

TOTAL PROTEIN

روش اندازه گیری

در روش **Biuret** پیوندهای پپتیدی پروتئینها در شرایط قلیایی با یونهای مس دو ظرفیتی ایجاد کمپلکس آبی-ارغوانی می‌کند و در طول موج ۵۵۰-۵۳۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. شدت رنگ حاصل متناسب با مقدار توتال پروتئین موجود در نمونه می‌باشد:



شرایط نگهداری و پایداری معرف‌ها

معرف‌ها در دمای °C ۸-۲ تا تاریخ انقضاء مندرج بر روی ویال‌ها پایداری است، مشروط بر اینکه درب ویال‌ها بسته و آلوده نگردند. از یخ زدن معرف‌ها و نیز قرار دادن آنها در مقابل نور مستقیم خورشید خودداری شود. در صورت باز بودن درب ویال‌ها از مصرف آن بپرهیزید.

هشدارهای توصیه‌ای

قبل از شروع به کار از دستکش استفاده نمایید و اصول ایمنی کار در آزمایشگاه رعایت شود. از بلعیدن و تماس مستقیم معرف با دهان و دست و چشم‌ها خودداری شود و در صورت تماس بلافاصله با آب فراوان شستشو داده شود.

آماده سازی معرف و مواد و لوازم مورد نیاز

معرف‌ها آماده مصرف می‌باشند.

سرم فیزیولوژی (محلول سدیم کلرید ۹ گرم در لیتر)

تجهیزات معمول آزمایشگاه تشخیص پزشکی

نکات ضروری

چنانچه مقدار اندازه‌گیری شده بیشتر از ماکزیمم حد خوانش کیت باشد می‌بایست نمونه را به نسبت ۱:۴ با سرم فیزیولوژی رقیق نموده، آزمایش را تکرار و نتیجه را در عدد ۵ ضرب نمایید. جهت انجام این آزمایش از پیت‌های شیشه‌ای تمیز و سرسمپلر نو استفاده شود. وجود کدورت یا اجزاء خارجی در این معرف باعث افزایش جذب نوری بلانک در طول موج معین می‌گردد که از علائم تخریب معرف می‌باشد.

عوامل مداخله گر

کدورت	ناشی از تری گلیسیرید با غلظت بیش از ۱۰۰۰ میلی گرم دسی لیتر
بیلی روبین	با غلظت بیش از ۳۰ میلی گرم در دسی لیتر
هموگلوبین	با غلظت بیش از ۳۰ میلی گرم در دسی لیتر
گلوکز	با غلظت بیش از ۵۰۷ میلی گرم در دسی لیتر
اسید آسکوربیک	با غلظت بیش از ۳۰ میلی گرم در دسی لیتر

نمونه مورد آزمایش

جهت انجام آزمایش از سرم، یا پلاسما هیپارینه و یا EDTA دار استفاده شود. از آلوده شدن نمونه‌ها جلوگیری شود.

پروتئین توتال

(Total Protein)

BIURET

(Cat No.: BP-301128)

تک معرف

معرف تشخیصی برای تعیین آزمایشگاهی و کمی توتال پروتئین در سرم و پلاسما به روش کالریمتریک

ترکیبات معرف

Components	Concentration
Sodium Potassium tartrate	15 mmol/L
Copper II sulfate	5 mmol/L
Sodium hydroxide	1000 mmol/L

مقدمه

پروتئین توتال در آزمایش خون مقدار پروتئینهای آلبومین و گلوبولین را در ساختار کلی خون تعیین می‌کند. تاکنون حدود ۳۰۰ نوع پروتئین در پلاسما انسان شناسایی شده‌اند که اکثر آنها در کبد تولید می‌شوند. اندازه‌گیری پروتئین توتال شاخص تغییرات در سطح پروتئین است که می‌تواند ناشی از بیماری‌های مختلف باشد. اندازه‌گیری پروتئین توتال معمولاً همراه با تست‌های دیگر مانند آلبومین سرم، تست‌های کبدی یا الکتروفورز پروتئین انجام می‌شود. هیپوپروتئینمیا در سندرم نفروتیک، سیروز کبدی، خونریزی داخلی، سوختگی، اختلالات گوارشی (عدم جذب) و سوء تغذیه دیده می‌شود. هایپرپروتئینمیا به اندازه هیپوپروتئینمیا رایج نیست ولی می‌تواند به دنبال از دست رفتن آب پلاسما ناشی از اسهال و استفراغ شدید و یا به علت افزایش پروتئین‌های اختصاصی سرم مانند ایمونوگلوبولین‌ها دیده شود. همچنین ابتلا به نوع خاصی از سرطان خون به نام مولتیپل میلوما نیز باعث تجمع بیش از حد پروتئین در خون می‌شود.

