

Reagente Microproteine

Metodo al Benzetonio Cloruro

SOMMARIO DEL PRODOTTO

Stabilità	:	Fino alla scadenza a 2-25°C
Intervallo lineare	:	0,05 - 2,0 g/L (50 - 2000 mg/L)
Tipo di campione	:	Urina o CSF
Metodo	:	Turbidimetrica
Preparazione reagente	:	Fornito pronto per l'uso.

IVD

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		
	Xi - Irritante		
	Reagente 1		Reagente 2

USO PREVISTO

Questo reagente consente la determinazione quantitativa in vitro delle proteine nell'urina e del fluido cerebrospinale (CSF) mediante sistemi manuali o automatici.

IMPORTANZA CLINICA^{1,2}

Il ruolo del sistema renale system per la conservazione delle proteine del plasma è stato riconosciuto già da tempo. In condizioni fisiologiche normali, proteine dal basso peso molecolare come l'insulina passano attraverso i glomeruli in quantità relativamente elevate. Anche le proteine di dimensioni intermedie, come la transferrina e l'albumina, passano attraverso i glomeruli ma solo in quantità relativamente basse.

La maggior parte di tali proteine viene riassorbita nei tubuli renali, per cui l'urina normalmente contiene meno di 150 mg di proteine al giorno. Questo valore include anche le proteine di origine non sierica normalmente secrete dal tubulo distale (mucoproteina) e dai tubuli collettori. Livelli superiori di proteina urinaria (proteinuria), solitamente superiori a 0,15 g per 24 ore (150 mg/24 ore), indicano quasi sempre una disfunzione.

La proteinuria può essere classificata come proteinuria renale e proteinuria con funzioni renali normali. La proteinuria renale può essere ulteriormente classificata come proteinuria tubulare o glomerulare. La proteinuria glomerulare è causata da un aumento della permeabilità glomerulare (sindrome nefrotica) e si osserva nella nefrite glomerulare o come aspetto secondario di altre malattie, come la nefropatia diabetica. L'albumina è la proteina solitamente predominante nell'urina. La proteinuria tubulare può essere provocata da un danneggiamento tubulare renale originato da qualsiasi causa, in particolare la pielonefrite. La proteinuria tubulare provoca un modesto aumento delle proteine a basso peso molecolare, se la permeabilità glomerulare è normale. La proteinuria con funzioni renali normali può essere il risultato di un aumento fisiologico dell'escrezione di proteine o la produzione di quantità eccessivamente elevate di proteine a basso peso molecolare. Un aumento dell'escrezione di proteine si osserva durante la gravidanza, dopo un allenamento intenso o a seguito di una postura eretta mantenuta per lungo tempo. Un aumento delle proteine a basso peso molecolare può essere causato dalla produzione di proteina Bence Jones, emoglobinuria come conseguenza di una grave emolisi e mioglobinuria come conseguenza di un grave danneggiamento muscolare.

METODOLOGIA

I metodi impiegati per la determinazione delle proteine totali nell'urina includono il legame per colorante, procedure chimiche e turbidimetria, quest'ultima essendo il metodo più comunemente utilizzato³. La popolarità delle procedure turbidimetriche può essere attribuita alla semplicità d'uso e alla maggiore sensibilità.

Il kit microproteine Thermo è una procedura turbidimetrica in cui si utilizza benzetonio cloruro come agente denaturante delle proteine. Le proteine presenti nell'urina vengono denaturate dal benzetonio cloruro, causando la formazione di una sospensione fine che viene quantificata turbidimetricamente a 405 nm. Il reagente è stato modificato in modo da superare il problema dell'effetto dell'alta concentrazione (Hook), in cui concentrazioni molto elevate di proteina nell'urina possono provocare una lettura bassa o di zero apparente.⁴

COMPOSIZIONE DEL REAGENTE

Ingredienti attivi

Reagente 1:

	Concentrazione
Buffer carbonato	99,8 mmol/L
Cloruro di sodio	140 mmol/L
EDTA	32 mmol/L

Reagente 2:

Benzetonio cloruro	20 g/L
--------------------	--------

I reagenti contengono inoltre surfattanti e stabilizzatori necessari per ottimizzarne le prestazioni.

AVVERTENZA: Non mouth la pipetta. In caso di versamento, lavare l'area interessata con abbondante acqua. Il reagente contiene sodio azide che a contatto con impianti idraulici in rame e piombo può causare reazioni. Sciacquare con abbondante acqua al momento della preparazione. Per ulteriori informazioni, consultare la documentazione di sicurezza del Reagente Microproteine.

R36	Irritante per gli occhi.
S23	Non respirare i vapori.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

I reagenti sono forniti pronto per l'uso.

STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Se conservati a una temperatura fra 2 e 25°C i reagenti rimarranno stabili fino alla data di scadenza indicata sul flacone e sulle etichette applicate alla confezione.

RACCOLTA E MANIPOLAZIONE CAMPIONI

I campioni di urina conservati a 4°C sono stabili per 2-3 giorni⁵. Se si prevede un ritardo nel trasporto al laboratorio, utilizzare un conservante chimico, come ad esempio Mertiolo (0,24 mmol/L).

STRUMENTAZIONE AGGIUNTIVA NECESSARIA NON FORNITA

- Un analizzatore chimico clinico in grado di mantenere la temperatura costante e misurare l'assorbanza tra 405 e 415 nm.
- Materiali di consumo specifici per l'analizzatore, ad esempio: contenitore per campioni.
- Materiale di controllo analizzato normale e anormale.
- Campioni della proteina dell'urina, come ad esempio gli standard Thermo Microprotein (num. catalogo: TR50943).

PROCEDURA DI ANALISI

Si consiglia di attenersi ai seguenti parametri di sistema. Singole applicazioni strumentali sono fornite su richiesta dal Gruppo di assistenza tecnica.

PARAMETRI DI SISTEMA

Temperatura	Costante (Vedere nota 2)
Lunghezza d'onda primaria	405 nm (405-415 nm)
Tipo di analisi	Turbidimetrica
Direzione	Aumento
Campione: Rapporto reagente	1 : 45
ad es.: Vol. campione	8 µL
Vol. reagente 1	300 µL
Vol. reagente 2	60 µL
Tempo di ritardo (campione + R1)	30 secondi
Tempo di incubazione	360 secondi
Limiti Blank del reagente	Basso 0,00 AU
(405 nm, 1cm percorso luce)	Alto 2,00 AU
Linearità	0,05 - 2,0 g/L (50 - 2000 mg/L)

CALCOLO DEI RISULTATI

I risultati, espressi in g/L o mg/L, vengono calcolati automaticamente.

ESCREZIONE PROTEINE URINARIE SU 24 ORE

- Misurare e registrare il volume di urina in litri nell'arco di 24 ore.
- Determinare la concentrazione di proteine in g/L o mg/L utilizzando la suddetta procedura.
- Moltiplicare la concentrazione di proteine per il volume di urina nell'arco di 24 ore. Il valore risultante rappresenta l'escrezione di proteine/24 ore.

Esempio:

Volume di urina in 24 ore = 1,12 litri
 Concentrazione di proteine nell'urina = 0,13 g/L o 130 mg/L
 Escrezione di proteine nelle urine in 24 ore
 $0,13 \times 1,12 = 0,146 \text{ g/24 ore}$
 $130 \times 1,12 = 146 \text{ mg/24 ore}$

NOTA

- I volumi di reagente e campione possono essere variati in proporzione per adattarsi ai diversi requisiti dello spettrofotometro.
- La temperatura della reazione non è critica; tuttavia, la temperatura dello spettrofotometro dovrebbe essere mantenuta costante tra la temperatura ambiente e 37°C.
- L'assorbanza finale deve essere misurata entro 10 minuti.
- Conversione unità: g/L x 1000 = mg/L

CALIBRAZIONE

Per la calibrazione devono essere utilizzati standard disponibili in commercio, come ad esempio gli standard Thermo Microprotein (num. catalogo: TR50943). Thermo consiglia di calibrare ciascun ciclo con almeno 5 standard, riconducibili a materiale NIST e aventi valori compresi tra 0,1 e 2,4g/L (tra 100 e 2400 mg/L). 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 ogni otto ore.
- Quando si utilizza una nuova bottiglia di reagente.
- In seguito a manutenzione preventiva o sostituzione di un componente critico.

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

- Nei campioni contenenti concentrazioni di proteine fino a un livello di 60 g/L non è stato osservato alcun effetto "hook".
- Per un più completo resoconto dei fattori in grado di influenzare la determinazione delle proteine nell'urina, fare riferimento alla pubblicazione di Young.⁶
- È stata osservata interferenza da emoglobina ad un livello di 20 mg/dL.
- Nessuna interferenza da bilirubina fino a un livello di 26 µmol/L (1,5 mg/dL).

VALORI PREVISTI

L'escrezione urinaria di proteine normalmente è inferiore a 0,15 g/24 ore (150 mg/24 ore). Valori superiori indicano quasi sempre una disfunzione¹.

I valori indicati sono rappresentativi dell'intervallo previsto per questo metodo e hanno scopo unicamente 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.⁷

PRESTAZIONI

I dati seguenti sono stati ottenuti utilizzando il Reagente Microproteine su un analizzatore chimico clinico automatico mantenuto in efficienza. Gli utenti dovrebbero stabilire la prestazione del prodotto sui loro analizzatori specifici utilizzati.

IMPRECISIONE

Nell'esecuzione:	LIVELLO I	LIVELLO II	LIVELLO III
Numero punti di rilevamento	20	20	20
Media (g/L / mg/L)	0,184 / 184	0,510 / 510	1,750 / 1750
SD (g/L / mg/L)	0,009 / 9	0,024 / 24	0,034 / 34
CV (%)	4,9	4,7	1,9

Tra giorni:

	LIVELLO I	LIVELLO II	LIVELLO III
Numero punti di rilevamento	20	20	20
Media (g/L / mg/L)	0,182 / 182	0,505 / 505	1,757 / 1757
SD (g/L / mg/L)	0,010 / 10	0,022 / 22	0,029 / 29
CV (%)	5,5	4,4	1,7

PRECISIONE

Sono stati condotti degli studi utilizzando come riferimento un reagente simile reperibile sul mercato. I campioni di siero 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	63
Intervallo risultati campione	0,01 - 1,58 g/L (10 - 1580 mg/L)
Media risultati metodo di rif.	0,42 g/L (420 mg/L)
Media dei risultati di microproteine	0,44 g/L (440 mg/L)
Pendenza	1,14
Intercetta	-0,04 g/L (-40 mg/L)
Coefficiente di correlazione	0,992

LINEARITÀ

Quando condotta secondo le raccomandazioni, l'analisi è lineare fino a 2,0 g/L (2000 mg/L).

SENSIBILITÀ

Quando utilizzato secondo la procedura consigliata, il reagente è sensibile a un livello di 0,05 g/L (50 mg/L).

RIFERIMENTI

- Zilva JF, Pannall PR. "Plasma Proteins and Immunoglobulins" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Lloyd-Luke 1979; Chap XIV:305-29.
- First MR. "Renal Function" in Clinical Chemistry theory, analysis and correlation. Kaplan LA, Amadeo JP (Ed). CV Mosby Co. 1984; Chap 23:418.
- Koller A. "Total Urine Protein" in Clinical Chemistry theory, analysis and correlation Kaplan LA, Amadeo JP (Ed). CV Mosby Co. 1984; Chap 60: 1319-20.
- Watkins I, Jenkins L. Clinical Chemistry 1987; 33:21 27-8.
- Shephard MDS, Mazzachi RD. The Clinical Biochemist 1983; 4: 61-7.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition 1990; 3: 296-300.
- Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.



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



© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

REF

Dati per nuovi ordini

N°. Catalogo.

REAG 1

REAG 2

TR50001

1 x 125 mL

1 x 25 mL