

# PROTEÍNA TOTAL (UNIVIAL)

## Uso:

Para la determinación cuantitativa de la concentración de proteína total en suero humano.

## Introducción:

Proteína de suero está implicada en el mantenimiento de la distribución normal de agua entre la sangre y los tejidos a través de la presión osmótica. Baja en proteínas es causada principalmente por la desnutrición, la síntesis alterada, pérdida (como por hemorragia), o el catabolismo proteico excesivo. Los niveles elevados de proteína son causados principalmente por deshidratación.<sup>1</sup>

La determinación de la proteína total en suero hace uso de la reacción de color Biuret, conocido desde 1878. Los intentos anteriores para estabilizar los iones cúpricos en el reactivo alcalino no tuvieron éxito hasta la adición de tartrato de sodio y potasio como agente complejante.<sup>2</sup> El presente método para la determinación cuantitativa de la proteína total en suero se basa en el método propuesto por la Asociación Americana para la Química Clínica<sup>3</sup> (AACC) y el Comité Nacional de Normas de Laboratorio Clínico (NCCLS).<sup>4</sup>

## Principio:

La secuencia de reacción enzimática empleada en esta prueba de proteína total es la siguiente:



Proteína en el suero forma un complejo de color azul cuando se hace reaccionar con iones cúpricos en una solución alcalina. La intensidad de la coloración violeta es proporcional a la cantidad de proteína presente en comparación con una solución con concentración de proteína conocida.

## Composición del Reactivo:

1. Reactivo Proteína Total: Hidróxido de sodio 600 mM, Sulfato de Cobre 12 mM, Potasio Sodio Tartrato 32 mM, Yoduro de Potasio 30 mM, y los ingredientes no reactivos.

## Almacenaje y Estabilidad del Reactivo:

1. Almacenar el reactivo de proteína total a temperatura ambiente (15-30°C).

## Deterioro del Reactivo:

El reactivo debe ser desechado si hay turbidez, o la presencia de un precipitado negro, que indica el deterioro del reactivo. El reactivo debe ser una solución transparente, de color azul pálido.

## Advertencias y Precauciones

- Para el uso de diagnóstico in vitro. PRECAUCIÓN: Los reactivos de diagnóstico in vitro pueden ser peligrosos. Manipular acuerdo con los procedimientos de laboratorio que determinan evitar la ingestión y contacto con la piel o los ojos.
- Las muestras deben ser consideradas infecciosas y manejadas adecuadamente.
- Evite la ingestión. No pipetear con la boca.
- El reactivo contiene hidróxido de sodio, que es corrosivo. En caso de contacto con la piel, lavar con agua. Para los ojos, busque atención médica.

## Recolección de la Muestra:

1. Los especímenes de prueba deben ser suero y libre de hemólisis.

2. Hemólisis en bruto causará resultados elevados debido a la liberación de hemoglobina, así como el incremento en el color de fondo.

3. Sueros lipémicos ocasionarán resultados elevados y se deben ejecutar con un blanco de suero.

- Colocar 1.0 mL 0.9% de solución salina en tubo de ensayo.
- Añadir 0.02 mL (20 µL) de la muestra.
- Cero el espectrofotómetro con el 0.9% de solución salina.
- Leer y anotar la absorbancia del blanco de suero.
- Reste la absorbancia del blanco de prueba de absorbancia.

f. Calcule de la forma habitual.

4. Las muestras con bromosulfotaleína (BSP darán como resultado resultados elevados falsos).<sup>5</sup>

Proteína en suero es estable por una (1) semana a temperatura ambiente (15-30°C) y por lo menos un (1) mes refrigerado (2-8°C) cuando es protegido contra la evaporación.

## Materiales Requeridos pero no Provistos:

- Pipetas de Precisión (3 mL, 50 µL)
- Cronómetro
- Tubos de ensayo/estante
- Espectrofotómetro

## Instrucciones Generales:

El reactivo para la proteína total puede utilizarse como un procedimiento automatizado en instrumentos de química o como un procedimiento manual en un espectrofotómetro adecuado.

## Procedimiento Automatizado:

Consulte el manual de aplicación apropiado disponible.

