

# Reactivo de Proteínas Totales

## Método del Biuret

### RESUMEN DEL PRODUCTO

Estabilidad	:	Hasta fecha caducidad a 2-25°C
Intervalo Lineal	:	Hasta 150 g/L (15 g/dL)
Tipo de muestra	:	Suero u Plasma
Método	:	Punto final
Preparación del reactivo	:	Suministrado listo para su uso

**IVD**

#### USO PREVISTO

Este reactivo está pensado para la determinación cuantitativa in vitro de las proteínas totales en el suero o plasma humano en sistemas químicos clínicos tanto automáticos como manuales.

#### RELEVANCIA CLÍNICA<sup>1</sup>

Las proteínas totales resultan útiles para realizar el seguimiento de los cambios totales de los niveles de proteínas causados por diversos estados de enfermedad. Generalmente se realiza junto con otras pruebas tales como la seroalbúmina, las pruebas de la función hepática o la electroforesis de proteínas. Con frecuencia se calcula una proporción de albúmina/globulina a fin de obtener información adicional.

Se encuentran un aumento de los niveles durante la deshidratación, el mieloma múltiple y las enfermedades hepáticas crónicas, mientras que un descenso de niveles es propio de la enfermedad renal y del fallo hepático terminal.

#### METODOLOGÍA

Los métodos que se han ideado para la determinación de las proteínas totales incluyen la medición de la densidad, el índice de refracción, la absorbancia de la luz en la región ultravioleta y la reacción de las proteínas con el reactivo de Folin y Ciocalteu.

Históricamente, las proteínas totales se determinaron por primera vez mediante el método de Kjeldahl, que aún hoy sigue siendo un método de referencia. La reacción del biuret se ha utilizado desde finales del siglo XIX y es el método de elección en los laboratorios clínicos debido a su simplicidad, rapidez y fiabilidad. Se han propuesto multitud de modificaciones del método del biuret. El reactivo utilizado en este procedimiento está basado en el trabajo de Goodwin, y col<sup>2</sup>, y Flack y Woollen<sup>3</sup>.

Los enlaces peptídicos de la proteína reaccionan con los iones de cobre II en solución alcalina para formar un complejo azul-violeta (la llamada reacción del biuret), complejándose cada ión de cobre con 5 ó 6 enlaces peptídicos.<sup>4</sup> Se añade tartrato como estabilizante, mientras que se utiliza yoduro a fin de prevenir la autoreducción del complejo de cobre alcalino. El color formado es proporcional a la concentración de proteínas, y se mide a 520-560 nm. Para los analizadores bicromáticos se debe fijar la longitud de onda de blanco a 600 ó 700 nm.

#### COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

Ingredientes activos	Concentración
Sulfato de cobre II	12 mmol/L
Tartrato doble de sodio y potasio	32 mmol/L
Yoduro potásico	30 mmol/L
Hidróxido sódico	600 mmol/L

pH 13,5 ± 0,1 a 20°C.

**AVISO:** No ingerir. En caso de contacto, lave abundantemente las áreas afectadas con agua. Añada una gran cantidad de agua antes de verterlo. Para información adicional consulte la Hoja de Datos de Seguridad del Reactivo de Proteínas Totales.

R34	Provoca quemaduras.
S24/25	Evítese el contacto con los ojos y la piel.
S26	En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico.

#### PREPARACIÓN DEL REACTIVO

El reactivo se suministra listo para su uso.

#### ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Cuando se almacena refrigerado a 2-25°C, el reactivo es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la botella y de la caja del kit.

### SÍMBOLOS EN EL ETIQUETADO DEL PRODUCTO

<b>EC</b> <b>REP</b>	Representante autorizado		Limitación de temperatura
<b>IVD</b>	Para uso en diagnósticos in vitro		Usar hasta/Fecha de caducidad
<b>LOT</b>	Código de lote/Número de lote		PRECAUCIÓN. Consulte las instrucciones de uso.
<b>REF</b>	Número de catálogo		Fabricado por
	Consulte las instrucciones de uso		C - Corrosivo

#### Indicios del deterioro del reactivo:

- Turbidez;
- Presencia de un precipitado;
- Absorbancia del reactivo > 0,200 a 540 nm; y/o
- Imposibilidad de obtener los valores de control dentro del intervalo asignado.

#### TOMA Y MANEJO DE LAS MUESTRAS<sup>2</sup>

**Suero:** Use suero no hemolizado.

**Plasma:** Utilice heparina.

**Almacenamiento:** Las muestras de proteínas totales se pueden almacenar durante al menos 7 días a temperatura ambiente (18-25°C) y durante al menos 1 mes a 4°C.

