

Przeznaczenie

Do ilościowego oznaczania stężenia białka całkowitego w surowicy za pomocą analizatora Yumizen C560. **Rx Only.**

Historia metody

Reakcja barwna cząsteczek białka z jonami miedzi, znana jako reakcja barwna biureta, jest znana od 1878 r. Od publikacji Rieglera¹ z 1914 r. podjęto kilka prób stabilizacji jonów miedzi w odczynniku alkalicznym. Kingsley,^{2,3} zmodyfikował tę procedurę w 1939 i 1942, dodając do niej winian sodowo-potasowy jako środek kompleksujący. Procedura ta została później zmodyfikowana przez Weichselbauma⁴ i Gornalla⁵. Obecna metoda opiera się na tych modyfikacjach.

Zasada metody

Białko + Cu⁺⁺ $\xrightarrow{\text{Środowisko zasadowe}}$ Barwny kompleks

Białko w surowicy w środowisku alkalicznym tworzy z jonami miedzi kompleks o barwie fioletowej. Intensywność fioletowego zabarwienia jest proporcjonalna do ilości obecnego białka w porównaniu z roztworem o znanym stężeniu białka.

Skład odczynnika

Wodorotlenek sodu 600mM, siarczan miedzi 12mM, winian sodowo-potasowy 32mM, jodek potasu 30mM, składniki niereaktywne.

Środki ostrożności i zagrożenia

1. Ten odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki in vitro.
2. Unikaj połknięcia. NIE PIPETOWAĆ USTAMI. W przypadku połknięcia wypić dużą ilość wody i szybko zasięgnąć porady lekarza.
3. Unikać kontaktu ze skórą i oczami. Odczynnik zawiera wodorotlenek sodu, który jest żrący. W przypadku kontaktu ze skórą przemyć wodą. W przypadku oczu zasięgnąć porady lekarza.

Zagrożenia:

Klasyfikacja zagrożeń: Działanie żrące/drażniące na skórę (kategoria 1), Poważne uszkodzenie oczu/działanie drażniące na oczy (kategoria 1)

Zwroty wskazujące rodzaj zagrożenia: H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu, H318: Działa drażniąco na oczy

Zwroty wskazujące środki ostrożności: **Zapobieganie:** P260: Nie wdychać pyłu/dymu/gazu/mgły/pari/rozpylonej cieczy. P264: Dokładnie umyć skórę po użyciu. P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy. **Reagowanie:** P310: Natychmiast skontaktować się z OSRODKIEM ZATRUĆ lub lekarzem. P363: Wyprać zanieczyszczoną odzież przed ponownym użyciem. P301+P330+P331 : W przypadku POŁKNIECIA: Wypłukać usta. NIE wywoływać wymiotów. P303+P361+P353 : W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): Natychmiast zdjąć/zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spluczyć SKÓRĘ wodą/prysznicem. P304+P340: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: Wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić warunki do odpoczynku w pozycji umożliwiającej swobodne oddychanie. P305+P351+P338: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeśli są i można to łatwo zrobić. Kontynuuj płukanie. **Przechowywanie:** P404 : Przechowywać w zamkniętym pojemniku. **Usuwanie:** P501 : Zawartość usuwać do kanalizacji po rozcieńczeniu dużą ilością wody, jeżeli jest to zgodne z lokalnymi przepisami. **Zapoznaj się z kartą charakterystyki tego produktu (SDS-T7528) dostępną pod numerem telefonu 1-734-487-8300.**



Hasło ostrzegawcze:
niebezpieczeństwo

Przygotowanie odczynnika

Odczynnik dostarczany jest w postaci gotowej do użycia..

Przechowywanie i stabilność odczynnika

Przechowywać odczynnik w temperaturze pokojowej (15-30°C). Odczynnik jest stabilny do daty ważności podanej na etykiecie, o ile jest przechowywany zgodnie z zaleceniami. Badania producenta wykazały, że odczynnik jest stabilny przez 30 dni po umieszczeniu w schłodzonej karuzeli z odczynnikiem (2-10°C).

Pogorszenie jakości odczynnika

Odczynnik powinien być klarownym, białym roztworem. Zmętnienie lub obecność czarnego osadu wskazuje na pogorszenie jakości odczynnika i nie należy go używać.

