

PROTEINA TOTAL (BIURET)

Reactivo líquido para la determinación fotométrica de Proteína Total en suero.

Para uso en el diagnóstico *in Vitro*. Apto para usar en autoanalizador.

SIGNIFICANCIA CLINICA

La concentración de proteína total es muy útil en el monitoreo de cambios que se producen en ella como consecuencia de varias patologías.

Niveles elevados se encuentran en procesos de deshidratación, mieloma múltiple, nefropatías crónicas, y niveles bajos en algunas patologías renales.

FUNDAMENTOS DEL METODO

Para la determinación de niveles de proteína total se utilizan variados métodos, entre ellos la densidad, el índice de refracción, absorbancia de la muestra en el rango ultra-violeta, y por la técnica de Folin-Ciocalteu. Originalmente se medía por el método de Kjeldahl, que actualmente se utiliza como método de referencia.

El método utilizado por VALTEK® se basa en la reacción de biuret, en la cual los enlaces peptídicos reaccionan en medio alcalino con sulfato de cobre para formar un complejo coloreado azul-violeta. El color formado se mide colorimétricamente, siendo proporcional a la cantidad de proteína presente en la muestra.

REACTIVOS

Conservados entre 4° y 25°C. y protegidos de la luz, estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Composición del Reactivo Biuret:

Sulfato de cobre II	12 mM
Tartrato de sodio y potasio	32 mM
Ioduro de potasio	30mM
Hidróxido de sodio	600 mM
Preservantes y surfactantes	c.s.

Preparación del Reactivo de Trabajo: El reactivo se provee listo para su uso. El reactivo debe ser una solución de color azul pálido, translúcida. La presencia de turbidez o precipitado negro indican que el reactivo se ha deteriorado y debe descartarse.

MUESTRA

Utilizar suero libre de hemólisis. La hemólisis visible puede elevar los resultados debido a la liberación de hemoglobina.

No utilizar plasma ya que se obtienen valores elevados por la presencia del fibrinógeno.

La muestra es estable por 1 semana a temperatura ambiente, y 1 mes a 4°C, evitando la contaminación bacteriana y la evaporación.

MATERIAL NECESARIO NO INCLUIDO

Espectrofotómetro manual o automático o fotocolorímetro de filtros con cubeta termoestable, capaz de medir absorbancia a 540 nm (rango 520 a 560 nm), cronómetro, pipetas, calibrador y sueros controles.

TECNICA MANUAL

Llevar el reactivo a la temperatura que se realizará el ensayo. Las pipetas a utilizar deben estar limpias y libres de residuos para no contaminar el reactivo.

	Blanco	Calibrador	Desconocido
Muestra (mL)	--	--	0.02
Calibrador (mL)	--	0.02	--
Reactivo (mL)	1.0	1.0	1.0

Mezclar e incubar 5 minutos a temperatura ambiente (20° a 25° C.). Leer las absorbancias a 540 nm., llevando a cero el espectrofotómetro con el blanco de reactivo. El color resultante es estable por a lo menos treinta minutos.

Adaptaciones para la aplicación de este reactivo en autoanalizadores están disponibles a solicitud. Es responsabilidad del laboratorio validar esta aplicación.

CALIBRACION

- En la calibración se recomienda utilizar calibrador sérico VALTROL-C (código 210-130), proceder de igual forma que con las muestras.
- Se recomienda recalibrar en cualquier momento que se evidencie alguno de estos acontecimientos:
 - El lote de reactivo cambia
 - Se realiza un mantenimiento preventivo del equipo
 - Los valores de control han cambiado o se encuentran fuera de escala.

CALCULOS

Factor = $\frac{\text{Concentración Calibrador}}{\text{Abs. Calibrador}}$
Proteína Total (g/dL) = Factor x Abs. Muestra

CONTROL DE CALIDAD

- Es conveniente analizar junto con las muestras sueros controles valorados para Proteína total por este método. Se recomienda la utilización de los sueros controles VALTROL-N (código 210-100) y VALTROL-P (código 210-110).
- Si los valores obtenidos para los controles se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, el reactivo y el calibrador.

- Cada laboratorio debe disponer de su propio Control de Calidad y establecer las correcciones necesarias en caso de que no se cumpla con las tolerancias permitidas para los controles.

