

# Reagente Proteine Totali

## Metodo Biuret

### SOMMARIO DEL PRODOTTO

Stabilità	:	Fino alla scadenza a 2-25°C
Intervallo lineare	:	Fino a 150 g/L (15 g/dL)
Tipo di campione	:	Siero, plasma
Metodo	:	Punto finale
Preparazione reagente	:	Fornito pronto per l'uso.

IVD

### USO PREVISTO

Questo reagente consente la determinazione quantitativa in vitro delle proteine totali nel siero umano o nel plasma mediante sistemi chimici clinici manuali o automatici.

### IMPORTANZA CLINICA<sup>1</sup>

Le proteine totali sono utili per monitorare variazioni consistenti dei livelli di proteine causate da diverse stati di malattia. Di norma viene eseguito congiuntamente ad altri esami come il siero albumina, esami della funzionalità epatica o elettroforesi proteica. Viene in genere calcolato un rapporto albumina/globulina per ottenere ulteriori informazioni.

Livelli elevati vengono riscontrati in caso di disidratazione, mieloma multiplo e malattie epatiche croniche, mentre livelli diminuiti vengono riscontrati in casi di malattie renali e disfunzione epatica in stato terminale.

### METODOLOGIA

I metodi concepiti per la determinazione delle proteine totali includono la misurazione della gravità specifica, indice di rifrazione, assorbimento della luce nella regione ultravioletta e reazione delle proteine con i reagenti di Folin e Ciocalteu.

Il totale delle proteine è stato misurato per la prima volta mediante il metodo Kjeldahl che rimane ancora oggi un metodo di riferimento. La reazione biuret è stata utilizzata a partire dalla fine del 19° secolo e costituisce il metodo impiegato nei laboratori clinici per via della sua semplicità, rapidità e affidabilità. Sono state proposte numerose modifiche al metodo biuret, il reagente utilizzato in questo procedimento si basa sul lavoro di Goodwin, et al.<sup>2</sup> e Flack e Woollen.<sup>3</sup>

I legami peptidici delle proteine reagiscono con gli ioni di rame II nella soluzione alcalina per formare un complesso blu-viola (la cosiddetta reazione biuret), dove ogni ione di rame complessa con 5 o 6 legami peptidici. Viene aggiunto tartrato come stabilizzante mentre è utilizzato ioduro per evitare la riduzione automatica del complesso di rame alcalino. Il colore formato è proporzionale alla concentrazione di proteine ed è misurato a 520-560 nm. Per gli analizzatori bicromatici la lunghezza d'onda blank dovrebbe essere impostata a 600-700 nm.

### COMPOSIZIONE DEL REAGENTE

#### Ingredienti attivi

	Concentrazione
Solfato di rame II	12 mmol/L
Potassio sodio tartrato	32 mmol/L
Potassio ioduro	30 mmol/L
Iodossido di sodio	600 mmol/L

pH 13,5 ± 0,1 a 20°C

**AVVERTENZA:** Non ingerire. In caso di versamento, lavare l'area interessata con abbondante acqua. Smaltire con abbondante acqua. Per ulteriori informazioni, consultare la documentazione di sicurezza del Reagente Proteine Totali.

R34 Provoca ustioni.

S24/25 Evitare il contatto con gli occhi e con la pelle.

S26 In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare un medico.

### PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Il reagente è fornito pronto per l'uso.

### STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Se conservato a una temperatura di 2-25°C, il reagente è stabile fino alla data di scadenza indicata sulla fiala e sull'etichetta del contenitore del kit.

### Indicazioni del deterioramento del reagente:

- Torbidità;
- Presenza di un precipitato;
- Assorbimento del reagente > 0,200 a 540 nm; e/o
- Mancato recupero dei valori di controllo nell'intervallo assegnato.

### SIMBOLI DI ETICHETTATURA PRODOTTO

	Rappresentante autorizzato		Limite di temperatura
	Per uso diagnostico in vitro		Usare entro/Data di scadenza
	Codice/Numero lotto		AVVERTENZA. Consultare le istruzioni d'uso.
	Numero catalogo		Prodotto da
	Consultare le istruzioni d'uso		C - Corrosivo

### RACCOLTA E MANIPOLAZIONE CAMPIONI<sup>2</sup>

**Siero:** Utilizzare siero non emolizzato.

**Plasma:** Utilizzare eparina.

**Conservazione:** I campioni di proteine totali possono essere conservati per almeno 7 giorni a temperatura ambiente (18-25°C) e per almeno 1 mese a 4°C.

### STRUMENTAZIONE AGGIUNTIVA NECESSARIA NON FORNITA

- Un analizzatore chimico clinico in grado di mantenere la temperatura costante (37°C) e misurare l'assorbimento a 540 nm (520 nm - 560 nm).
- Materiali di consumo specifici per l'analizzatore, ad es.: contenitore campioni.
- Materiale di controllo analizzato normale e anormale.
- Calibratore o uno standard acquoso per le proteine totali appropriato.

### PROCEDURA DI ANALISI

Queste istruzioni si riferiscono alla strumentazione manuale ma possono essere adattate a strumenti automatizzati selezionati. Istruzioni specifiche sono disponibili su richiesta.

### PARAMETRI DI SISTEMA

Temperatura	37°C
Lunghezza d'onda primaria	540 nm (520-560 nm)
Tipo di analisi	Punto finale
Direzione	Aumento
Campione: Rapporto reagente	1:50
ad es.: Vol. campione	5 µL
Vol. reagente	250 µL
Tempo di incubazione	600 Secondi
Limiti Blank del reagente	Basso 0,0 AU
(540nm, 1cm percorso luce)	Alto 0,2 AU
Linearità	150 g/L (15 g/dL)
Sensibilità Analitica	5,5 ΔmA per g/L
(540nm, 1cm percorso luce)	(0,055 ΔA per g/dL)

### CALCOLO

I risultati vengono solitamente calcolati automaticamente dallo strumento come segue:

$$\text{Proteina totale} = \frac{\text{Assorbimento di sconosciuto}}{\text{Assorbimento del calibratore}} \times \text{Valore Calibratore}$$

### Esempio:

Assorbimento del calibratore	=	0,319
Assorbimento di sconosciuto	=	0,396
Valore del calibratore	=	58 g/L (5,8 g/dL)

$$\text{Proteina totale} = \frac{0,396}{0,319} \times 58 = 72 \text{ g/L}$$

$$\text{Proteina totale} = \frac{0,396}{0,319} \times 5,8 = 7,2 \text{ g/dL}$$

### NOTE

1. I volumi di reagente e campione possono essere proporzionalmente variati per adattarsi ai requisiti di spettrofotometri diversi.
2. S.I. Fattore di conversione unità: g/L x 0,1 = g/dL.

### CALIBRAZIONE

La calibrazione è necessaria. Si consiglia di utilizzare un calibratore a base di siero o acquoso standard con un valore assegnato tracciabile a uno standard principale (ad esempio NIST oppure IRMM). Per la frequenza di calibrazione mediante strumenti automatizzati, fare riferimento alle specifiche tecniche dello strumento utilizzato.

In ogni caso, la stabilità di calibrazione dipende dalle prestazioni ottimali dello strumento e dall'impiego di reagenti conservati secondo le indicazioni fornite nella sezione di questo inserto relativa alla stabilità e alla conservazione. Si consiglia di effettuare una nuova calibrazione in ognuno dei seguenti casi:

- Cambiamento del numero di lotto del reagente
- Esecuzione di manutenzione preventiva o sostituzione di un componente critico.
- Cambiamento dei valori di controllo o valori fuori intervallo; problema non risolto con una nuova fiala di controllo.

#### CONTROLLO QUALITÀ\*

Per garantire un controllo qualità adeguato i controlli normali e anormali devono essere effettuati come campioni sconosciuti:-

- Almeno una volta al giorno oppure secondo quanto stabilito dal laboratorio.
- Quando si utilizza una nuova bottiglia di reagente.
- In seguito a manutenzione preventiva o sostituzione di un componente critico.
- Con ogni calibratura.

I risultati del controllo non rientranti nei limiti superiore o inferiore degli intervalli stabiliti indicano che il campione potrebbe essere fuori controllo. In tali situazioni si consiglia di effettuare le seguenti azioni correttive:

- Ripetere gli stessi controlli.
- Se i risultati dei controlli ripetuti non rientrano nei limiti, preparare del siero di controllo nuovo e ripetere la prova.
- Se i risultati continuano ad essere fuori controllo, ricalibrare con un calibratore nuovo e ripetere la prova.
- Se i risultati continuano ad essere fuori controllo, effettuare una calibrazione con reagente appena preparato, quindi ripetere la prova.
- Se i risultati risultano ancora fuori controllo, contattare l'Assistenza tecnica o il distributore locale.

