observed. Turbidity caused by chylomicrons has never been observed. See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

**d) Stability and storage instructions:** if the serum is not immediately tested, it can be stored up to 3 days in refrigerator (2-10°C) or a week in freezer.

## REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer or photocolimeter.
- Micropipettes and pipettes to measure the stated volumes.
- Tubes or spectrophotometric cuvettes.
- Water bath at 37°C.
- Stopwatch.

## ASSAY CONDITIONS

- Wavelength: 540 nm in spectrophotometer or photocolimeter with green filter (520-560 nm).
- Reaction Temperature: 37°C
- Reaction Time: 15 minutes
- Sample Volume: 20 ul
- Reagent A Volume: 2.0 ml (See PERFORMANCE)
- Final Reaction Volume: 2.02 ml

## PROCEDURE

In three test tubes labeled B (Blank), S (Standard) and U (Unknown), place:

	B	S	U
<b>Calibrador / Suero Patrón</b>	-	20 ul	-
<b>Sample</b>	-	-	20 ul
<b>Reagent A</b>	2.0 ml	2.0 ml	2.0 ml

Mix with rod. Incubate 15 minutes at 37°C. Read in spectrophotometer at 540 nm or in photocolimeter with green filter (520-560 nm) setting the instruments to zero O.D. with the Reagent Blank.

## STABILITY OF FINAL REACTION

The reaction color is stable for 12 hours, thus readings should be performed within this period.

## CALCULATIONS

Using the **Suero Patrón** as indicated in PROCEDURE, the calculations are performed as follows:

$$\text{Total Proteins (g/dl)} = U \times f \quad f = \frac{\text{T.P. (g/dl)}^*}{S}$$

\*Total proteins concentration in **Calibrador A plus** or **Suero Patrón**

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

### Calibration curve

To check that the colorimeter has a linear response in the wavelength indicated for the reaction, a calibration curve can be prepared with increasing quantities of **Suero Patrón** (e.g. 20 and 40 ul) and a reagent volume of 2.0 ml in every case. If the value obtained for the second tube differs more than 5% from the one calculated in reference to the first tube reading, the calibration curve must be used for the calculations.

## SI SYSTEM UNITS CONVERSION

Total proteins (g/dl) x 10 = Total proteins (g/l)

## QUALITY CONTROL METHOD

Each time the test is performed, analyze two levels of a quality control material (**Standatrol S-E 2 niveles**) with known total proteins concentration.

## REFERENCE VALUES

The content of total proteins was determined in serum of healthy individuals of both sexes, with normal diet, ages between 17 and 40. The following ranges were obtained:

Total Proteins: 6.1 to 7.9 g/dl

A/G Ratio: 1.2 to 2.2

It is recommended that each laboratory establishes its own reference values.

## PROCEDURE LIMITATIONS

See Known interference substances under SAMPLE.

Plasma can be used as sample, but the result of the proteinemia will be increased in 0.2 g/dl due to the presence of fibrinogen, which is not considered within the Total Proteins definition.

## PERFORMANCE

**a) Reproducibility:** when replicates of the same samples were assayed on different days the following results were obtained:

Level	S.D.	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) Recovery:** by adding known quantities of albumin and globulins to different samples a recovery of 96 to 103 % was obtained.

**c) Detection Limit:** it depends on the photometer and the wavelength. According to the sensitivity required for a  $\Delta A$

minimum of 0.001, the smallest detectable concentration change will be of 0.01 g/dl.

**d) Linearity:** the reaction is linear up to 17 g/dl. If the instrument used for the reading has a low photocolometric sensitivity, 20 ul of sample with 1.5 ml of Reagent A can be used. In this case the linearity reaches 12 g/dl of total proteins.

## PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

For programming instructions check the user manual of the autoanalyzer in use.

For calibration, it can be used Wiener lab.'s **Calibrador A plus**.

## WIENER LAB PROVIDES

- 10 x 20 ml (Cat. N° 1009327).
- 10 x 20 ml (Cat. N° 1009630).
- 10 x 20 ml (Cat. N° 1009273).
- 10 x 20 ml (Cat. N° 1009908)\*.
- 6 x 120 ml (Cat. N° 1690009).
- 2 x 40 ml (Cat. N° 1009805)\*.

## REFERENCES

- 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, 3rd ed., 1990.