#### EQUIPOS ADICIONALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

- Un analizador químico clínico capaz de mantener una temperatura constante (37°C) y de medir la absorbancia a 540 nm (520 nm - 560 nm).
- Agua destilada o desionizada para la preparación de los reactivos y equipos relacionados, por ejemplo: pipetas.
- Material de control de ensayos normales y anormales.
- Un calibrador o un patrón acuoso de proteínas totales adecuado.

#### PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Se recomiendan los siguientes parámetros del sistema. El Grupo de Soporte Técnico suministra aplicaciones para los instrumentos individuales tras solicitud.

#### PARÁMETROS DEL SISTEMA

Temperatura	37°C
Longitud de onda primaria	540 nm (520-560 nm)
Tipo de ensayo	Punto final
Dirección	Incremento
Muestra: Proporción de reactivo	1:50
p.ej. Vol de muestra	5 µL
Vol de reactivo	250µL
Tiempo de incubación	600 segundos
Límites del blanco de reactivo	Bajo 0,0 AU
(540nm, paso de luz de 1cm)	Alto 0,2 AU
Linealidad	150 g/L (15 g/dL)
Sensibilidad Analítica	5,5 ΔmA por g/L
(540nm,paso de luz de 1cm)	(0,055 ΔA por g/dL)

#### CÁLCULOS

En general, el instrumento calcula los resultados de forma automática, como sigue::

$$\text{Proteínas totales} = \frac{\text{Absorbancia de desconocido}}{\text{Absorbancia del calibrador}} \times \text{Valor del calibrador}$$

#### Ejemplo:

Absorbancia del calibrador	=	0,319
Absorbancia de desconocido	=	0,396
Valor del calibrador	=	58 g/L (5,8 g/dL)

$$\text{Proteínas totales} = \frac{0,396}{0,319} \times 58 = 72 \text{ g/L}$$

$$\text{Proteínas totales} = \frac{0,396}{0,319} \times 5,8 = 7,2 \text{ g/dL}$$

#### NOTAS

1. Los volúmenes del reactivo y de la muestra se pueden alterar de forma proporcional para acomodarse a los diferentes requerimientos del espectrómetro.
2. Factor de conversión de unidades del S.I. g/L x 0,1 = g/dL.

## CALIBRACIÓN

Es necesario calibrar. Se recomienda un patrón acuoso o un calibrador basado en suero, con un valor asignado comparable con un patrón primario (p.ej. NIST o IRMM). Para la frecuencia de calibración de los instrumentos automatizados, consulte las especificaciones del fabricante del instrumento.

No obstante, la estabilidad de la calibración depende del funcionamiento óptimo del instrumento y del uso de reactivos que se hayan almacenado según las recomendaciones de la sección de estabilidad y almacenamiento de esta hoja de datos. Se recomienda recalibrar en cualquier momento si ocurre alguno de estos sucesos:-

- El número de lote del reactivo cambia.
- Se realiza un mantenimiento preventivo o se sustituye un componente crítico.
- Los valores de control han cambiado o se encuentran fuera de escala y un nuevo vial de control no rectifica el problema.

## CONTROL DE CALIDAD

Para asegurar un control de calidad adecuado, se deberían introducir controles normales y anormales como muestras desconocidas:-

- Al menos una vez al día o según lo establecido por el laboratorio.
- Cuando se utilice una nueva botella de reactivo.
- Después de realizar un mantenimiento preventivo o de sustituir un componente crítico.
- Con cada calibración.

Los resultados de control que caen fuera de los límites superior o inferior de los intervalos establecidos indican que el ensayo puede estar fuera de control.

En tales situaciones se recomiendan las siguientes acciones correctoras:

- Repetir los mismos controles.
- Si los controles repetidos están fuera de los límites, preparar suero de control fresco y repetir la prueba.
- Si los resultados aún están fuera de control, recalibrar con calibrador fresco, y después repetir la prueba.
- Si los resultados aún están fuera de control, realizar una calibración con reactivo recién preparado, y después repetir la prueba.
- Si los resultados aún están fuera de control, contacte con el Servicio Técnico o con su distribuidor local.

## LIMITACIONES

1. Se llevaron a cabo estudios para determinar el nivel de interferencia debida a la hemoglobina, bilirrubina y lipemia en un analizador químico clínico automatizado con un buen mantenimiento. Se obtuvieron los siguientes resultados:

**Hemoglobina:** No se observa interferencia debida a la hemoglobina hasta 265 mg/dL.

**Bilirrubina libre:** No se observa interferencia debida a la bilirrubina hasta 211  $\mu\text{mol/L}$  (12,3 mg/dL).

**Bilirrubina conjugada:** No se observa interferencia debida a la bilirrubina hasta 211  $\mu\text{mol/L}$  (12,3 mg/dL).

