

Determinazione quantitativa delle Proteine Totali nel siero o plasma. Metodo colorimetrico al Biureto. End Point.

REF CC1280 R1: 4x100 mL + R2:1x3 mL (Standard)

PRINCIPIO DEL METODO

Le proteine, in ambiente alcalino, formano con gli ioni rame (II) un complesso colorato blue-violetto.

L'intensità del colore sviluppato, misurato fotometricamente a 546 nm, è direttamente proporzionale alla quantità di proteine totali presente nel campione in esame.

SIGNIFICATO CLINICO

Le proteine sono costituenti importanti di tutte le cellule e tessuti; sono necessarie per la crescita dell'organismo, lo sviluppo e la sua salute; sono la parte strutturale della maggior parte degli organi, nonché costituiscono gli enzimi e gli ormoni che regolano le funzioni dell'organismo. Questo esame misura la quantità totale dei vari tipi di proteine nella parte liquida (plasma) del sangue.

Nel sangue esistono due classi di proteine, l'albumina e le globuline. L'albumina rappresenta circa il 60% delle proteine totali. Prodotta dal fegato, svolge una serie di funzioni, tra cui il trasporto di piccole molecole e ioni, è una fonte di aminoacidi per il metabolismo dei tessuti, ed è il principale componente implicato nel mantenimento della pressione osmotica (prevenendo la fuoriuscita di liquido dai vasi sanguigni). Il restante 40% delle proteine plasmatiche vengono chiamate globuline. Le globuline sono un gruppo eterogeneo ed includono enzimi, anticorpi, ormoni, proteine di trasporto e numerosi altri tipi di proteine. Il rapporto albumina/globuline (rapporto A/G) si ottiene dall'albumina misurata e dalle globuline calcolate (proteine totali- albumina).

La concentrazione delle proteine totali nel sangue è di solito relativamente stabile, e riflette un equilibrio nella perdita delle molecole vecchie e la produzione di nuove.

Le proteine totali possono diminuire nelle patologie:

- In cui la produzione di albumina o di globuline è compromessa, come nella malnutrizione o nelle malattie epatiche gravi
- Che accelerano il metabolismo o la perdita di proteine, come le patologie renali (sindrome nefrosica)
- Che aumentano/ espandono il volume plasmatico (diluendo il sangue) come nello scompenso cardiaco congestizio

Le proteine totali possono aumentare in seguito a:

- Sovrapproduzione di proteine (es. Condizioni infiammatorie, mieloma multiplo)
- Disidratazione

Il rapporto A/G può cambiare ogni volta che la proporzione tra albumina e altre proteine cambia (aumenta o diminuisce).

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

Reagent (R1)

Solfato di Rame	6 mmol/L
Potassio Sodio Tartrato	21 mmol/L
Ioduro di Potassio	6 mmol/L
Iodossido di Sodio	0,75 mol/L

Reagent (R2)

Standard (Proteine)	Valore riportato in etichetta
---------------------	-------------------------------

PREPARAZIONE REAGENTI E STABILITA'

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza riportata, se conservati come riportato in etichetta e si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta.

Conservare il Reagente R1 a 15 ° - 25 ° C, il Reagente R2 a 2° - 8° C

Non congelare i reagenti.

Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento come presenza di particelle e torbidità oppure mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati.

Dopo l'apertura dei flaconi, si consiglia di prelevare il volume necessario, di richiudere immediatamente i flaconi e di riportarli in frigo al fine di evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

CAMPIONI

Siero, plasma da eparina o da EDTA.

Stabilità nel siero / plasma: 1 mese a 2° - 8 °C ; 1 settimana a 15° - 25 °C ; 3 mesi at -20°C

Eliminare i campioni contaminati.

PROCEDURA

Lunghezza d'onda: 546 nm (510 - 570 nm)

Temperatura: 37° C

Misura: contro acqua distillata

Pipettare come segue:

Reagent R1	1000 µL
Campione, Std / Cal / H ₂ O	20 µL

Miscelare, incubare 5' a t.a. e leggere l'Assorbanza contro il Bianco Reagente entro 60'.