# Proteínas Totales

AA

Kolorymetryczna metoda do oznaczania całkowitego białka w surowicy

Nr kat. 1890009 Nr kat. 1009630  
Nr kat. 1009273 Nr kat. 1009805  
Nr kat. 1009327 Nr kat. 1009908

## WSTĘP

Makrocząsteczki białek są związkami organicznymi. Występują we wszystkich tkankach organizmu i są niezbędne do życia. Pełnią funkcje transportowe i budulcowe a także występują jako enzymy, hormony, przeciwciała, czynniki krzepnięcia itp. W osoczu białka utrzymują objętość płynów krążących, transportują substancje nierozpuszczalne, inaktywują składniki toksyczne i stanowią obronę przeciw czynnikom inwazyjnym. Oznaczenie białka całkowitego jest pomocne w monitorowaniu wielu zmian chorobowych. Hipoproteinemia pojawia się w takich stanach chorobowych jak: utrata białka przez nerki, nieprawidłowe odżywianie, przewlekłe infekcje, itp. Hiperproteinemię obserwuje się w szpiczaku mnogim, bakteryjnym zapaleniu wsierdza oraz w zespołach hemokracji różnego pochodzenia.

## ZASADA DZIAŁANIA

Wiązania peptydowe białek reagują z jonami miedziowymi w środowisku zasadowym dając fioletowy kompleks o maksymalnej absorbancji przy długości fali 540 nm. Intensywność barwy kompleksu jest proporcjonalna do całkowitego stężenia białek w próbce.

## DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

**A. Odczynnik A:** 13 mmol/l kompleks EDTA/Cu w 875 mmol/l roztworze wodorotlenku sodu i polieteru alkilowoarylowego (alkyl aryl polyether AAP).

## NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

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

## INSTRUKCJA UŻYCIA

**Odczynnik A:** gotowy do użycia.

## OSTRZEŻENIA

Odczynnik diagnostyczny do zastosowania "in vitro". Odczynnik A jest żrący. H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu. H319: Działa drażniąco na oczy. P262: Chronić przed kontaktem ze skórą, oczami i odzieżą. P305 + P351 + P338: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. P302 + P352: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Umyć dużą ilością wody z mydłem. P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy. Stosować odczynnik zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych. Odczynnik i materiał badany odrzucać zgodnie z lokalnymi przepisami.

## TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

**Dostarczane odczynniki:** są trwałe w temperaturze pokojowej aż do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu.

## MATERIAŁ BADANY

Surowica krwi

**a) Pobranie:** pobrać surowicę bez hemolizy.

**b) Substancje dodatkowe:** nie wymagane.

**c) Znane interakcje:** nie obserwuje się interakcji z bilirubiną do 100 mg/l, średnia hemoliza również nie wpływa na badanie. Nie obserwowano zmętnienia z powodu chylomikronów. Zobacz źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie.

**d) Trwałość i instrukcja przechowywania:** jeśli surowica krwi nie jest natychmiast badana należy ją przechowywać w lodówce do 3 dni (2-10°C) lub tydzień w zamrażarce.

## WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczane)

- Spektrofotometr lub fotokolorometr.
- Mikropipety i pipety do pomiaru określonych objętości.
- Probówki lub kuwety spektrofotometryczne.
- Łaźnia wodna o temp. 37°C.
- Stoper.

## WARUNKI DLA PRZEPROWADZENIA TESTU

- Długość fali: 540 nm w spektrofotometrze lub fotokolorymetrze z zielonym filtrem (520-560 nm).
- Temperatura reakcji: 37°C
- Czas reakcji: 15 minut
- Objętość materiału badanego: 20 ul
- Objętość Odczynnika A : 2,0 ml (Zobacz CHARAKTERYSTYKA TESTU)
- Całkowita objętość reakcji: 2,02 ml

## PROCEDURA

W trzech probówkach oznaczonych B (Blank - Próba ślepa), S (Standard - Próba wzorcowa) oraz U (Unknown - Nieznany materiał badany), umieścić:

	B	S	U
<b>Kalibrator/Surowica wzorcowa</b>	-	20 ul	-
<b>Materiał badany</b>	-	-	20 ul
<b>Odczynnik A</b>	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml

Wymieszać z pałeczką. Inkubować 15 minut w temperaturze

37°C. Odczytać absorbancję w spektrofotometrze przy długości fali 540 nm lub w fotokolorymetrze z zielonym filtrem (520-560 nm) ustawiając aparat na zero O.D. na odczytniku ślepych.

### TRWAŁOŚĆ REAKCJI KOŃCOWEJ

Barwa reakcji jest trwała przez 12 godzin, w tym czasie należy dokonać odczytu.

### OBLICZENIA

Użyć Suero Patrón jak wskazano w PROCEDURZE, OBLICZENIA wykonać jak niżej:

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

Total Proteins (T.P.) - Białko całkowite

\*Stężenie T.P. w Calibrador A plus lub surowicy wzorcowej

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

### KRZYWA KALIBRACJI

Celem sprawdzenia liniowości odpowiedzi kolorymetrycznej dla danej długości fali należy przygotować krzywą kalibracji z wzrostową ilością Suero Patrón (np. 20:40 ul) i 2 ml odczynnika w każdym przypadku. Jeżeli uzyskana wartość dla drugiej próbki różni się więcej niż 5% od wyliczonej wartości referencyjnej pierwszej próbki, do OBLICZENIA należy zastosować krzywą kalibracji.