ADVERTENCIAS Y MEDIDAS DE PRECAUCION:

- Los volúmenes indicados pueden ser alterados proporcionalmente sin alterar los resultados.
- En el caso de sueros hiperlipémicos, deberá hacerse un blanco muestra con suero fisiológico para eliminar la posible interferencia por la turbidez del suero.
- Sueros con valores sobre 10.0 g/dL deben diluirse con suero fisiológico 1:2 y multiplicar el resultado por dos.
- Muestras con bromosulfolftaleína (BSP) pueden dar resultados falsamente elevados.
- La reacción de Biuret no es sensible en rangos menores a 1 g/dL. No se recomienda su uso en orina o líquido cefaloraquídeo.
- Consultar en nuestra página WEB la ficha de seguridad de este reactivo y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación y eliminación de residuos.
- En autoanalizadores debe utilizarse contenedores de reactivos nuevos.

ESPECIFICACIONES DE DESEMPEÑO:

ESTUDIOS DE PRECISIÓN (de acuerdo a CLSI EP05-A2)

Concentración	SD Total	CV Total	SD Intracorrída	CV Intracorrída
6,50 g/dL	0,128	1,98 %	0,040	0,57 %
4,74 g/dL	0,105	2,18 %	0,027	0,62 %

ESTUDIOS DE LINEALIDAD (de acuerdo a CLSI EP 06-A)

La linealidad de este método es entre 0,94 y 9,75 g/dL. Para valores superiores a 9,75 g/dL, diluir la muestra 1:2 con suero fisiológico y el resultado obtenido se multiplica por dos.

ESPECIFICIDAD ANALÍTICA (de acuerdo a CLSI EP 07-A2)

Se evaluó la interferencia producida por la glicemia, la hemólisis, bilirrubina y la presencia de lípidos (triglicéridos) en la sangre en un analizador de la serie Mindray (BS200 e), aplicando un límite de aceptabilidad de un 5% de desviación de la media de control:

Concentración del analito	Substancia analizada (interferente)	Concentración en que la interferencia es insignificante
7,40 gr/dL	Hemoglobina	0,2 gr/dL
	Glucosa	1 gr/dL
	Bilirrubina	10 gr/dL
	Lípidos	No se pudo determinar (a 350, 500 y 1000 mg/dl mostró interferencia)

Con este método, se recomienda no utilizar muestras hemolizadas ni lipídicas.

No se han realizado estudios acerca de la contaminación cruzada en instrumentos automatizados. Se desconoce si existen problemas de contaminación cruzada posible, o de sus efectos.

Toda la información anterior se fundamenta en los resultados de los estudios realizados por VALTEK S.A., y está vigente a la fecha de su publicación.

Se puede encontrar un resumen de la influencia de los medicamentos en los análisis, consultando a Young, D.S (4).

ESTUDIOS COMPARATIVOS (de acuerdo a CLSI EP09-A2)

Los resultados de este método (y) se compararon con los de un método de referencia (x) empleando un analizador de la serie Mindray. Se obtuvo un coeficiente de correlación de 0,9772 al analizar muestras de sueros de pacientes.

Todas las marcas de fábrica, nombres de productos y nombres comerciales son de propiedad de sus respectivas empresas.

ESTUDIOS LÍMITES DE BLANCO (LoB), DETECCIÓN (LoD) Y CUANTIFICACIÓN (LoQ) (de acuerdo a CLSI EP17-A)

Como nivel 0 se utilizó se utilizó una muestra de solución fisiológica. Para el límite de cuantificación se aceptó un error total igual a 5%:

LoB: 0,01 g/dL

LoD: 0,03 g/dL

LoQ: 1,23 g/dL

Todos los datos de desempeño han sido obtenidos utilizando un autoanalizador MINDRAY de la serie BS. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o al realizar el procedimiento manualmente.

-Certificado de Conformidad y Trazabilidad disponible a solicitud

RANGOS DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de referencia en función de la población de pacientes. Los rangos de referencia que se enumeran a continuación están tomados de la bibliografía existente.

6.0 a 8.0 g/dL

PRESENTACIONES DISPONIBLES

CODIGO	CONTENIDO	
300180	Reactivo Biuret	5 x 40 mL
200180	Reactivo Biuret	5 x 40 mL

BIBLIOGRAFIA

1. Tietz, N!W. (ed) Fundamentals of Clinical Chemistry W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1976.
2. Henry, R.J., Clinical Chemistry, Principles and Technics. Harper and Row Publishers. New York, 1964.
3. Basil T. Doumas et al. Clin Chem 27(1642), 1981
4. Young D.S., effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press,1995.

REV Nº 2