

PROTEINAS TOTALES

METODO BIURET

Para la determinación "in vitro" de Proteínas en suero o plasma



Principio

En disolución alcalina, las proteínas forman con los iones cobre (II) un complejo coloreado, de gran estabilidad, cuantificable espectrofotométricamente.

Reactivos

Kit 3 x 100 ml (Ref. 99 71 80). Contiene:

A. 3 x 100 ml Reactivo Biuret.

Ref. 99 96 02

B. 1 x 5 ml Standard.

Ref. 99 02 46

Las concentraciones en la disolución reactiva son:

NaOH	0,47 M
Yoduro potásico	23,3 mM
Sulfato de cobre (II)	6,5 mM
Tartrato Na-K	22,1 mM

Conservante y estabilizantes

Standard: Disolución acuosa de Proteínas equivalente a 5 g/dl. (50 g/L). Listo para su uso.

Conservación y estabilidad

El reactivo mantenido a temperatura ambiente ($\leq 25^{\circ}\text{C}$) permanecerá estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

El estándar, sin embargo, deberá conservarse a $2^{\circ} - 8^{\circ}\text{C}$.

Se aconseja, por lo tanto, sacar el Standard de la caja y guardarlo en nevera.

Muestra

Suero o plasma sin hemólisis. La muestra permanecerá estable 5 días, conservada en refrigerador a $2 - 8^{\circ}\text{C}$.

Para el uso del reactivo con otros fluidos corporales (líquido amniótico, orina, exudados, etc.) debe tenerse presente el margen de valores a detectar, variables según el tipo de muestra, y la sensibilidad del reactivo.

Precauciones

El reactivo contiene Azida sódica al 0,09%. Manipular con precaución. La eliminación de residuos debe hacerse según la normativa legal vigente.

Técnica	BL ml	ST ml	PR ml
Muestra	--	--	0,02
Standard	--	0,02	--
Reactivo	1,00	1,00	1,00

Mezclar bien y dejar 10 min. a temperatura ambiente ($20 - 25^{\circ}\text{C}$).

Lectura
Longitud de onda: 540 nm.
Blanco: el contenido de BL.
Estabilidad del color: un mínimo de 3 horas.

Cálculos
$$\frac{\text{D.O. PR}}{\text{D.O. ST}} \times 5 = \text{g de proteínas/dl}$$

Unidades S.I.
(g/dl) x 10 = g/L

Valores normales
6,6 - 8,7 g/dl

Prestaciones. Características de funcionamiento.

Sensibilidad: Límite de detección 0,10 g/dl.

La reacción es lineal hasta 12 g / dl.

Para concentraciones superiores diluir la muestra con disolución salina (NaCl 0,9 %). Multiplicar el resultado final por el factor de dilución.

Las características de funcionamiento del producto dependen tanto del reactivo como del sistema de lectura manual o automático empleados. Los siguientes datos se han obtenido de forma manual:

Coefficiente de Variación en la serie: 0,85%

Coefficiente de Variación entre series: 1,13%

Exactitud: 98,7 de porcentaje de recuperación.

Control de Calidad

Seriscann Normal (Suero control normal) (Ref. 99 41 48) y Seriscann Anormal (Ref. 99 46 85).

Autoanalizadores

Adaptaciones a distintos autoanalizadores automáticos, disponibles bajo demanda.

Bibliografía

Wiechselbaum, T.E. (1946). Am. J. Clin. Pathol., 16, 40 - 49.

Gornall, A.G., Bardawill, C.J., David, M.M. (1948). Biol. Chem., 177, 751-766.

Peters, T. (1968). Clin. Chem., 14, 1147-1159.

TOTAL PROTEINS

BIURET METHOD

For "in vitro" determination of Total Proteins in serum or plasma



Principle

At alkaline pH value proteins form a stable complex with Cu (II) ions, which is photometrically measured.

Reagents

Kit 3 x 100 ml. (Ref. 99 71 80). Contents:

A. 3 x 100 ml Biuret reagent.

Ref. 99 96 02

B. 1 x 5 ml Standard.

Ref. 99 02 46

The reagent composition is as follows:

NaOH	0.47 M
Potassium iodide	23.3 mM
Copper (II) sulphate	6.5 mM
Sodium-Potassium Tartrate	22.1 mM
Preservatives and stabilizers	

Standard. Aqueous solution of Proteins equivalent to 5 g/dl (50 g/L). Ready to use.

Storage and stability

When kept at room temperature (25°C), the reagent will remain stable until the expiration date stated on the label.

The Standard, however, should be stored at $2^{\circ} - 8^{\circ}\text{C}$.

It is therefore recommended, when using the 3x100 ml kit configuration, to take the standard out of the kit box and store it accordingly.

Sample

Serum or plasma, free from haemolysis. The sample will remain stable for up to 5 days, when kept at $2 - 8^{\circ}\text{C}$.

When using other corporal fluids as sample (amniotic liquid, urine, exudates, etc) it is advisable to take into account the margin values to test and the sensitivity of the reagent.

Caution

The reagent contains Sodium azide at 0.09%. Handle with care. The disposal of the residues has to be made according to legal local regulations.

Procedure	BL ml	ST ml	SA ml
Sample	--	--	0.02
Standard	--	0.02	--
Reagent	1.00	1.00	1.00

Mix well and let stand for 10 min. at room temperature ($20 - 25^{\circ}\text{C}$).

Reading
Wavelength: 540 nm.
Blank: BL contents.
Colour stability: a minimum of 3 hours.

Calculations
$$\frac{\text{SA O.D.}}{\text{ST O.D.}} \times 5 = \text{g of proteins/dl}$$

SI Units
(g/dl) x 10 = g/L

Normal values
6.6 - 8.7 g/dl

Performance Characteristics

Sensitivity: Detection limit 0,10 g/dl.

Reaction is linear up to values of 12 g/dl.

Concentrations higher than this value will require a prior dilution of the sample with saline (NaCl 0.9%).

Multiply by the dilution factor used.

The analytical performance characteristics of the product depend both of the reagent and the reading system used, manual or automatic. The following data have been obtained manually.

Intraserie Variation Coefficient: 0.85%

Interserie Variation Coefficient: 1.13%

Recovery: 98.7 %.

Quality control

Seriscann Normal (Normal Control Serum) (Ref. 99 41 48) and Seriscann Anormal (Abnormal Control Serum) (Ref. 99 46 85).

Autoanalyzers

Technical bulletins for different analyzers are available upon request.

References

Wiechselbaum, T.E. (1946). Am. J. Clin. Pathol., 16, 40 - 49.

Gornall, A.G., Bardawill, C.J., David, M.M. (1948). Biol. Chem., 177, 751-766.

Peters, T. (1968). Clin. Chem., 14, 1147-1159.



PROTEINES TOTALES

MÉTHODE BIURET

Pour la détermination in vitro des protéines dans le sérum ou le plasma



Principe

En milieu alcalin, les protéines réagissent avec les ions cuivre (II) pour former un complexe coloré très stable quantifiable par spectrophotométrie.

Réactifs

Kit 3 x 100 ml (Réf. 99 71 80). Contenu:

A. 3 x 100 ml Réactif Biuret. Réf. 99 96 02
B. 1 x 5 ml Étalon. Réf. 99 02 46

Les concentrations dans la solution réactive sont les suivantes:

NaOH	0,47 M
Iodure de potassium	23,3 mM
Sulfate de cuivre (II)	6,5 mM
Tartrate Na-K	22,1 mM
Conservateurs et stabilisants	

Étalon: Solution aqueuse de protéines équivalente à 5 g/dl (50 g/l).
Prêt à l'emploi.

Conservation et stabilité

Conservé à température ambiante (≤ 25 °C), le réactif est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
En revanche, l'étalon doit être conservé à une température comprise entre 2 et 8 °C.
Par conséquent, il est conseillé de sortir l'étalon de la boîte et de le mettre au réfrigérateur.

Échantillon

Sérum ou plasma non hémolysé. Conservé au réfrigérateur entre 2 et 8 °C, l'échantillon sera stable pendant 5 jours.

Pour l'utilisation du réactif avec d'autres liquides organiques (liquide amniotique, l'urine, exsudats, etc.) nous vous prions de bien vouloir noter la gamme de valeurs pour détecter des variables comme le type d'échantillon et la sensibilité du réactif.

Précautions d'emploi

Le réactif contient de l'azide de sodium à 0,09%. Manipuler avec précaution. L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux normes en vigueur.

Technique	BL ml	ÉTALON ml	ESSAI ml
Échantillon	--	--	0,02
Étalon	--	0,02	--
Réactif	1,00	1,00	1,00

Bien mélanger puis laisser 10 minutes à température ambiante (20 à 25 °C).

Lecture

Longueur d'onde: 540 nm
Blanc: le contenu de BL.
Stabilité de la coloration: 3 heures minimum.

Calculs

$\frac{DO\ ESSAI}{DO\ ÉTALON} \times 5 = \text{g de protéines/dl}$

Unités SI

(g/dl) x 10 = g/l

Valeurs normales

6,6 à 8,7 g/dl

Fonctionnement et caractéristiques de performance du dispositif

Sensibilité: Limite de détection 0,10 g / dl
La réaction est linéaire jusqu'à 12 g/dl.
Pour des concentrations supérieures, diluer l'échantillon avec une solution saline (NaCl 0,9 %). Multiplier le résultat final par le facteur de dilution.

Le fonctionnement du produit dépend tant du réactif que du système de lecture manuel ou automatique utilisé. Une technique manuelle a permis d'obtenir les données suivantes:

Coefficient de variation dans la série: 0,85 %
Coefficient de variation entre les séries: 1,13 %
Exactitude: le pourcentage de récupération est de 98,7 %.

Contrôle de qualité

Seriscann normal (Sérum contrôlé normal) (Réf. 99 41 48) et Seriscann anormal (Réf. 99 46 85).

Analyseurs automatiques

Des adaptations à différents analyseurs automatiques sont disponibles sur demande.

Bibliographie

Wiechselbaum, T.E. (1946). Am. J. Clin. Pathol., 16, 40 - 49.
Gornall, A.G., Bardawill, C.J., David, M.M. (1948). Biol. Chem., 177, 751-766.
Peters, T. (1968). Clin. Chem., 14, 1147-1159.