### KONWERSJA JEDNOSTEK SI

Białko całkowite (g/dl) x 10 = Białko całkowite (g/l)

### METODA KONTROLI JAKOŚCI

W trakcie przeprowadzania badania, za każdym razem, należy przeprowadzać analizę jakości na dwóch poziomach (**Standatrol S-E 2 niveles**) ze znanym poziomem stężenia białka całkowitego.

### WARTOŚCI REFERENCYJNE

Poziom białka całkowitego w surowicy oznaczono u zdrowej populacji, obojga płci, stosujących normalną dietę, w przedziale wiekowym 17-40 lat. Określono następujące wartości:

**Białko całkowite:** 6,1 do 7,9 g/dl

**Współczynnik A/G:** 1,2 do 2,2

Zaleca się dla każdego laboratorium ustalenie własnych wartości referencyjnych.

### OGRANICZENIA PROCEDURY

Patrz Znane interakcje w rozdziale MATERIAŁ BADANY. Osocze może być użyte jako materiał badany, ale wynik badania białek będzie wyższy o 2 g/dl z powodu obecności fibrynogenu, który nie jest uwzględniony w definicji białka całkowitego.

### CHARAKTERYSTYKA TESTU

**a) Powtarzalność:** powtórzono analizę tego samego materiału w różnych dniach i otrzymano następujące wyniki:

Poziom	S.D.	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) Odzyskiwanie:** po dodaniu znanych ilości albumin i globulin do różnych próbek otrzymano odzysk na poziomie 96 do 103 %.

**c) Ograniczenie wykrywalności:** wykrywalność jest zależna od fotometru i długości fali. Zgodnie z wymaganą czułością dla  $\Delta A$  minimum jest 0.001, najmniejsza wykrywalna zmiana stężenia będzie wynosić 0,01 g/dl.

**d) Liniowość:** Reakcja jest liniowa do poziomu 17 g/dl. Jeżeli aparat używany do odczytu ma niską czułość fotokolorymetryczną, należy użyć 20 ul materiału badanego oraz 1,5 ml odczynnika A. W takim przypadku liniowość osiąga wartość do 12 g/dl białka całkowitego.

### PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Celem programowania zapoznać się z instrukcją obsługi używanego analizatora automatycznego. Dla kalibracji można zastosować Wiener lab. Calibrador A plus.

### WIENER LAB DOSTARCZA

- 10 x 20 ml (Nr kat. 1009327).
- 10 x 20 ml (Nr kat. 1009273).
- 10 x 20 ml (Nr kat. 1009630).
- 10 x 20 ml (Nr kat. 1009908).
- 6 x 120 ml (Nr kat. 1690009).
- 2 x 40 ml (Nr kat. 1009805).

### ŹRÓDŁA

- 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.; Olguin 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, 4<sup>th</sup> ed., 2001.

## SÍMBOLOS // SÍMBOLOS // SYMBOLS // OZNACZENIA

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits. // Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro" // Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro" // This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices // Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea // Representante autorizado na Comunidade Europeia // Authorized representative in the European Community // Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Uso diagnóstico "in vitro" // Uso médico-diagnóstico "in vitro" // "In vitro" diagnostic medical device // Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos // Conteúdo suficiente para <n> testes // Contains sufficient for <n> tests // Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Fecha de caducidad // Data de validade // Use by // Użyć przed

 Límite de temperatura (conservar a) // Limite de temperatura (conservar a) // Temperature limitation (store at) // Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 No congelar // Não congelar // Do not freeze // Nie zamrażać

 Riesgo biológico // Risco biológico // Biological risks // Ryzyko biologiczne

 Volumen después de la reconstitución // Volume após a reconstituição // Volume after reconstitution // Objętość po rozpuszczeniu

 Contenido // Conteúdo // Contents // Zawartość

 Número de lote // Número de lote // Batch code // numer serii

 Elaborado por // Elaborado por // Manufactured by // Wytwórca

 Nocivo // Nocivo // Harmful // Substancja szkodliwa

 Corrosivo / Cáustico // Corrosivo / Caústico // Corrosive / Caustic // Substancja żrąca

 Irritante // Irritante // Irritant // Substancja drażniąca

 Consultar instrucciones de uso // Consultar as instruções de uso // Consult instructions for use // Przed użyciem zapoznać się z instrukcją

 Calibrador // Calibrador // Calibrator // Kalibrator

 Control // Controle // Control // Próba kontrolna

 Control Positivo // Controle Positivo // Positive Control // Próba kontrolna dodatnia

 Control Negativo // Controle Negativo // Negative Control // Próba kontrolna ujemna

 Número de catálogo // Número de catálogo // Catalog number // Numer katalogowy

 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-1102-154



**Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina