

Usso previsto

Determinazione quantitativa della concentrazione proteica nel siero umano utilizzando gli analizzatori Yumizen C230 e Yumizen C240. **Solo su prescrizione.**

Storia del metodo diagnostico

La reazione cromatica di molecole proteiche con ioni rameici, nota come reazione cromatica del biuretto, è nota dal 1878. Dalle pubblicazioni di Riegler¹ del 1914, sono stati fatti diversi tentativi per stabilizzare gli ioni rameici nel reagente alcalino. Kingsley^{2,3} ha modificato la procedura nel 1939 e nel 1942, prevedendo l'uso del tartrato di sodio e potassio come agente complessante. La procedura è stata successivamente modificata da Weichselbaum⁴ e Gornall.⁵ Il metodo qui presentato si basa su queste modifiche.

Principio

Proteina + Cu⁺⁺ $\xrightarrow{\text{soluzione alcalina}}$ complesso colorato

Quando reagiscono con gli ioni rameici in una soluzione alcalina, le proteine del siero formano un complesso di colore violetto. L'intensità del colore viola è proporzionale alla quantità di proteine presenti rispetto a una soluzione con concentrazione proteica nota.

Contenuto del reagente

Idrossido di sodio 600mM, Solfato di rame 12mM, Tartrato di sodio e potassio 32mM, Ioduro di potassio 30mM, Ingredienti non reattivi.

Precauzioni

1. Il reagente è destinato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*.
2. Non ingerire. NON PIPETTARE PER BOCCA. In caso di ingestione, bere grandi quantità di acqua e consultare tempestivamente un medico.
3. Evitare il contatto con pelle e occhi. Il reagente contiene idrossido di sodio che è corrosivo. In caso di contatto con la pelle, sciacquare con acqua. Per gli occhi, consultare un medico.

Preparazione dei reagenti

I reagenti vengono forniti pronti per l'uso.

Conservazione dei reagenti

Conservare i reagenti a temperatura ambiente (15-30°C). Se conservati seguendo le raccomandazioni, i reagenti sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta.

Deterioramento dei reagenti

I reagenti devono apparire come una soluzione limpida, di colore blu chiaro. Eventuali torbidità o la presenza di un precipitato nero indicano un deterioramento del reagente, che non può essere utilizzato.

Raccolta e conservazione dei campioni

1. I campioni devono preferibilmente contenere siero non emolizzato.
2. Una emolisi evidente comporta il rilevamento di valori elevati, a causa dell'emoglobina rilasciata e dell'aumento del colore di fondo.
3. I sieri lipemici comportano valori elevati. È necessario eseguire un bianco del siero.
4. I campioni con bromosolfotaleina (BSP) producono risultati falsamente elevati.⁸
5. Le proteine del siero restano stabili per una settimana a temperatura ambiente (18-25°C) e per almeno un mese in frigorifero (2-8°C), se protette contro l'evaporazione.⁶

Interferenze

Young, et al.⁷ ha esaminato una serie di farmaci e sostanze che possono interferire con il rilevamento delle concentrazioni proteiche.

Materiali in dotazione

Reagente per proteine totali

Materiali necessari non in dotazione

1. Analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
2. Manuale utente per gli analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
3. Calibratore chimico Pointe, numero di catalogo C7506-50
4. Controllo chimico Pointe, numero di catalogo C7592-100

Parametri di analisi

Analisi:	TP	Sostanza chim.:	Proteine totali
N. chim.:	229	Nome etichetta:	Proteine totali
Tipo reazione:	Endpoint	Direzione reazione:	positiva
Lungh. d'onda prim.:	546 nm	Lungh. d'onda sec.:	670 nm
Decimale:	0,1	Tipo campione:	sier
T. bianco:		T. reazione:	10 11
Unità:	g/dl	T. incubazione:	0

Vol. campione	Aspirato	Diluente	Vol. reagente	Diluente
Standard; 4	ul	ul	180 ul	u
Decremento;	ul	ul	ul	
Incremento:	ul	ul	ul	

Intervallo linearità (standard); 1.0-15.0	Limite linearità:
Intervallo linearità (decremento):	Esaurim. substrato:
Intervallo linearità (incremento):	Assorb. bianco mix: - 40000 40000
Assorb. bianco R1: - 40000 40000	Stabilità in macchina: 30 Giorni
Risposta bianco - 40000 40000	Limite allarme reagente: 5
Doppia chim.:	

Controllo eff. prozona:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Risultato qualitativo:	
Intervallo:	Val. fuori norma:

