

Total Protein Urine/CSF Gen.3**Informazioni per ordini**

REF	CONTENT		Analizzatori su cui il cobas c pack può essere impiegato
03333825 190	Total Protein Urine/CSF Gen.3, 150 test	N. d'ident. 07 6763 8	Roche/Hitachi cobas c 311, cobas c 501/502
03121305 122	C.f.a.s. PUC (5 x 1 mL)	Codice 489	
03121313 122	Precinorm PUC (4 x 3 mL)	Codice 240	
03121291 122	Precipath PUC (4 x 3 mL)	Codice 241	
04489357 190	Diluent NaCl 9 % (50 mL)	N. d'ident. 07 6869 3	

Italiano**Informazioni relative al sistema**

Per gli analizzatori **cobas c** 311/501:

TPU3: ACN 708

TPC3: ACN 402

Per l'analizzatore **cobas c** 502:

TPU3: ACN 8708

TPC3: ACN 8402

Finalità d'uso

Test *in vitro* per la determinazione quantitativa delle proteine nell'urina e nel liquido cerebrospinale umani, impiegando sistemi Roche/Hitachi **cobas c**.

Sommario

Le misurazioni delle proteine nell'urina vengono impiegate per la diagnosi ed il trattamento di condizioni patologiche quali malattie renali o cardiache o disturbi tiroidei, caratterizzati da proteinuria o albuminuria. Le misurazioni delle proteine nel liquido cerebrospinale (CSF) vengono impiegate per la diagnosi ed il trattamento di condizioni quali meningite, tumori cerebrali ed infezioni del sistema nervoso centrale.¹

L'urina viene prodotta mediante ultrafiltrazione di plasma attraverso la parete dei capillari glomerulari. Le proteine con una massa molecolare relativa > 40000 vengono trattenute quasi completamente, mentre sostanze più piccole passano facilmente il filtro glomerulare. La maggior parte delle proteine nel CSF ha origine nella diffusione dal plasma attraverso la barriera ematoencefalica. Livelli elevati risultano da una permeabilità elevata della barriera ematoencefalica o da un'aumentata sintesi locale di immunoglobuline.

Nei metodi turbidimetrici che impiegano acido tricloroacetico (TCA) o acido solfosalicilico (SSA), le proteine nel campione precipitano a seconda della loro dimensione; la torbidità che ne risulta può essere instabile e flocculata. I reagenti impiegati nei metodi che legano coloranti come il Coomassie blue ed il rosso di pirogallolo-molibdato, reagiscono con le proteine a seconda della loro composizione aminoacidica, possono però macchiare vetrie e plastiche. Dovuto ai loro meccanismi di reazione, tutti i metodi, turbidimetrici e colorimetrici, sono dotati di sensibilità differenti a varie proteine, specialmente ai frammenti proteici quali le proteine di Bence Jones² e alle proteine piccole quale l' α 1-microglobulina.

Il test Roche Diagnostics per le proteine nell'urina/CSF è basato sul metodo descritto da Iwata e Nishikaze,³ in seguito modificato da Luxton, Patel, Keir e Thompson.⁴ In tale metodo, il benzetonio cloruro reagisce con le proteine in ambiente basico, producendo una torbidità più stabile e più equamente distribuita di quella riscontrabile con le metodologie che impiegano l'SSA o il TCA. Questo test presenta recuperi di γ -globulina più bassi del ca. 30 % rispetto all'albumina,⁵ e l'interferenza dagli ioni di magnesio è stata eliminata mediante l'aggiunta di EDTA.

Principio del test

Metodo turbidimetrico.

Il campione viene pre-incubato in una soluzione alcalina contenente EDTA, il quale denatura la proteina ed elimina l'interferenza dagli ioni di magnesio. Successivamente viene aggiunto il benzetonio cloruro, producendo torbidità.

Reattivi – soluzioni pronte all'uso

R1 Idrossido di sodio: 677 mmol/L; EDTA-Na: 74 mmol/L

R2 Benzetonio cloruro: 32 mmol/L

R1 si trova nella posizione B e R2 nella posizione C.

Precauzioni e avvertenze

Per uso diagnostico *in vitro*.

Osservare le precauzioni normalmente adottate durante la manipolazione dei reagenti di laboratorio.

Lo smaltimento di tutti i rifiuti deve avvenire secondo le direttive locali.

Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.

Questa confezione contiene componenti classificati, secondo il Regolamento (CE) N. 1272/2008, come segue:

**Pericolo**

H290 Può essere corrosivo per i metalli.

H314 Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.

H412 Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

Prevenzione:

P234 Conservare soltanto nel contenitore originale.

P264 Lavare accuratamente la pelle dopo l'uso.

P273 Non disperdere nell'ambiente.

P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.

Reazione:

P301 + P330 IN CASO DI INGESTIONE: sciacquare la bocca. NON provocare il vomito.

P303 + P361 + P353 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle/fare una doccia.

P304 + P340 IN CASO DI INALAZIONE: trasportare la persona all'aria aperta e mantenerla in posizione che favorisca la respirazione.

P305 + P351 + P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

P310 Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico.

P337 + P313 Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico.