**Lipemia:** Al medirse bicromáticamente, no se observa interferencia debida a la lipemia, medida como absorbancia a 630nm, hasta 1,046 AU.

2. Young DS<sup>5</sup> ha publicado una amplia lista de medicamentos y sustancias que pueden interferir con este ensayo.

## VALORES ESPERADOS

60 - 83 g/L (6,0 - 8,3 g/dL)<sup>4</sup>

Los valores citados deberían servir únicamente como guía. Se recomienda que cada laboratorio verifique este intervalo o derive un intervalo de referencia para la población que atiende<sup>6</sup>.

## DATOS DE FUNCIONAMIENTO

Los siguientes datos se obtuvieron usando el Reactivo de Proteínas Totales en un analizador químico clínico automatizado con un buen mantenimiento.

Los usuarios deberían establecer las características de funcionamiento del producto en su analizador específico usado.

## IMPRECISIÓN

La imprecisión se evaluó a lo largo de un período de 20 días usando dos niveles de controles comerciales y siguiendo el procedimiento NCCLS EP5-T<sup>7</sup>.

Dentro de un ensayo:	NIVEL I	NIVEL II
Número de puntos de datos	80	80
Media(g/L)	58	49
Media (g/dL)	5,8	4,9
SD (g/L)	0,8	0,6
SD (g/dL)	0,08	0,06
CV (%)	1,4	1,3

Total:	NIVEL I	NIVEL II
Número de puntos de datos	80	80
Media (g/L)	58	49
Media (g/dL)	5,8	4,9
SD (g/L)	1,9	1,6
SD (g/dL)	0,19	0,16
CV (%)	3,2	3,2

## COMPARACIÓN DEL MÉTODO

Los estudios de comparación se llevaron a cabo usando un reactivo de proteínas totales disponible comercialmente similar como referencia. Se ensayaron las muestras de suero y de plasma (heparina) en paralelo y los resultados se compararon mediante una regresión de cuadrados. Se obtuvieron las siguientes estadísticas:

Número de pares de muestras	60
Intervalo de los resultados de las muestras	21-92 g/L (2,1-9,2 g/dL)
Media de los resultados del procedimiento de referencia	71,8 g/L (7,18 g/dL)
Media de los resultados del reactivo de proteínas totales	71,5 g/L (7,15 g/dL)
Pendiente	0,955
Ordenada en el origen	2,9 g/L (0,29 g/dL)
Coefficiente de correlación	0,9844

## LINEALIDAD

Cuando se realiza según las recomendaciones, el ensayo resulta lineal entre 0 y 150 g/L (0 - 15 g/dL).


## SENSIBILIDAD ANALÍTICA

Cuando se realiza según las recomendaciones, la sensibilidad de este ensayo es des 5,5 $\Delta\text{mA}$  por g/L ( 0,055 $\Delta$  A por g/dL).

## BIBLIOGRAFÍA

1. Tietz N.W., (Ed.), Textbook of Clinical Chemistry, W.B Saunders 1986; p579.
2. Goodwin J.F., et al, Automation in Anal. Chem, Technicon Sympolsia 1965, p.315-320.
3. Flack C.P. and Woollen J.W., Clin. Chem., 30, 559 (1984).
4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnosis (4th Ed.) Burtis, Ashwood & Bruns (Eds), Elsevier Saunders, 2005; 2293
5. Young DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990: 3:292-301.
6. Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Laboratory Devices. NCCLS; 1984, NCCLS Publication EP5-T.

© 2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. Hitachi is a registered trademark of Roche Diagnostics, Indianapolis, IN 46250. iLab 600 is a registered trademark of Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

 Fisher Diagnostics  
a division of Fisher Scientific Company, LLC  
a part of Thermo Fisher Scientific Inc.  
Middletown, VA 22645-1905 USA  
Phone: 800-528-0494  
540-869-3200  
Fax: 540-869-8132

 MDCI Ltd.  
Arundel House  
1 Liverpool Gardens  
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



REF

## Información de Pedidos

No de Catalogue	Configuración
TR34021/1700-250	2 x 125 mL
TR34026/1700-500	2 x 250 mL
TR34098/1700-1L	2 x 500 mL
1700-400H	4 x 100 mL (Hitachi)
TL34001	8 x 100 mL (iLab 600)
TY34001	4 x 50 mL (Hitachi)