

ABX Pentra Total Protein CP

■ Pentra C400

REF A11A01669

REAGENT 61 mL

IVD CE

HORIBA ABX SAS
Parc Euromédecine
Rue du Caducée
BP 7290
34184 Montpellier Cedex 4
FRANCE



Reagente diagnostico per la determinazione quantitativa *in vitro* delle proteine totali in siero o plasma mediante colorimetria.

Versione dell'applicazione

Siero, plasma: TP

1.xx

Uso previsto

ABX Pentra Total Protein CP è un reagente diagnostico per la determinazione quantitativa *in vitro* delle proteine totali in siero e plasma mediante colorimetria.

Le misurazioni ottenute con questo dispositivo vengono utilizzate nella diagnosi e nel trattamento di una serie di malattie che coinvolgono il fegato, i reni o il midollo osseo, così come altri disturbi metabolici o nutrizionali.

Interesse clinico (1, 2)

Il plasma sanguigno è una soluzione concentrata di proteine, il 60% delle quali è rappresentato dall'albumina. Se considerate nel loro insieme, le proteine del plasma svolgono funzioni molto diverse che variano dal mantenimento della pressione oncotica al trasporto di varie molecole. Le proteine del plasma sono coinvolte nei meccanismi complessi della coagulazione del sangue e nelle reazioni immunologiche nei confronti degli anticorpi. Gli enzimi, contenuti in piccole quantità, sono un gruppo di proteine. Un aumento della loro attività è un indicatore affidabile di lesioni cellulari.

Le variazioni del livello globale delle proteine rappresenta quindi un valore utile per l'orientamento diagnostico che deve tuttavia essere completato da un panorama più specifico.

Le ipoproteinemie riflettono livelli bassi di albumina correlati a una fuga anomala di proteine dai reni, un difetto della sintesi delle proteine (insufficienza epatica) o una malattia da carenza.

Le ipoproteinemie si osservano in particolare in associazione ai sintomi della disidratazione, ma possono anche essere causate da disglobulinemia o da mieloma.

Metodo

Analisi colorimetrica per la determinazione quantitativa delle proteine totali in siero e plasma. Questa metodologia del punto finale, semplice, rapida e precisa, è stata sviluppata e migliorata da Gornall *et al.* (1949) (3) mediante la reazione del biureto.

La reazione del biureto è stata precedentemente studiata, semplificata mediante l'utilizzo di un solo reagente di lavoro (4) e migliorata aumentando la stabilità del reagente del biureto con l'aggiunta di glicole etilenico (5), tartrato (6) o citrato (7).

Questa metodologia si basa sulla formazione, in soluzione alcalina e in presenza di ioni di rame, di un caratteristico complesso color porpora tra il biureto ($\text{NH}_2\text{-CO-NH-CO-NH}_2$) e due legami peptidici consecutivi. Il composto di coordinazione che ne deriva si assorbe principalmente nel colore blu. L'intensità della colorazione è direttamente proporzionale alla concentrazione delle proteine.

Proteine + Cu^{2+} → Complesso colorato

NB: il tartrato di sodio e potassio previene la precipitazione dell'idrossido di rame, mentre lo ioduro di potassio previene l'auto-riduzione del rame.

Reagenti

ABX Pentra Total Protein CP è pronto per l'uso.

ABX Pentra Total Protein CP

Reagente:

Potassio ioduro	6 mmol/L
Tartrato di sodio e potassio	21 mmol/L
Solfato di rame	6 mmol/L
Iodossido di sodio	58 mmol/L

ABX Pentra Total Protein CP deve essere utilizzato in conformità alle presenti indicazioni. Il produttore non garantisce le prestazioni in caso di utilizzo non conforme.

Manipolazione

1. Rimuovere il coperchio della cassetta.
2. Eliminare l'eventuale schiuma utilizzando una pipetta di plastica.
3. Collocare il coperchio protettivo (GBM0969) sulla cassetta.
4. Collocare la cassetta nel comparto reagenti refrigerato.

Calibratore

Ai fini della calibrazione, utilizzare gli elementi descritti di seguito.

ABX Pentra Multical (A11A01652) (non incluso)
10 x 3 mL (liofilizzato)

Controllo ^a

Ai fini del controllo qualità interno, utilizzare gli elementi descritti di seguito:

- **ABX Pentra N MultiControl** (1300054414) (non incluso)
10 x 5 mL (liofilizzato)
- **ABX Pentra P MultiControl** (1300054415) (non incluso)
10 x 5 mL (liofilizzato)

Analizzare ogni controllo quotidianamente e/o dopo una calibrazione.

La frequenza dei controlli e i limiti di fiducia devono essere conformi alle istruzioni di laboratorio e alle direttive specifiche del singolo paese. Per l'analisi dei materiali di controllo della qualità, attenersi alle disposizioni nazionali, regionali e locali. I risultati devono essere compresi nel range dei limiti di fiducia definiti. Ciascun laboratorio è

tenuto a fissare una procedura da seguire nel caso in cui i risultati oltrepassino detti limiti di fiducia.

Materiali necessari non in dotazione ^a

- Analizzatore automatico di chimica clinica: Pentra C400
- Calibratore: **ABX Pentra Multical** (A11A01652)
- Controlli:
 - **ABX Pentra N MultiControl** (1300054414)
 - **ABX Pentra P MultiControl** (1300054415)
- Attrezzature standard per laboratorio.

Campione ^b

La popolazione a cui è destinato questo dispositivo è la popolazione generale.

Tipi di campioni

- Siero non emolizzato.
- Plasma in litio eparina.

Gli anticoagulanti non riportati nell'elenco non sono stati testati da HORIBA Medical. Il loro utilizzo con questa analisi è pertanto sconsigliato.

Nota: l'intervallo di riferimento stabilito dipende dalla matrice scelta dall'utente. Fare riferimento al paragrafo Range di riferimento.

Stabilità (1)

- In provetta chiusa a temperatura ambiente: fino a 1 settimana
- A 4-8°C: fino a 1 mese
- Congelato: > 1 anno

Range di riferimento ^c

Ogni laboratorio deve determinare i propri range di riferimento. I valori forniti in questo documento sono puramente indicativi.

Valori per campioni di siero (2):

Pazienti ambulatoriali:	64 - 83 g/L
	6,4 - 8,3 g/dL

^aModifica: il controllo è stato rimosso.

^bModifica: modifica del paragrafo "Campione".

^cModifica: aggiunta di informazioni.

ABX Pentra Total Protein CP

Pazienti ospedalieri: 60 - 78 g/L
6,0 - 7,8 g/dL

Il siero e il plasma possono essere utilizzati per la determinazione delle proteine totali. Data la presenza di fibrinogeno, la concentrazione media totale di proteine nel plasma è più elevata rispetto al siero, come specificato di seguito (1):

Provenienza del sangue	Aumento della concentrazione di proteine dal siero al plasma
Donatori:	+ 2,5 g/L
Pazienti non ospedalizzati:	+ 3,6 g/L
Pazienti ospedalizzati:	+ 4,6 g/L
Pazienti ospedalizzati con CRP > 50 mg/dL:	+ 6,6 g/L

La sensibilità e la specificità clinica, il valore predittivo positivo e il valore predittivo negativo non vengono comunemente riportati per questo analita. Questo è in gran parte dovuto al fatto che questo analita non è l'unico indicatore per lo scopo previsto e la decisione di trattamento del paziente. Per arrivare a una diagnosi e a un corso di trattamento, è necessario utilizzare i risultati di altri esami clinici di laboratorio di routine insieme ad altre informazioni diagnostiche e alla valutazione delle condizioni del paziente da parte del medico curante.

Conservazione e stabilità

Stabilità prima dell'apertura:

Stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta se conservato a una temperatura di 2-8°C.

Stabilità dopo l'apertura:

Vedere il paragrafo "Prestazioni con Pentra C400".

Gestione dei rifiuti

Attenersi alle disposizioni locali.

Precauzioni di carattere generale ^d

- Il reagente può essere utilizzato esclusivamente da esperti a fini diagnostici *in vitro*. Per uso in laboratorio.

