

PROTEINE TOTALE

Metoda Colorimetrica
ENDPOINT

Doar pentru diagnosticul *in vitro*.

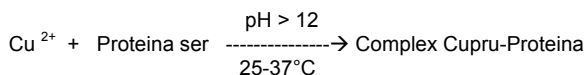
CONTINUT

1153005 Proteina Totala 2x50 ml
1153010 Proteina Totala 4x100 ml
1153020 Proteina Totala 4x250 ml

REF

PRINCIPIU

In reactia biuret compusul chelat se formeaza intre Cu^{2+} ion si legaturi peptidice ale proteinelor in solutie alcalina formand astfel un complex colorat al carei absorbanta este masurat fotometric. Intensitatea culorii produse este proportionala cu concentratia proteinei din proba.¹⁻²



COMPOZITIA REACTIVULUI

R1 Biuret reactiv. Sulfat cupric 6 mmol/L, sodiu-potasiu-tartrat 21 mmol/L, iodat de potasiu 6 mmol/L, hidroxid de sodiu 0.75 mol/L. **C R:34 S:26-45.**

CAL Proteina standard. Ser de albumina bovina 7 g/dL (70g/L). Standardul secundar care poate fi urmarit cu SRM 927.

PASTRARE SI STABILITATE

Se pastreaza la temperaturi de 2-8°C.

Reactivul si standardul sunt stabili pana la data expirarii inscrisa pe eticheta.

PREPARAREA REACTIVULUI

Serul, EDTA sau plasma heparinica si exudati.

Proteina totala este stabila in ser si plasma timp de 1 saptamana la temperatura camerei, pentru cel putin o luna se refrigereaza la 2-8°C, iar pentru aproximativ 2 luni la -29°C.

INTERFERENTE

- Probe puternic hemolitice sau probe lipemice conduc la o interferenta pozitiva.
- Dextrani folositi pentru a mari volumul de plasma in tratarea hipotensiunii, complex de cupru si tartrat formand un precipitat.

MATERIALE FOLOSITE

- Fotometru sau colorimetru capabile sa masoare absorbanta la 540 ± 20 nm.
- Temperatura constanta in incubator setata la 37°C
- Pipete pentru masurarea reactivilor si probelor.

METODA DE LUCRU

1. Pipetati in tuburile test:

TUBURI	Blanc	Proba	Standard
Biuret	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL
Proba	-	20 μ L	-
Standard	-	-	20 μ L

2. Amestecati si incubati tuburile 10 minute la 37°C.

3. Cititi absorbanta (A) a probelor si a standardului la 540 nm fata de reactivul blanc.

Culoarea este stabila timp de o ora.

METODA DE CALCUL

$$\frac{A_{\text{Proba}}}{A_{\text{Standard}}} \times C_{\text{Standard}} = \text{g/dL proteina totala}$$

In cazul in care rezultatele trebuie sa fie exprimate in unitati SI se aplica formula:

$$\text{g/dL} \times 10 = \text{g/L}$$

VALORI DE REFERINTA

Ser, plasma

Adulti	6.6-8.7 g/dL (66-87 g/L)
Prematuri	3.6-6.0 g/dL (36-60 g/L)
Nou-nascuti	5.3-8.9 g/dL (53-89 g/L)
Sarcina	Concentratia scade de la 69 la 61 g/L

Totalul de proteina din ser scade de la 4 la 8 g/L cu pacientul culcat pe spate decat cu pacientul din ambulatoriu.

Plasma

Proteina din plasma este de 2 pana la 4 g/L mai mare datorita prezentei de fibrinogen din proba.

Se recomanda ca fiecare laborator sa-si stabileasca propriile valori de referinta.

CONTROL DE CALITATE

Folosirea de standard in calcularea rezultatelor permite obtinerea unui rezultat corect independent de sistem sau de instrumentalul folosit. Pentru a asigura o calitate adecvata (QC) fiecare analiza ar trebui sa includa un set de controale (normale si anormale) avand valorile analizelor tratate ca necunoscuta.

REF 1980005 MULTISER UMAN NORMAL
Nivel scazut de proteina totala. Analiza.

REF 1985005 MULTISER UMAN ABNORMAL.
Nivel ridicat de proteina totala. Analiza.



SEMNFICATIA MEDICALA

Continutul proteinelor solubile din ser, acelea care circula in fluidele intracelulare si extracelulare, a fost folosit ca un marker ce ajuta la diagnosticul medical. Principalele teste de diagnostic sunt acelea care masoara proteina totala din ser si albumina din ser.

Proteina totala din ser incluzand aici si albumina este mai ales implicata in mentinerea distributiei normale de apa dintre tesuturi si sange si este responsabila de mentinerea presiunii oncotice a plasmei si este folosita in transportul a multor substante incluzand macromoleculele.

Hiperproteinemia sau *hiperalbuminemia*, in general apare in cazul mielomului multiplu cauzat de nivele ridicate de imunoglobulina monoclonala, dehidratare, pierderi de apa excesive ca in cazul varsaturilor severe, diaree, boala Addison sau acidoza diabetica. Hemoconcentratia, scaderea volumului de apa din plasma, se proiecteaza ca fiind o hiperproteinemie relativa din moment ce concentratia de proteine in plasma la toti indivizii sunt ridicate la acelasi nivel.

Hipoproteinemie sau *hipoalbuminemia* apare in general in caz de endem, malnutritie, sindrom nefrotic, malabsorbție si ciroza severa. Din moment ce albumina este prezenta in concentratii atat de mari nivelele scazute ale concentratiei de proteina pot de asemenea cauza hipoproteinemie.

PERFORMANTA ANALITICA

- **Linearitate.** Pana la 12 g/dL
- **Precizie:**

mg/dL	In timpul analizei*			Intre analize**		
Mean	4.91	5.76	7.22	4.91	5.76	7.3
SD	0.03	0.03	0.06	0.03	0.029	0.02
CV%	0.61	0.52	0.83	0.67	0.5	0.27
N	10	10	10	10	10	10

*Replicati: 10 pentru fiecare nivel

Instrument: CECIL CE 2021

**Replicati: 10 pentru fiecare nivel timp de 8 zile

- **Sensibilitate:** Folosind 1:50 proba/reactiv la 540 nm, 1 g de proteina va produce o absorbanta neta de aproximativ 0.076.

- **Corelare:** Acest amestec (y) a fost comparat cu o metoda comerciala similara (x). Rezultatele au fost:

$$N = 25 \quad r = 0.985 \quad y = 0.962 + 0.2727x$$

REFERINTE

1. Gornall, A.G., Bardawill, C.S., and David, M.M. J. Biol. Chem. 177 : 751 (1949).
2. Falkner, W.R., and Meites, S. Selected Methods of Clinical Chemistry, 9, 319, AACC., Washington, D.C. (1982).
3. Young, D.S., Pestaner, L.G. and Gibberman, P. Clin. Chem. 21, Vol. 5, 10-432D (1975).
4. Tietz. N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry, p. 940. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1987).