



Reactivos líquidos – listos para utilizar

PROTEÍNAS TOTALES

Biuret

2 reactivo

Reactivo de diagnóstico in vitro para la determinación cuantitativa de proteínas totales en suero o plasma humano, en sistemas fotométricos

REF

Cont.

D00685 5 x 50 ml 4 x 50 ml Reactivo 1
1 x 50 ml Reactivo 2

D94683 1 x 3 ml Estándar de Proteínas Totales
D98485 5 x 3 ml Calibrador Diacon Auto
D98481 12 x 5 ml Control Normal Diacon N
D98482 12 x 5 ml Control Anormal Diacon P

PARÁMETROS DE PRUEBA

Método: Colorimétrico, Punto final, Reacción de Incremento, Biuret
Longitud de onda: 540 nm, 546 nm de Hg
Temperatura: 20 - 25° C, 37° C
Muestra: Suero o plasma
Linealidad: hasta 15 g/dl
Sensibilidad: El límite más bajo de la detección es 0.05 g/dl

COMPOSICIÓN EL REACTIVO

COMPONENTES	CONCENTRACIÓN FINAL	
Reactivo 1		
Hidróxido del sodio	80	mmol/L
Tartrato de sodio potasio	12.8	mmol/L
Reactivo 2		
Hidróxido del sodio	100	mmol/L
Tartrato de sodio potasio	16	mmol/L
Yoduro del potasio	15	mmol/L
Sulfato de cobre	6	mmol/L

PREPARACIÓN EL REACTIVO

Inicio con Substrato:

Los reactivos están listos para usar.

Comienzo De la Muestra:

Mezclar 4 partes del Reactivo 1 con 1 parte del Reactivo 2. (= Reactivo De Trabajo).

ESTABILIDAD Y ALMACENAJE DE REACTIVOS

Condiciones: proteger contra luz
cerrar inmediatamente después de uso

Inicio con Substrato:

Almacenaje: a 2 - 25° C
Estabilidad: hasta la fecha de vencimiento

Inicio con Muestra (Reactivo De Trabajo):

Estabilidad: a 2 - 25° C 1 año
La absorbancia máxima permitida del reactivo de trabajo medida a 546 nm contra agua como referencia es 0.15.

ESTABILIDAD Y ALMACENAJE DE LA MUESTRA

Estabilidad: a 20 - 25° C 6 días
a 4 - 8° C 4 semanas
a -20° C por lo menos 1 año
Desechar los especímenes contaminados

ESTÁNDAR

(tiene que ser ordenado por separado)
Concentración: 5 g/dl
Almacenaje: 2 - 8° C
Estabilidad: hasta la fecha de vencimiento
¡CERRARSE INMEDIATAMENTE DESPUÉS DE USO!

SUSTANCIAS QUE INTERFIEREN

Ninguna interferencia hasta:

Ácido ascórbico	30 mg/dl
Bilirrubina	40 mg/dl
Hemoglobina	500 mg/dl
Triglicéridos	1000 mg/dl

MÉTODO DE PRUEBA MANUAL

Llevar los reactivos y las muestras a la temperatura ambiente.

Inicio con substrato

Pipetear en tubos de prueba	Blanco	Est./Cal	Muestra
Muestra, Est./Cal	-	20 µ	20 µ
Agua Dest.	20 µ	-	-
Reactivo 1	1000 µ	1000 µ	1000 µ
Mezclar, leer la Absorbancia A1 contra el Blanco de Reactivo luego de 1-5 min. a 20 - 25° C/37° C, luego agregar:			
Reactivo 2	250 µ	250 µ	250 µ
Mezclar, incubar por 5 min. a 20 - 25° C/37° C y leer la absorbancia A2 en los 60 min. $\Delta A = [(A2 - A1) \text{ muestra o Est./Cal}] - [(A2 - A1) \text{ Blanco}]$			

Inicio con muestra

Pipetear en tubos de prueba	Blanco	Est./Cal	Muestra
Muestra, Est./Cal	-	20 µ	20 µ
Agua Dest.	20 µ	-	-
Reactivo	1000 µ	1000 µ	1000 µ
Mezclar e incubar por 5 min. a 20 - 25° C/37° C Leer la absorbancia contra el blanco del Reactivo en los 60 min.			