#### LIMITAZIONI

1. Sono stati condotti degli studi per determinare il livello di interferenza da emoglobina, bilirubina e lipemia su un analizzatore chimico clinico automatico mantenuto in efficienza. I risultati ottenuti sono come segue:

**Emoglobina:** Nessuna interferenza da emoglobina fino a 265 mg/dL.

**Bilirubina libera:** Nessuna interferenza da bilirubina fino a 211 µmol/L (12,3 mg/dL).

**Bilirubina coniugata:** Nessuna interferenza da bilirubina fino a 211 µmol/L (12,3 mg/dL).

**Lipemia:** Se misurato biometricamente nessuna interferenza da lipemia, misurata come assorbanza a 630nm, fino a 1,046 AU.

2. Young DS<sup>®</sup> ha pubblicato un elenco completo dei farmaci e delle sostanze in grado di interferire con questo saggio.

#### VALORI PREVISTI

60 - 83 g/L (6,0 - 8,3 g/dL)<sup>4</sup>

I valori quotati devono avere scopo esclusivamente di guida. Si consiglia ad ogni laboratorio di verificare questo intervallo o di procurare un intervallo di riferimento per la popolazione a cui si riferisce<sup>5</sup>.

#### PRESTAZIONI

I dati seguenti sono stati ottenuti utilizzando il Reagente Proteine Totali su un analizzatore chimico clinico automatico mantenuto in efficienza. Le prestazioni del prodotto devono essere comunque determinate dall'utente sulla base dell'analizzatore utilizzato.

#### IMPRECISIONE

L'imprecisione è stata valutata su un periodo di 20 giorni utilizzando due livelli di controllo commerciale e seguendo la procedura NCCLS EP5-T.<sup>7</sup>

Nell'esecuzione:	LIVELLO I	LIVELLO II
Numero punti di rilevamento	80	80
Media (g/L)	58	49
Media (g/dL)	5,8	4,9
SD (g/L)	0,8	0,6
SD (g/dL)	0,08	0,06
CV (%)	1,4	1,3

Totale:	LIVELLO I	LIVELLO II
Numero punti di rilevamento	80	80
Media (g/L)	58	49
Media (g/dL)	5,8	4,9
SD (g/L)	1,9	1,6
SD (g/dL)	0,19	0,16
CV (%)	3,2	3,2

#### CONFRONTO DI METODO

Sono stati condotti degli studi utilizzando come riferimento un reagente Proteine totali simile reperibile sul mercato. I campioni di siero e di plasma (Eparina) sono stati analizzati in parallelo e i risultati confrontati con regressioni al minimo quadrato. Le statistiche ottenute sono come segue.

Numero di coppie di campioni	60
Intervallo risultati campione	21-92 g/L (2,1-9,2 g/dL)
Media risultati metodo di rif.	71,8 g/L (7,18 g/dL)
Media dei risultati del reagente Proteine totali	71,5 g/L (7,15 g/dL)
Pendenza	0,955
Intercetta	2,9 g/L (0,29 g/dL)
Coefficiente di correlazione	0,9844

#### LINEARITÀ

Quando condotto secondo le raccomandazioni, il saggio è lineare tra 0 & 150 g/L (0 - 15 g/dL).

#### SENSIBILITÀ ANALITICA

Quando condotta secondo le raccomandazioni, la sensibilità di quest'analisi è 5,5 ΔmA per g/L ( 0,055 ΔA per g/dL).

#### RIFERIMENTI

1. Tietz N.W. (Ed.), Textbook of Clinical Chemistry, W.B Saunders 1986; p579.
2. Goodwin J.F., et al, Automation in Anal. Chem, Technicon Sympolsia 1965, p.315-320.
3. Flack C.P. and Woollen J.W., Clin. Chem., 30, 559 (1984).
4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnosis (4th Ed.) Burtis, Ashwood & Bruns (Eds), Elsevier Saunders, 2005; 2293.
5. Young DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990: 3:292-301.
6. Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Laboratory Devices. NCCLS; 1984, NCCLS Publication EP5-T.



Fisher Diagnostics  
a division of Fisher Scientific Company, LLC  
a part of Thermo Fisher Scientific Inc.  
Middletown, VA 22645-1905 USA  
Phone: 800-528-0494  
540-869-3200  
Fax: 540-869-8132



MDCI Ltd.  
Arundel House  
1 Liverpool Gardens  
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



REF

#### Dati per nuovi ordini

N°. Catalogo.	Configurazione
TR34021/1700-250	2 x 125 mL
TR34026/1700-500	2 x 250 mL
TR34098/1700-1L	2 x 500 mL
1700-400H	4 x 100 mL (Hitachi)
TL34001	8 x 100 mL (iLab 600)
TY34001	4 x 50 mL (Hitachi)

© 2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. Hitachi is a registered trademark of Roche Diagnostics, Indianapolis, IN 46250. iLab 600 is a registered trademark of Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.