

Quantitative determination of total protein IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Proteins give an intensive violet-blue complex with copper salts in an alkaline medium. Iodide is included as an antioxidant. The intensity of the color formed is proportional to the total protein concentration in the sample^{1,4}.

CLINICAL SIGNIFICANCE

The proteins are macromolecular organic compounds, widely distributed in the organism. They act like structural and transport elements. The proteins of the serum are divided in two fractions, albumin and globulins

The determination of total proteins is useful in the detection of:

- High protein levels caused by hemoconcentration like in the dehydrations or increase in the concentration of specific proteins.
- Low protein level caused by hemodilution by an impaired synthesis or loss (as by hemorrhage) or excessive protein catabolism^{4,5}.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

| | | |
|----------------------|---------------------------------|-------------|
| R Biuret | Sodium potassium tartrate | 15 mmol/L |
| | Sodium iodide | 100 mmol/L |
| | Potassium iodide | 5 mmol/L |
| | Copper (II) sulphate | 5 mmol/L |
| | Sodium hydroxide | 1000 mmol/L |
| T PROTEIN CAL | Bovine albumin primary standard | 7 g/dL |

PRECAUTIONS

R: H314-Causes severe skin burns and eye damage. H412-Harmful to aquatic life with long lasting effects.

Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.

PREPARATION

The reagents are ready to use.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 540 nm $\geq 0,22$.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 540 nm.
- Matched cuvettes 1,0 cm light path.
- General laboratory equipment.

SAMPLES

Serum or heparinized plasma¹:

Stability of the sample: 1 month at refrigerator (2-8°C).

PROCEDURE

1. Assay conditions:
 Wavelength: 540 (530-550) nm
 Cuvette: 1 cm. light path
 Temperature: 37°C / 15-25°C
2. Adjust the instrument to zero with distilled water.
3. Pipette into a cuvette:

| | Blank | Standard | Sample |
|---------------------------------------|-------|----------|--------|
| R (mL) | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| Standard ^(Note 1,2,3) (μL) | -- | 25 | -- |
| Sample (μL) | -- | -- | 25 |

4. Mix and incubate 5 min at 37°C or 10 min at room temperature.

5. Read the absorbance (A) of the samples and Standard, against the Blank. The colour is stable for at least 30 minutes.

CALCULATIONS

$$\frac{(A)_{\text{Sample}} - (A)_{\text{Blank}}}{(A)_{\text{Standard}} - (A)_{\text{Blank}}} \times 7(\text{Standard conc.}) = \text{g/dL of total protein in the sample}$$

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES¹

Adults: 6,6 – 8,3 g/dL

Newborn: 5,2 – 9,1 g/dL

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From detection limit of 0,007 g/dL to linearity limit of 14 g/dL.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

Precision:

| | Intra-assay (n=20) | | Inter-assay (n=20) | |
|--------|--------------------|------|--------------------|------|
| | Mean (g/dL) | 6,53 | 4,89 | 6,77 |
| SD | 0,01 | 0,01 | 0,07 | 0,05 |
| CV (%) | 0,21 | 0,24 | 1,05 | 0,94 |

Sensitivity: 1 g/dL = 0,0825 A.

Accuracy: Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r): 0,97002

Regression equation $y = 0,954x + 0,511$.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

Hemoglobin and lipemia^{1,4}.

A list of drugs and other interfering substances with total protein determination has been reported by Young et. al^{2,3}.

NOTES

1. T PROTEIN CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contaminated easily.
2. Calibration with the aqueous standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
3. Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
4. **SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

BIBLIOGRAPHY

1. Koller A. Total serum protein. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1316-1324 and 418.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
4. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
5. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PACKAGING

| | | |
|--------------|-------|------------------------------|
| Ref: 1001290 | Cont. | R:2 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL |
| Ref: 1001291 | | R:2 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL |
| Ref: 1001292 | | R:1 x 1000 mL, CAL: 1 x 5 mL |

Determinación cuantitativa de proteínas totales IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

En medio alcalino, las proteínas dan un intenso color violeta azulado en presencia de sales de cobre; contiene yoduro como antioxidante. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de proteína total en la muestra ensayada^{1,4}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Las proteínas son compuestos orgánicos macromoleculares, ampliamente distribuidos en el organismo. Actúan como elementos estructurales y de transporte. Se dividen en dos fracciones, albúmina y globulinas.

Su determinación es útil en la detección de:

- Hiperproteinemia producida por hemoconcentración, deshidratación o aumento en la concentración de proteínas específicas.
- Hipoproteinemia por hemodilución debida a un defecto en la síntesis proteica, pérdidas excesivas (hemorragias) o catabolismo proteico excesivo^{4,5}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

| | | |
|----------------------|---|-------------|
| R Biuret | Potasio sodio tartrato | 15 mmol/L |
| | Yoduro sódico | 100 mmol/L |
| | Yoduro de potasio | 5 mmol/L |
| | Sulfato de cobre (II) | 5 mmol/L |
| | Hidróxido de sodio | 1000 mmol/L |
| T PROTEIN CAL | Patrón primario de Albúmina Bovina 7 g/dL | |

PRECAUCION

R: H314-Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H412-Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACION

Los reactivos están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 540 nm $\geq 0,22$.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ó analizador para lecturas a 540 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma heparinizado¹.

Estabilidad de la muestra: 1 mes en nevera a (2-8°C).

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:
 Longitud de onda: 540 (530 -550) nm
 Cubeta: 1 cm paso de luz
 Temperatura: 37°C / 15-25°C
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
3. Pipetear en una cubeta:

| | Blanco | Patrón | Muestra |
|-------------------------------------|--------|--------|---------|
| R (mL) | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| Patrón ^(Nota 1,2,3) (µL) | -- | 25 | -- |
| Muestra (µL) | -- | -- | 25 |

4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C o 10 minutos a Tª ambiente.
5. Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

CÁLCULOS

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 7 \text{ (Conc. Patrón)} = \text{g/dL de proteínas totales}$$

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

Adultos: 6,6 – 8,3 g/dL

Recién nacidos: 5,2 – 9,1 g/dL

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,007 g/dL hasta el límite de linealidad de 14 g/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

| | Intraserie (n= 20) | | Interserie (n= 20) | |
|--------------|--------------------|------|--------------------|------|
| Media (g/dL) | 6,53 | 4,89 | 6,77 | 5,08 |
| SD | 0,01 | 0,01 | 0,07 | 0,05 |
| CV (%) | 0,21 | 0,24 | 1,05 | 0,94 |

Sensibilidad analítica: 1 g/dL = 0,0825 A.

Exactitud: Los reactivos de SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,97002

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0,954x + 0,511$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Hemoglobina y lipemia^{1,4}.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de las proteínas^{2,3}.

NOTAS

1. T PROTEIN CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
2. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
3. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
4. **SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFÍA

1. Koller A. Total serum protein. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1316-1324 and 418.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
4. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
5. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

| | | |
|--------------|-------|-----------------------------|
| Ref: 1001290 | Cont. | R:2 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL |
| Ref: 1001291 | | R:2 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL |
| Ref: 1001292 | | R:1 x 1000 mL,CAL: 1 x 5 mL |