Pobieranie i przechowywanie próbek

1. Próbką z wyboru jest niezhemolizowana surowica.
2. Duża hemoliza spowoduje zawyżone wyniki ze względu na uwolnioną hemoglobinę, jak również wzrost koloru tła.
3. Surowice lipemiczne powodują zawyżone wyniki. Należy wykonać ślepa próbę surowicy.
4. Próbkę z bromosulfotaleiną (BSP) dadzą fałszywie zawyżone wyniki.⁸
5. Białko w surowicy jest stabilne przez tydzień w temperaturze pokojowej (18-25°C) i przez co najmniej jeden miesiąc w lodówce (2-8°C), jeśli jest zabezpieczone przed parowaniem.⁶

Interferencje

Young i wsp.⁷ dokonali przeglądu wielu leków i substancji, które mogą wpływać na stężenie białka.

Materiały wymagane

Total Protein reagent

Pointe Total Protein (Biuret) Reagent Set

Materiały wymagane, niedostarczone

1. Analizator Yumizen C560
2. Instrukcja obsługi do analizatora Yumizen C560
3. Chemistry Calibrator, numer katalogowy C7506-50
4. Chemistry control, numer katalogowy C7592-100

Kalibracja

Użyj kalibratora surowicy identyfikowalnego przez NIST. Procedurę należy skalibrować zgodnie z instrukcjami kalibracji producenta przyrządu. Jeśli wyniki kontroli okażą się poza zakresem, test może wymagać ponownej kalibracji. W typowych warunkach pracy badania stabilności kalibracji producenta wykazały, że krzywa kalibracji jest stabilna przez co najmniej 14 dni.

Kontrola jakości

1. Użyj surowic kontrolnych o znanym całkowitym stężeniu białka, aby monitorować integralność reakcji.
2. Kontrole jakości należy przeprowadzać zgodnie z lokalnymi, stanowymi i/lub federalnymi przepisami lub wymogami akredytacyjnymi.

Ograniczenia

1. Próbkę o wartościach powyżej 15,0 g/dl należy rozcieńczyć w stosunku 1:1 z 0,9% roztworem soli fizjologicznej, powtórzyć analizę i pomnożyć wynik przez dwa.
2. Procedura biuretowa nie jest czuła przy niskich zakresach (<1 g/dl). Nie stosować do moczu lub płynu rdzeniowego.

Wartości oczekiwane⁸

6.2 – 8.5 g/dl

1. Postawa przed pobraniem krwi istotnie wpływa na stężenie białka, zazwyczaj po spoczynku wartości są niższe niż po ruchu. Różnice mogą sięgać nawet 1,2 g/dl.
2. Zdecydowanie zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło swój własny zakres.

Charakterystyka

1. Zakres testu: 1.0 – 15.0 g/dL
2. Korelacja: przeprowadzono badanie pomiędzy Yumizen C560 i podobnym analizatorem przy użyciu tej metody, w wyniku czego uzyskało następujące dane:

| Metoda | Białko całkowite |
|------------------------|---------------------|
| N | 84 |
| Średnia (g/dL) | 7.11 |
| Zakres (g/dL) | 3.7-9.6 |
| Odchylenie standardowe | 1.36 |
| Regresja | $y = 0.937x + 0.11$ |
| Współczynnik korelacji | 0.9969 |

3. Precyzja: Badania precyzji przeprowadzono za pomocą analizatora Yumizen C560 po modyfikacji wytycznych zawartych w dokumencie NCCLS EP5-T2.⁹

| Próbka | W ciągu dnia | | |
|----------------------------|--------------|---------|--------|
| | NISKA | SREDNIA | WYSOKA |
| N | 20 | 20 | 20 |
| Średnia | 3.40 | 6.99 | 11.51 |
| Odchylenie standardowe | 0.00 | 0.03 | 0.03 |
| Współczynnik wariancji (%) | 0.0% | 0.4% | 0.3% |

| Próbka | Całkowita | | |
|----------------------------|-----------|---------|--------|
| | NISKA | SREDNIA | WYSOKA |
| N | 40 | 40 | 40 |
| Średnia | 3.40 | 6.95 | 11.64 |
| Odchylenie standardowe | 0.12 | 0.12 | 0.23 |
| Współczynnik wariancji (%) | 3.5% | 1.7% | 2.0% |

4. Czułość: granica wykrywalności 2 SD (95% Conf)= 0.0 g/dL

Piśmiennictwo

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