TOTAL PROTEIN

دقت

Within-Run (n=20)			
	Mean (mg/dl)	S.D (mg/dl)	CV%
Sample1	4.45	0.02	0.52
Sample2	6.0	0.03	0.54

Between-Run (n=20)			
	Mean (mg/dl)	S.D (mg/dl)	CV%
Sample 1	4.45	0.05	1.17
Sample 2	6.0	0.08	1.24

مقایسه روش‌ها

در مقایسه انجام شده به منظور بررسی کیت پروتئین توتال دیپاک (Y) با یکی از متداول‌ترین کیت‌های موجود در بازار ایران (X) بر روی ۳۰ نمونه بیمار نتایج زیر به دست آمد:

$$y = 1.049x + 0.317$$

$$r = 0.992$$

References

1. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 5 thEd (2001), 584.
2. Burtis CA, Ashwood ER, Tietz NW. Tietz textbook of clinical chemistry. 5rd ed.1999
3. Gornall AG BCDM. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. J biol Chem. 1949.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. AACC Press; 2000.
5. Thomas L editor. Clinical laboratory diagnostics, 1998;
6. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. AACC Press; 2000.



پایداری توتال پروتئین در نمونه (سرم یا پلاسما)

دمای ۲۵-۲۰ °C	به مدت ۶ روز
دمای ۸-۴ °C	به مدت ۱ ماه
دمای ۲۰- °C	به مدت ۱ سال

روش اندازه‌گیری بصورت دستی

دما ۲۵ یا ۳۷ درجه سانتی‌گراد
طول موج ۵۴۶ نانومتر
قطر کت ۱ سانتی‌متر
خوانش مقابل بلانک معرف روی صفر تنظیم شود

	Sample	Calibrator	Blank
Reagent	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Calibrator	-	25 µl	-
Sample	25 µl	-	-

پس از مخلوط نمودن معرف با کالیبراتور و نمونه، در دمای مورد نظر به مدت ۵ دقیقه انکوبه نموده، سپس جذب‌ها را مقابل بلانک معرف اندازه‌گیری نمایید. حداکثر طی ۳۰ دقیقه جذب نوری استاندارد و نمونه‌ها را در برابر بلانک اندازه‌گیری نمایید.

محاسبه و ضریب تبدیل واحد

$$\text{Total Protein (g/dl)} = \frac{\Delta A \text{ Sample}}{\Delta A \text{ Cal}} \times \text{Cal. Conc.}$$

$$\text{Total Protein (g/dl)} \times 10 = \text{Total Protein (g/L)}$$

دامنه مرجع

کودکان	پسر	دختر
تا ۳۰ روزه	4.1-6.3 g/dl	4.2-6.2 g/dl
۱-۶ ماهه	4.7-6.7 g/dl	4.4-6.6 g/dl
۷ ماهه تا ۱ ساله	5.5-7.0 g/dl	5.6-7.9 g/dl
۲ تا ۱۸ ساله	5.7-8.0 g/dl	5.7-8.0 g/dl
بزرگسالان	6.6-8.0 g/dl	

کنترل کیفیت

جهت کنترل کیفی می‌توان از سرم کنترل‌ها و کالیبراتورهای معتبر استفاده نمود.

خصوصیات علمی کیت

ماکزیمم حد سنجش	16.40 g/dl
حساسیت	LOD:0.10 g/dl
	LOQ:1.60 g/dl