Pendenza Offset:			
Pendenza	Offset	Unità	
1	0	g/dl	

Tratt. preliminare:			
Vol. campione pretratt.:	ul	Vol. reagente pretratt.:	ul

Intervallo rif.:					
Tipo campione:	Sesso:	Intervallo età:	Intervallo rif.:	Intervallo critico:	Unità:

Kit reagenti Proteine totali (biureto) Pointe

Parametri di configurazione della calibrazione

Analisi chim.	TP			
Impostazioni calibr.		Calibratore	Conc.	Pos.
Modello mat.: Lineare a 2 punti		acqua	0,0	W
Fattore: Repliche: 2		Cal. chim.	*	*
Limiti accettabilità				
T. calibr.: 336 h				
Diff. pendenza: DS:				
Sensibilità:				
Ripetibilità: *Def. utente				
Coeff. deter.:				
Calibr. autom.				
	T. calibr.			

Calibrazione

Utilizzare un calibratore per siero con tracciabilità NIST. La procedura va calibrata seguendo le istruzioni del produttore dello strumento. Se i risultati del controllo risultano fuori range, sarà necessario effettuare una ricalibrazione.

Controllo qualità

- Utilizzare sieri di controllo con concentrazioni note di proteine totali per monitorare la bontà della reazione.
- Il controllo qualità richiesto va eseguito in conformità con le normative locali, statali e/o federali o ai requisiti di accreditamento.

Calcolo (esempio)

abs. = assorbanza

$\frac{\text{abs. camp.}}{\text{abs. std.}} \times \text{conc.} = \text{Proteine totali (g/dl)}$

abs. std. standard

Esempio: abs. camp. = 0,350; abs. standard = 0,400, standard = 5 mg/dl
concentrazione dello standard = 8 g/dl

Allora: $\frac{0,350}{0,400} \times 8 = 7,00 \text{ g/dl}$

Limitazioni

- I campioni con valori superiori a 15,0 g/dl andrebbero diluiti 1:1 con soluzione fisiologica 0,9%, nuovamente analizzati e i risultati moltiplicati per 2.
- A bassi livelli (<1 g/dl), la procedura del biureto risulta non essere sensibile. Non utilizzare per l'urina o il liquido spinale.

Valori attesi⁸

6,2 – 8,5 g/dl

- L'effetto della postura, al momento del prelievo di sangue, varia a seconda dei soggetti, ma i valori in posizione distesa sono di solito inferiori a quelli in posizione eretta. Le differenze possono arrivare a 1,2 g/dl.
- Si raccomanda che ogni laboratorio definisca il proprio intervallo di normalità.

Prestazioni

- Linearità: 1,0 – 15,0 g/dl
- Comparazione: È stato condotto uno studio comparativo tra l'impiego dell'analizzatore Yumizen serie 200 e di un analizzatore simile per l'applicazione del metodo. Si è ottenuto un coefficiente di correlazione di 0,996 e l'equazione di regressione $y=0,919x + 0,36$
- Precisione: gli studi sulla precisione sono stati condotti applicando una modifica delle linee guida contenute nel documento EP5-T2 dell'istituto NCCLS e utilizzando un analizzatore Yumizen serie 200.⁹

Intra saggio

Media	D.S.	C.V.%
4,77	0,13	2,7
7,46	0,16	2,1

Inter-giornal.

Media	D.S.	C.V.%
4,78	0,07	1,5
7,63	0,14	1,8

Riferimenti bibliografici

- Riegler, E., Anal. Chem. 53:242 (1914).
- Kingsley, G.R., J. Biol. Chem. 131:197 (1939).
- Kingsley, G.R., J. Lab. Clin. Med. 27:840 (1942).
- Weichselbaum, T., Amer. J. Clin. Path. 16:40 (1946).
- Gornall, A., et al, J. Biol. Chem. 177:752 (1949).
- Henry, R.J., et al, Clinical Chemistry: Principles and Technics, Harper & Row, New York, p.415 (1974).
- Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry Philadelphia, W.B. Saunders, pp. 299, (1976).
- Documento NCCLS "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

Legenda

Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)	LOT Codice lotto e gruppo
REF N. catalogo	Fabbricante
IVD Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	Limiti di temperatura
Consultare il manuale utente	Rx Only: utilizzare solo su prescrizione
Marchio CE	EC REP Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea

REF 12-T7528-120

Prodotto da
HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188



IVD

Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188



Rappresentante autorizzato per l'Europa:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Bruxelles, BELGIO

tel: (32)2.732.59.54 fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net

Reagenti certificati

I reagenti Pointe sono certificati per essere stati prodotti conformemente ai parametri specificati. Se entro la data di scadenza un reagente Pointe dovesse risultare non conforme alle specifiche, sarà prontamente sostituito senza alcun addebito.