

REACTIVO DE PROTEINAS TOTALES**USO:**

Para cuantificación de proteínas totales en suero.

HISTORIA DEL METODO:

La reacción coloreada de moléculas proteicas con iones de cobre conocida como de biuret es conocida desde 1878. Ha habido intentos de estabilizar los iones cúpricos en el reactivo alcalino Kingsley modificó el proceso en 1939. Y en 1942 para incluir el uso de Sodio Potasio Tartrato como agente de complejo. El presente método se basa en tales modificaciones.

PRINCIPIO:

Proteína + Cu + + $\xrightarrow{\text{Alkali}}$ complejo coloreado.

Las proteínas en suero forman un complejo azul cuando reaccionan con el cobre en solución alcalina. La intensidad del color es proporcional a la concentración de proteínas presente al comparar con otra solución con concentración conocida de proteínas.

CONTENIDO DEL REACTIVO:

Hidróxido de Sodio 600 mM sulfato de cobre 12 mM, potasio de sodio tartrato 32 mM, yoduro de potasio 30 mM, ingredientes no reactivos.

PRECAUCIONES:

1. Este reactivo es para diagnóstico "In Vitro"
2. Evite ingestión, no pipetee con la boca. En caso de ingestión tome mucha agua y busque ayuda médica.
3. Evite el contacto con piel y ojos.

PREPARACION DEL REACTIVO:

Viene en una forma lista para usarse.

ALMACENAMIENTO:

Almacene a temperatura ambiente.

DETERIORO:

El reactivo debe ser azul claro. La turbidez o presencia de un precipitado negro indica deterioro del reactivo y no debe usarse.

COLECCION Y ALMACEN DEL ESPECIMEN:

1. Se recomienda suero no hemolizado.
2. La hemólisis ocasiona falsos resultados.
3. Los sueros lipémicos deben correrse con un blanco de suero.
A) Ponga 1.0 ml. de solución salina 0.9% en un tubo.

B) Agregue 0.02 ml. (20 ul) de muestra.

C) Ponga en cero el espectro con solución salina 0.9% (540nm)

D) Lea y anote la absorbancia de Blanco.

E) Reste la absorbancia al tubo de prueba.

F) Cálculo.

4. Las muestras con Bromosulftaleno (BSP) darán resultados falsos.
5. La proteína en suero es estable por una semana a temperatura ambiente (18-25°C) y por un mes refrigerada 2-8°C.

INTERFERENCIAS:

Vea Young con una revisión de drogas y sustancias que afectan la concentración de proteínas.

MATERIALES:

Reactivo de proteínas.

MATERIALES REQUERIDOS:

1. Instrumentos de pipeteo.
2. Reloj
3. Tubos y gradilla
4. Espectrofotómetro

PROCEDIMIENTO AUTOMATIZADO:

Vea instrucciones del instrumento.

PROCEDIMIENTO MANUAL:

1. Etiquete tubos blanco, standard, control, pacientes, etc.
2. Pipetee 1.0 ml. de reactivo en cada tubo.
3. Agregue 0.02 ml. (20 ul) de STD y paciente a los tubos apropiados y mezcle por inversión.
4. Deje los tubos a temperatura ambiente 5 minutos.
5. Ponga el espectrofotómetro en ceros a 540 nm con el suero de reactivo.
6. Haga la lectura de cada tubo.

NOTAS DEL PROCEDIMIENTO:

1. El color final es estable 60 minutos a temperatura ambiente.
2. Los sueros con valores sobre 15.0 g/dl se deben diluir 1:1 con 0.9% solución salina y la respuesta final multiplíquela por 2.
3. Volumen alternativo: 50 ul de muestra a 3.0 ml de reactivo. Los cálculos son los mismos.

CALIBRACION:

Use un standard acuoso o calibrador.

CONTROL DE CALIDAD:

Use suero control normal y anormal rutinariamente para monitorear la integridad de la Rx.

CALCULOS:

Abs. = Absorbancia

Abs. Desconocida \times *Conc. de std.* = *Proteina total(g / dl)*

Abs. STD.

Ejemplo:

Abs. desconocida=0.350

Abs. de std. =0.400

Conc. de Std. =8g/dl

Entonces:

$$\frac{0.350}{0.400} \times 8 = 7.00g / dl$$

LIMITACIONES:

1. Muestras con valores sobre 15.0g/dl se deben diluir con 0.9% solución salina y multiplicarse por 2.
2. El procedimiento de Biuret no es sensible a niveles bajos(<1g/dl).

No use para orina o fluido espinal.

VALORES ESPERADOS:

6.2-8.5 g/dl

DESEMPEÑO:

1. Linearidad 1.0-15.0 g/dl
2. Comparación. Coeficiente de correlación de 0.999 con una ecuación de regresión de $y=1.00x+0.00$
3. Precisión:

Entre pruebas

Conc.	D.E.	C.V.%
4.4	0.04	0.9
5.5	0.04	0.7

Prueba a prueba

Conc.	D.E.	C.V.%
4.5	0.05	1.1
5.6	0.10	1.8

REFERENCIAS:

1. Riegler, E., Anal Chem 53:242 (1914).
2. Kingsley, G.R. J: Biol. Chem 131:197 (1939).
3. Kingsley, G.R., J. Lab. Clin. Med. 27:840 (1942)
4. Weichselbaum, T., Amer. J. Clin. Path. 16:40 (1946).
5. Gomall, A., et al, J. Biol. Chem. 177:752 (1949).
6. Henry, R.J., et al, Clinical Chemistry: Principals and Technics, Harper y Row, New York, p. 415 (1974).
7. Young D.S., et, al, Clin. Chem. 21:1D (1975).

8. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders, Philadelphia, p. 299 (1976).

Rev. 2/90

	DISTRIBUOTOR: MYM Laboratory & Medical Supply, Inc. 8684 Ave. de la Fuente Ste. 14 San Diego CA. 92154 Tel. (619) 710-0126 Fax. (619) 710-0297 www.mymSupply.com email: mail@mymSupply.com
--------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------