- Solo per l'uso previsto.
- Questo reagente è classificato come pericoloso in conformità alla direttiva (CE) 1272/2008.
- **Avvertenza**
H290: Può essere corrosivo per i metalli.
H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.
P234: Conservare soltanto nel contenitore originale.
P273: Non disperdere nell'ambiente.
P390: Assorbire la fuoriuscita per evitare danni materiali.
P406: Conservare in recipiente resistente alla corrosione provvisto di rivestimento interno resistente.
- le cassette di reagenti sono monouso e devono essere eliminate in conformità alle disposizioni locali.
- Consultare la scheda di sicurezza specifica del reagente.
- Non utilizzare il prodotto se vi sono segni evidenti di deterioramento biologico, chimico o fisico.
- Non utilizzare il prodotto in caso di mancato rispetto delle condizioni di conservazione raccomandate, inclusa la temperatura.
- L'operatore deve essere formato da un rappresentante HORIBA Medical prima di provare a utilizzare il dispositivo.
- L'utente è tenuto a verificare che il presente documento faccia riferimento al reagente utilizzato.
- Per l'assistenza tecnica, contattare il numero +33 (0)4 67 14 15 16.
- Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo dovrà essere segnalato al produttore e all'autorità competente dello stato in cui si trova l'operatore e/o il paziente.

Prestazioni con Pentra C400

Variabilità da un lotto all'altro ^e

Il recupero di campioni (siero e plasma) eseguito durante il rilascio QC di tre lotti consecutivi di reagente mostra che la variabilità tra i lotti rientra entro i limiti delle specifiche: < 10%.

Siero, plasma

I dati sulle prestazioni di seguito elencati sono rappresentativi delle prestazioni con i sistemi HORIBA Medical.

Numero di analisi: 300 analisi

^dModifica: modifica delle precauzioni di carattere generale.

^eModifica: aggiunta di un capitolo.

ABX Pentra Total Protein CP

Stabilità del reagente caricato

Una volta aperta, la cassetta dei reagenti collocata nel comparto refrigerato di Pentra C400 è stabile per 17 giorni.

Volume del campione: 2,0 µL/test

Limite di rilevabilità ^f

Il limite di rilevabilità viene determinato in base al protocollo CLSI (NCCLS), EP17-A2 (8) ed equivale a 1,6 g/L (0,16 g/dL).

Limite di quantizzazione

Il limite di quantizzazione viene determinato in base al protocollo CLSI (NCCLS), EP17-A2 (8) ed equivale a 6,00 g/L (0,60 g/dL).

Accuratezza e precisione

Ripetibilità (precisione intra-serie)

Ripetibilità in conformità alle indicazioni fornite nel protocollo Valtec (9) con campioni testati 20 volte:

- 2 controlli
- 3 campioni (livelli bassi / medi / alti)

	Valore medio g/L	Valore medio g/dL	CV %
Campione di controllo 1	51,6	5,16	1,01
Campione di controllo 2	51,7	5,17	1,24
Campione 1	42,3	4,23	1,12
Campione 2	60,6	6,06	0,87
Campione 3	79,3	7,93	0,69

Riproducibilità (precisione complessiva)

Riproducibilità in conformità alle indicazioni fornite nel protocollo CLSI (NCCLS), EP5-A2 (10) con campioni analizzati in duplice test per 20 giorni (2 serie al giorno):

- 2 controlli
- 2 campioni (livelli bassi / medi)

	Valore medio g/L	Valore medio g/dL	CV %
Campione di controllo 1	52,50	5,25	2,5
Campione di controllo 2	51,88	5,19	2,4
Campione 1	44,95	4,50	2,8
Campione 2	66,69	6,67	2,2

Intervallo di misurazione ^g

L'analisi ha confermato un intervallo di misurazione compreso tra 6,0 g/L (0,60 g/dL) e 100 g/L (10,0 g/dL). Con la post-diluizione automatica, l'intervallo di misurazione viene esteso fino a 200 g/L (20 g/dL). La linearità del reagente è stata valutata fino a 100 g/L (10,0 g/dL) secondo le raccomandazioni del protocollo CLSI (NCCLS), EP06-Ed2 (11).

Correlazione ^h

Siero sangue intero:

Campioni di pazienti: Siero

Numero di campioni paziente: 115

I campioni sono stati messi a confronto prendendo come riferimento un reagente disponibile in commercio in conformità alle indicazioni fornite nel protocollo CLSI (NCCLS), EP09c (12).