## Procedimiento Manual.

- Etiquete los tubos como en blanco, estándar, control, paciente, etcétera.
- Pipetear 3.0 mL de reactivo en cada tubo.
- Añadir 0.05 mL (50 µL) del estándar y los pacientes a los tubos apropiados y mezclar por inversión.
- Mantenga los tubos en reposo a temperatura ambiente (15-30°C) por diez (10) minutos.
- Establecer espectrofotómetro a 540 nm y cero el instrumento con un blanco de reactivo. (Rango de longitud de onda: 500 a 550nm).
- Leer y registrar la absorbancia de cada tubo.

\* UN CALIBRADOR MULTIUSO SE PUEDE UTILIZAR PARA REEMPLAZAR EL ESTÁNDAR.

**Nota:** El color final es estable por sesenta minutos a temperatura ambiente.

## Volúmenes Alternos:

20 µL (0.02 mL) muestra a 1.2 mL de reactivo. Cálculos permanecen igual.

## Limitaciones:

- El reactivo es lineal a 15.0 g/dL. Las muestras con valores superiores a 15.0 g/dL se deben diluir 1:1 con salina al 0.9%, vuelve a analizar, y el resultado multiplicarlo por dos (2).
- El procedimiento de Biuret no es sensible a las gamas bajas (<1 g/dL).
- No debe utilizarse con muestras de orina o líquido cefalorraquídeo.

## Cálculos:

Abs = Absorbancia

Conc = Concentración

Abs. De Desconocido x Conc. De Estándar = Proteína Total (g/dL)

Abs. De Estándar

Ejemplo:

Abs de Desconocido = 0.350

Abs de Estándar = 0.400

Conc de Estándar = 5 g/dL

$0.350 \times 5 = 4.38 \text{ g/dL}$

0.400

## Control de Calidad:

Se recomienda que los controles se incluyan en cada serie de pruebas. Material de control disponibles comercialmente con los valores de proteína total establecidos pueden ser usados de forma rutinaria para el control de calidad. El valor asignado del material de control debe ser confirmado por la aplicación elegida. Si no se obtiene el rango apropiado de valores en el ensayo de material de control puede indicar deterioro del reactivo, mal funcionamiento del instrumento, o errores de procedimiento.

## Valores Esperados:

6.2 - 8.5 g/dL<sup>7</sup>

- El efecto de la postura, al extraer la sangre, varía con los valores individuales, valores yacientes son generalmente más bajos que ambulatorio. Las diferencias pueden ser de hasta 1.2 g/dL.
- Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores esperados.

## Características de Desempeño:

- Linealidad: 1.0 a 15.0 g/dL
- Comparación: Un estudio de comparación que se realizó entre este procedimiento y otro procedimiento basado en el mismo principio dio como resultado un coeficiente de correlación de 0.95 con una ecuación de regresión de  $y = 0.86 + 1.02x$ .
- Precisión:

## Entre Corridas:

Promedio (g/dL)	S.D.	C.V.%
6.8	0.12	1.8
3.7	0.08	2.1

## Corrida a Corrida:

Promedio (g/dL)	S.D.	C.V.%
6.8	0.17	2.4
3.7	0.14	3.7

## Referencias:

- Peters. T. and Biamontc. G.T., Selected Methods for the Small Clinical Chemistry Laboratory. Faulber. W.R., and Meites. S., Ed.
- Gornall. A. et al. J. Clin. Chem. 177:751 (1949).
- Doumas. 13.T., et al.: Clin. Chem. 27:1642 (1981).
- NCCLS Approved Standards: ACS-1. Specification for Standardized Protein Solution (Bovine Serum Albumin). 2nd ed., National Committee for Clinical Laboratory Standards. 771 E Lancaster Ave., Villanova. PA 19 - 85, (1979).
- Henry. R.I., et al. Clinical Chemistry Principles and Techniques. Harper & Row, N.Y., 415 (1974).
- Young. D.S., et al. Clin. Chem. 21 10-432, (1975).
- Tietz. NW., Fundamentals of Clinical Chemistry. W.B. Saunders. Philadelphia, PA 299, (1976).

