

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

REF CC1282 R1: 3x80 mL + R2: 1x60 mL + R3: 1x3 mL

PRINCIPIO DEL METODO

Test fotometrico secondo il metodo del biureto. Le proteine insieme agli ioni rame formano un complesso blu-violetto in una soluzione alcalina. L'assorbanza del colore è direttamente proporzionale alla concentrazione.

SIGNIFICATO CLINICO

Le proteine sono composti organici macromolecolari, ampiamente distribuiti nell'organismo. Agiscono come elementi strutturali e di trasporto. Le proteine del siero si dividono in due frazioni, albumina e globuline. La determinazione delle proteine totali è utile nella rilevazione di alti livelli di proteine causati da emocoagulazione come nelle disidratazione o aumento della concentrazione di proteine specifiche.

Basso livello di proteine causato da emodiluizione da una sintesi o perdita alterata (come da emorragia) o catabolismo proteico eccessivo.

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

Reagente (R1)

Ioduro di Potassio	12,8 mmol/L
Iodossido di Sodio	80 mmol/L

Reagente (R2)

Sodium hydroxide	100 mmol/L
Potassium sodium tartrate	16 mmol/L
Potassium iodide	15 mmol/L
Copper sulphate	6 mmol/L

Reagente (R3)

Standard: Valore sull'etichetta

PREPARAZIONE REAGENTI E STABILITÀ

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. Non congelare i reagenti.

Conservare i Reagenti R1 e R2 a 15 ° - 25 °C, il Reagente R3 a 2° - 8° C. Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento:

- presenza di particelle e torbidità
- mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati.

Substrate Start:

Reagenti pronto all'uso

Sample Start:

Miscelare 4 parti di R1 + 1 parte di R2

(E.g. 20 mL R1 + 5 mL R2) = Reagente di Lavoro

Stabile 60 giorni.

Scartare se appaiono segni di deterioramento

- presenza di particelle e torbidità
- mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati.
- Assorbanza del Bianco(Abs) a 540 nm > 0.150 in cuvette 1cm.

CAMPIONI

Siero, plasma

Stabilità

- 6 days at 20° - 25°C
- 4 weeks at 4° - 8°C
- at least one year at -20°C

Eliminare i campioni contaminati.

PROCEDURA

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

Misura: contro acqua distillata

Pipettare come segue:

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

Miscelare, incubare 5' a 20° - 25 °C / 37 °C e leggere l'Assorbanza contro il Bianco Reagente entro 60'.

Substrate Start procedure:

Reagent (R1)	800 µL
Std/Cal	20 µL

Sample Mix, read Absorbance (Abs₁) after 5 minutes at 37 °C, then add:

Reagent (R2) 200 µL

Mix, incubate for 5 minutes at / 37 °C and read Absorbance (Abs₂) within 60 minutes. Calculate $\Delta Abs = (Abs_2 - Abs_1)$ for sample and standard.

CALCOLO

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

CALIBRAZIONE

Utilizzare il Calibratore di MTD Diagnostics:

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

CONTROLLO QUALITÀ

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

<u>Bambini</u>	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:

Intra-assay precision n = 20	Mean [g/dL]	SD [g/dL]	CV [%]
Sample 1	5.27	0.05	0.91
Sample 2	7.05	0.07	1.01
Sample 3	10.4	0.08	0.80

Inter-assay precision n = 20	Mean [g/dL]	SD [g/dL]	CV [%]
Sample 1	5.24	0.06	1.06
Sample 2	7.07	0.11	1.53
Sample 3	10.4	0.14	1.32

ACCURATEZZA (CORRELAZIONE): Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) usando 68 campioni ha dato la seguente correlazione:

$$y = 1.00 x - 0,07 \quad r = 0.967$$

Le prestazioni analitiche sono state generate utilizzando uno strumento automatico. I risultati possono variare a seconda dello strumento.

Linearità: 0,05 – 15 g/dL

Sensibilità: 0,05 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

- Questo metodo può essere utilizzato con diversi strumenti. Qualsiasi applicazione a uno strumento dovrebbe essere convalidata per dimostrare che i risultati soddisfano le caratteristiche di prestazione del metodo. Si consiglia di validare periodicamente lo strumento. Contatta il tuo distributore per qualsiasi domanda sul metodo di applicazione.
- La diagnosi clinica non dovrebbe essere fatta sulla base dei risultati di un singolo test, ma dovrebbe integrare i dati clinici e di laboratorio.

PRECAUZIONI

R1 e R2 contengono DROSSIDO 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 allorché 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

CE	CE Mark (EC Directive 98/79)		
	In Vitro Diagnostic		Temperature Limitation
	Consult instructions for use		Contains sufficient for <n> test
	Catalog Number		Use By
	Batch Code		Manufacturer

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.