I valori presentano variazioni comprese tra 7,30 g/L (0,73 g/dL) e 96,63 g/L (9,66 g/dL).

Di seguito è riportata l'equazione per la linea allometrica ottenuta mediante la regressione di Passing-Bablok (13):

$$Y = 1,025 X + 0,348 \text{ (g/L)}$$

$$Y = 1,025 X + 0,0348 \text{ (g/dL)}$$

con coefficiente di correlazione $r^2 = 0,985$.

Plasma:

Campioni di pazienti: Plasma in litio eparina

Numero di campioni paziente: 131

I campioni sono stati messi a confronto prendendo come riferimento un reagente disponibile in commercio in conformità alle indicazioni fornite nel protocollo CLSI (NCCLS), EP09c (12).

I valori presentano variazioni comprese tra 7,02 g/L (0,70 g/dL) e 96,90 g/L (9,69 g/dL).

Di seguito è riportata l'equazione per la linea allometrica ottenuta mediante la regressione di Passing-Bablok (13):

$$Y = 0,9748 X - 0,2391 \text{ (g/L)}$$

$$Y = 0,9748 X - 0,02391 \text{ (g/dL)}$$

con coefficiente di correlazione $r^2 = 0,980$.

^fModifica: modifica del limite di rilevamento.

^gModifica: modifica dell'intervallo di misurazione.

^hModifica: modifica della correlazione.

ABX Pentra Total Protein CP

Interferenze ⁱ

Emoglobina:	Nessuna influenza significativa fino a 72,5 µmol/L (125 mg/dL).
Emoglobina:	Non utilizzare campioni emolizzati.
Trigliceridi:	Nessuna influenza significativa fino a una concentrazione di trigliceridi di 3,79 mmol/L (332 mg/dL).
Bilirubina totale:	Nessuna influenza significativa fino a 616 µmol/L (36 mg/dL).
Bilirubina diretta:	Nessuna influenza significativa fino a 616 µmol/L (36 mg/dL).

Young fornisce altri limiti sotto forma di elenco di variabili preanalitiche e farmaci noti che possono influenzare questa metodologia (14, 15).

Stabilità della calibrazione

Il reagente viene calibrato il giorno 0. Per controllare la stabilità della calibrazione, vengono analizzati 2 campioni di controllo.

La durata della stabilità della calibrazione è di 1 giorno.

Nota: si consiglia di effettuare nuovamente la calibrazione quando si cambiano i lotti di reagente e quando i risultati dei controlli della qualità non rientrano nell'intervallo stabilito.

Fattore di conversione

g/L x 0,1 = g/dL

Bibliografia

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: THBooks Verlagsgesellschaft (1998): 644-647.
2. Roberts WL, McMillin GA, Burtis CA, Bruns DE. Reference Information for the Clinical Laboratory. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th Ed., Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. (Elsevier Saunders eds. St Louis USA), (2006): 2293.
3. Gornall AG, Bardawill CJ, David MM. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction, J. Biol. Chem. (1949) **177** (2): 751-766.
4. Kingsley GR. J. Lab. and Clin. Med. (1942) **27**: 840.
5. Mehl JW. J. Biol Chem. (1945) **157**: 173.
6. Weichselbaum TE. Am. J. Clin. Path. (1946) **10**(Tech. Suppl.): 40.
7. Zecca AM. Semana Med. Buenos Aires, 2, 709 (1947); Chem. Abstr. (1948) **42**: 1621.
8. Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures. Approved Guideline, 2nd ed., CLSI (NCCLS) document EP17-A2 (2012) **32** (8).
9. Vassault A, Grafmeyer D, Naudin C et al. Protocole de validation de techniques (document B). Ann. Biol. Clin. (1986) **44**: 686-745.
10. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Method. Approved Guideline, CLSI (NCCLS) document EP5-A2 (2004) **24** (25).
11. Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures. 2nd Edition, CLSI (NCCLS) guideline EP06-Ed2 (2020) **40** (16).
12. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. Approved Guideline, 3rd ed., CLSI (NCCLS) document EP09c (2018) **38** (12).
13. Passing H, Bablok W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. (1983) **21**: 709-720.
14. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th Edition, Washington, DC, AACC Press (2000).
15. Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 2nd Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 120-132.

ⁱModifica: modifica delle interferenze.