CÁLCULO (paso de luz 1 centímetro)

Proteínas Totales [g/dl] = $(\Delta A \text{ Muestra} / \Delta A \text{ Est./Cal}) \times \text{Conc. Est./Cal}$ [g/dl]

CONVERSIÓN DE LA UNIDAD

g/dl x 10 = g/l

VALORES DE REFERENCIA * (g/dl)

	Mujeres	Hombres
Adultos:	6.6 – 8.8	6.6 – 8.8
Niños:	Mujeres	Hombres
1 – 30 día(s)	4.2 – 6.2	4.1 – 6.3
1 – 6 mes(es)	4.4 – 6.6	4.7 – 6.7
6 meses – 1 año	5.6 – 7.9	5.5 – 7.0
1 – 18 año(s)	5.7 – 8.0	5.7 – 8.0

* Se recomienda que cada laboratorio establezca su propia gama normal.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El principio de este análisis de proteínas totales es la reacción de Biuret.

En solución alcalina, los iones cúpricos reaccionan con todos los compuestos con cualquiera, dos amidas o enlaces peptídicos ligados directamente o a través de un átomo de carbón intermediario para formar un complejo coloreado violeta.

La intensidad de este complejo coloreado es directamente proporcional a la concentración de la proteína en la muestra.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

LINEALIDAD

La prueba es lineal a partir de 0.05 a 15 g/dl.

Si los valores se exceden las muestras deben diluirse 1 + 1 con NaCl (9 g/l del cloruro de sodio en agua) y el resultado ser multiplicado por 2.

PRECISIÓN (a 37° C)

Intra- prueba n = 20	Signific. [mg/dl]	EST. [mg/dl]	CV [%]
Muestra 1	5.41	0.05	0.92
Muestra 2	6.96	0.07	0.98
Muestra 3	10.2	0.08	0.79

Inter- prueba n = 20	Signific. [mg/dl]	EST. [mg/dl]	CV [%]
Muestra 1	5.39	0.06	1.09
Muestra 2	7.04	0.10	1.42
Muestra 3	10.4	0.13	1.25

COMPARACIÓN DEL MÉTODO

Una comparación entre las Proteínas Totales de Dialab (y) y una prueba comercialmente disponible (x) usando 59 muestras dio los resultados siguientes:

$$y = 1.00x - 0.07 \text{ g/dl}; r = 0.999.$$

CONTROL DE CALIDAD

Pueden ser utilizados todos los sueros control con los valores de Proteínas Totales determinados por este método.

Recomendamos:



D98481	12 x 5 ml	DIACON N	Control Probado Suero Normal
D98482	12 x 5 ml	DIACON P	Control Probado Suero Anormal

CALIBRACIÓN

El análisis requiere el uso de Estándar o Calibrador de Proteínas Totales.

Recomendamos:



D94683	1 x 3 ml	ESTÁNDAR DE PROTEÍNAS TOTALES	
D98485	5 x 3 ml	DIACAL AUTO	Prueba múltiple Suero de Cal.

AUTOMATIZACIÓN

Las adaptaciones especiales para los analizadores automatizados pueden ser hechas a petición.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. En suero o plasma de pacientes que han recibido grandes cantidades intravenosas de polidextranos se pueden medir valores tan altos con el método del Biuret. En tales casos se tiene que utilizar un método alternativo (e.g. Kjeldahl).
2. Los reactivos contienen hidróxido de sodio. ¡No tragar! Si los reactivos entran en contacto con la piel o las membranas mucosas ¡inmediatamente enjuagar con agua!
3. Tomar las precauciones necesarias para el uso de reactivos de laboratorio.

MANEJO DE DESECHOS

Remitirse por favor a los requisitos legales locales.

REFERENCIAS

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p.644-7.
2. Johnson Am, Rohlf's EM, Silverman LM. Proteins. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Vhemestry. 3rded. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 199.p.477-540.