CALCOLO

$$\text{Proteine Totali} = \frac{\text{Abs Campione} - \text{Abs Bianco Reagente}}{\text{Abs Std/Cal} - \text{Abs Bianco Reagente}} \times \text{Conc. Std/Cal}$$

Fattore Conversione: Proteine (g/dL) x 10 = Proteine (g/L)

CALIBRAZIONE

I risultati dipendono dalla accuratezza della calibrazione, dal corretto settaggio del test sullo strumento, dal giusto rapporto reagente / campione e dalla corretta temperatura di analisi.

In alternativa allo standard accluso alla confezione, è possibile utilizzare e il Calibratore di MTD Diagnostics:

Chemistry Multicalibrator - REF CAL1010 (10 x 3 mL).

CONTROLLO QUALITA'

Sieri di controllo normali e patologici a concentrazione nota, devono essere analizzati regolarmente in ogni seduta analitica.

Utilizzare il materiale di controllo di qualità di MTD Diagnostics:

Chemistry Control N - REF CNN1010 10x5 mL (Livello 1)
Chemistry Control P - REF CNP1020 10x5 mL (Livello 2)

VALORI DI RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICI

Valori espressi in g/dL

Adulti:	6,6 – 8,8	
Bambini	Femmine	Maschi
1 - 30 giorni	4,2 – 6,2	4,1 – 6,3
1 – 6 mesi	4,4 – 6,6	4,7 – 6,7
6 mesi – 1 anno	5,6 – 7,9	5,5 – 7,0
1 – 18 anni	5,7 – 8,0	5,7 – 8,0

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

PRESTAZIONI

PRECISIONE:

Livello basso: Campioni= 20; Media = 4,33; D.S. = 0,05; CV = 1,2%

Livello alto: Campioni= 20; Media = 8,99; D.S. = 0,14; CV = 1,59%

ACCURATEZZA (CORRELAZIONE): Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) ha dato la seguente correlazione:

$$y = 0,99 x - 0,20 \quad r = 0,95$$

SENSIBILITA': 0,05 g/dL

LINEARITA': 0,05 – 15 g/dL

INTERFERENZE E SPECIFICITA'

Nessuna interferenza osservata con presenza nei campioni di Acido Ascorbico fino a 30 mg/dL, Bilirubina fino a 40 mg/dL, Emoglobina fino a 500 mg/dL e Trigliceridi fino a 1000 mg/dL.

NOTE

1. Questo metodo può essere utilizzato con diversi strumenti. Qualsiasi applicazione a uno strumento deve essere validata per dimostrare che i risultati soddisfano le caratteristiche di prestazione del metodo. Si consiglia di validare periodicamente lo strumento. Contattare il proprio distributore per qualsiasi domanda sul metodo di applicazione.

2. La diagnosi clinica non dovrebbe essere fatta sui risultati di un singolo risultato del test, ma dovrebbe integrare sia i dati clinici che quelli di laboratorio.

PRECAUZIONI

R1 contiene:

IDROSSIDO DI SODIO 0,75 mol/L – pH 11.5 - CAS N.: 1310-73-2 - C R35 (H314)

SOLFATO DI RAME 6 mmol/L - CAS N. 7758-98-7 -Xn N R22 (H302) R36/38 (H319 – H315) R50/53 (H400 – H410)

R22 (H302): Nocivo se ingerito

R35 (H314): Causa severe ustioni

R36/38 (H319 – H315): Irritante per gli occhi e la pelle.

R50/53 (H400 – H410): Altamente tossico per gli organismi acquatici, può provocare effetti negativi a lungo termine per l'ambiente acquatico.

Il prodotto non contiene altre sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 (CLP) ovvero le loro concentrazioni

sono tali da non essere considerate persistenti, bioaccumulanti o tossiche (PBT). Pertanto, esso non è soggetto alla etichettatura speciale prevista dalla suddetta regolamentazione. Il prodotto è etichettato secondo la direttiva per la marcatura CE (98/79/CE). Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorchè si maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 – P351 – P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 – P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 – P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali, applicando la legislazione vigente.

S63 (P304 – P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti.

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA COMPLETA AL PRODUTTORE.

SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
REF	Numero di catalogo		Scadenza
LOT	Numero di lotto		Fabbricante

BIBLIOGRAFIA

Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.

Koller A. Total serum protein. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1316-1324 and 418.

Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.

Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.