



TECO GRAM S.A.
Av. San Jorge 428 y 10ma.
Guayaquil - Ecuador
042396966 – 042397979 – 042396610
tecogram@gye.satnet.net

Juego de Reactivos para Proteínas Totales (Biuret)

JUEGO DE REACTIVOS PARA PROTEÍNAS TOTALES

Para la Determinación cuantitativa de la concentración en suero de proteínas totales.

INTRODUCCIÓN

Por medio de la presión osmótica, las proteínas séricas mantienen la distribución normal del agua entre la sangre y los tejidos. Las diversas fracciones de las proteínas varían independientemente y ampliamente en los procesos patológicos. Las proteínas bajas son causadas principalmente por la mala nutrición, mala síntesis, pérdidas (por hemorragias), o catabolismo excesivo de las proteínas. Los niveles elevados de proteínas son principalmente causados por la deshidratación.

La determinación de las proteínas totales en suero por medio de la reacción del color Biuret se utiliza desde 1978. En el pasado se dificultó estabilizar los iones cúpricos en medios alcalinos con la adición de tartrato sódico potásico. El presente método para la determinación cuantitativa de las proteínas totales en suero se basa en el método propuesto por la asociación americana de química clínica (AACC) y el comité nacional de patronos para laboratorios clínicos (NCCLS).

PRINCIPIOS

La reacción enzimática secuencial en el desarrollo de las proteínas totales es la siguiente:

Proteína + CU
CU-complejo proteína

PH

Alcalino

Las proteínas séricas forman un complejo coloreado azul cuando reaccionan con los iones cúpricos en medio alcalino. La intensidad del color violeta es proporcional a la concentración de proteína conocida.

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

El reactivo para proteínas totales contiene lo siguiente:
Hidróxido de sodio 600 nM, sulfato de cobre 12nM, tartrato sódico potásico 32 nM, Yoduro de potasio 30M e ingredientes no reactivos.

Estándar de proteínas totales; Albúmina bovina Fr. Con preservativo en concentración de 5.0 g/dl.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES.

- Solo para uso en diagnostico in vitro.
PRECAUCIÓN: los reactivos para diagnostico in vitro pueden ser dañinos. Manipúlese de acuerdo a un buen procedimiento de laboratorio de laboratorio y evítase la ingestión y el contacto con piel y ojos.
- Las muestras deben considerarse infecciosas y manipuladas adecuadamente.
- Evite la ingestión. No lo pipetee con la boca.

- El reactivo contiene hidróxido de sodio el cual es corrosivo. En caso de contacto con la piel enjuague con abundante agua, y si hay contacto con los ojos busque atención médica.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Almacene el reactivo a temperatura ambiente (18-25 C).

Almacene el patrón en refrigeración.

DETERIORO DEL REACTIVO

El reactivo debe desecharse si:

Presenta turbidez o presencia de un precipitado negro indica deterioro y no debe utilizarse. El reactivo debe ser claro en una solución azul claro.

RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS

- Las muestras deben ser suero libre de hemólisis.
- Hemólisis pronunciada provocarán niveles elevados de proteína tanto por el aporte de la hemoglobina como por el aumento de color.
- Los sueros lipémicos pueden dar resultados altos y deberán realizarse con blanco de muestra.
 - ◆ Agregue 3.0 ml de salina al 0.9% en un tubo.
 - ◆ Agregue 0.05ml (50ul) de muestra.
 - ◆ Ajuste el espectrofotómetro a cero con salina al 0.9%.
 - ◆ Lea y anote la absorbancia del blanco de muestra.
 - ◆ Reste la absorbancia del blanco a la absorbancia del examen.
 - ◆ Calcúlese de costumbre.
- Muestras de suero con Bromosulfaleína darán falsos resultados elevados. Las proteínas del suero son estables por una semana a temperatura ambiente (18 – 25 C) y por lo menos un mes en refrigeración (2 – 8 C. si se evita la evaporación.

SUSTANCIAS QUE INTERFIEREN

Young y colaboradores revisaron determinados números de drogas y sustancias que puede afectar la concentración de las proteínas.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

- Pipetas de precisión.
- Reloj.
- Portatubos.
- Espectrofotómetro.

INTRUCCIONES GENERALES

El reactivo para proteínas totales se utiliza tanto para un método automatizado como para el método manual con espectrofotómetro.

PROCEDIMIENTO MANUAL

1. Rotule tubos: blanco, estándar, controles, pacientes, etc.
2. Pipetee 3.0 ml de reactivo a cada tubo.
3. Agregue 0.05ml (50ul) de estándar y de paciente a los tubos respectivos y mézclelos por inversión.
4. Deje incubar a temperatura ambiente por 10 minutos.
5. Ajuste el espectrofotómetro a cero con blanco de reactivo y a 540 nm.
6. Lea y anote las absorbancias de cada tubo.

NOTA:

1. El color final es estable por 60 minutos a temperatura ambiente.
2. Los sueros con valores por encima de 60 gr/dl. deben diluirse en 1:1 con 0.9% de salina y vueltos analizar y los valores multiplicarlos por 2.
3. Volúmenes alternativos: se puede utilizar 20ul de muestra y 1.0 ml de reactivo. calcúlese de la misma manera.

LIMITES DE PROCEDIMIENTO

El reactivo es lineal hasta 15.0 gr/dl.

1. Muestre con valores por encima de los 15 gr/dl deben diluirse en 1:1 con salina y vueltos analizar, los valores multiplicarlos por 2.
2. El método de Biuret no es sensible en el rango menor de 1 gr/dl no lo utilice para orina o líquido cefalorraquídeo.

CALCULOS

Abs. de la muestra x conc. del estd. = proteínas totales
Abs. del estándar.

Ejemplo:

Absorbancia de la muestra = 0.350
Absorbancia del estándar = 0.400
Concentración del estándar = 5.0gr/dl

$0.350 \times 5 = 4.37$ gr/dl.
0.400

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda que se incluyan controles en cada corrida de exámenes. Pueden utilizarse controles comerciales de valores conocidos para el control de calidad. El valor de los controles debe confirmarse con éste método. Si falla al obtenerse el rango debido de valores eso indica deterioro del reactivo, mal funcionamiento instrumental o errores de técnica.

VALORES ESPERADOS

De 6.2 a 8.6 gr/dl.

1. Los efectos de la postura cuando se extrae la sangre varia con el individuo pero los valores en posición decúbito usualmente son inferiores a los otros en diferencia de hasta 1.2 gr/dl.
2. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal.

CARACTERISTICAS DEL EXÁMEN
1. Linealidad; de 1.0 a 15 gr/dl.

2. Comparación: UN estudio de comparación desarrollado entre este y otro basado en el miasma principia dio como resultado un coeficiente de correlación de 0.95 con una ecuación de regresión de $Y=0.86 + 1.02$.

3. Estudios de la precisión:

DENTRO DE LA CORRIDA

Valor(gr/dl)	D.S.	C.V.%
6.8	0.12	1.8
3.7	0.08	2.1

DE CORRIDA A CORRIDA

Valor(gr/dl)	D.S.	C.V.%
6.8	0.17	2.4
3.7	0.14	3.7