P363 Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente.

P390 Assorbire la fuoriuscita per evitare danni materiali.

Conservazione:

P405 Conservare sotto chiave.

P406 Conservare in recipiente in acciaio inossidabile resistente alla corrosione provvisto di rivestimento interno resistente.

Smaltimento rifiuti:

P501 Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento rifiuti approvato.

L'etichettatura relativa alla sicurezza del prodotto è principalmente conforme al regolamento GHS UE.

Contatto telefonico: per tutti i paesi: +49-621-7590

Utilizzo dei reattivi

Pronti all'uso.

Conservazione e stabilità**TPUC3**

Stabilità a 15-25 °C: Vedere la data di scadenza indicata sull'etichetta del contenitore portareagenti **cobas c** pack.

In uso e refrigerato a bordo dell'analizzatore: 6 settimane

Diluent NaCl 9 %

Stabilità a 2-8 °C: Vedere la data di scadenza indicata sull'etichetta del contenitore portareagenti **cobas c** pack.

In uso e refrigerato a bordo dell'analizzatore: 12 settimane

Prelievo e preparazione dei campioni

Per il prelievo e la preparazione dei campioni impiegare solo provette o contenitori di raccolta adatti.

Solo i tipi di campione elencati di seguito sono stati testati e risultano accettabili.

Urina

Utilizzare campioni di urina randomizzata o delle 24 ore. Non impiegare conservanti. Durante la raccolta conservare i campioni in frigorifero.

CSFNon sono necessari additivi speciali. La presenza di sangue in un campione di CSF invalida il valore per la proteina.¹I campioni per le proteine nell'urina/CSF devono essere prelevati prima che venga somministrata fluoresceina oppure almeno 24 ore più tardi.⁶**Nota:** i campioni di urina, di CSF e di controllo con una concentrazione di proteine superiore a 7000 mg/L non devono essere misurati con il test TPUC3, poiché potrebbero ostruirsi le condutture degli strumenti.**Stabilità⁷**

Urina:	1 giorno a 15-25 °C
	7 giorni a 2-8 °C
	1 mese a (-15)-(-25) °C
CSF:	1 giorno a 15-25 °C
	6 giorni a 2-8 °C
	>1 anno a (-15)-(-25) °C

I campioni contenenti precipitati devono essere centrifugati prima dell'esecuzione del test.

I campioni non centrifugati possono produrre risultati elevati.

Materiali a disposizione

Per i reattivi, vedere la sezione "Reattivi – soluzioni pronte all'uso".

Materiali necessari (ma non forniti)

- Vedere la sezione "Informazioni per ordini".
- Normale attrezzatura da laboratorio

Esecuzione

Per una performance ottimale del test, attenersi alle indicazioni riportate nel presente documento per l'analizzatore in questione. Per le istruzioni specifiche dell'analizzatore relative all'esecuzione del test, consultare il manuale d'uso dello strumento.

Roche non risponde delle performance delle applicazioni che non sono state validate dalla stessa Roche – tali performance devono quindi essere definite dall'utilizzatore.

Applicazione per l'urina ed il CSF**Definizione del test per l'analizzatore cobas c 311**

Tipo di misura	2 Punti finale		
Tempo di reazione / punti di misura	10 / 6-14		
Lunghezze d'onda (sec./princ.)	700/505 nm		
Andamento della reazione	Crescente		
Unità di misura	mg/L (mg/dL, g/L)		
Volumi dei reagenti	Diluyente (H ₂ O)		
R1	100 µL	–	
R2	40 µL	–	
Volumi dei campioni	Campione	Diluizione del campione	
		Campione	Diluyente (NaCl)
Normale	6 µL	–	–
Ridotto (Diluito)	2 µL	–	–
Concentrato	6 µL	–	–

Definizione del test per l'analizzatore cobas c 501

Tipo di misura	2 Punti finale		
Tempo di reazione / punti di misura	10 / 10-30		
Lunghezze d'onda (sec./princ.)	700/505 nm		
Andamento della reazione	Crescente		
Unità di misura	mg/L (mg/dL, g/L)		
Volumi dei reagenti	Diluyente (H ₂ O)		
R1	100 µL	–	
R2	40 µL	–	
Volumi dei campioni	Campione	Diluizione del campione	
		Campione	Diluyente (NaCl)
Normale	6 µL	–	–
Ridotto (Diluito)	2 µL	–	–
Concentrato	6 µL	–	–

Definizione del test per l'analizzatore cobas c 502

Tipo di misura	2 Punti finale		
Tempo di reazione / punti di misura	10 / 10-30		
Lunghezze d'onda (sec./princ.)	700/505 nm		
Andamento della reazione	Crescente		
Unità di misura	mg/L (mg/dL, g/L)		
Volumi dei reagenti	Diluente (H ₂ O)		
R1	100 µL	–	
R2	40 µL	–	
Volumi dei campioni	Campione	Diluizione del campione	
		Campione	Diluente (NaCl)
Normale	6 µL	–	–
Ridotto (Diluito)	2 µL	–	–
Concentrato	12 µL	–	–

Calibrazione

Calibratori	S1: H ₂ O		
	S2-S6: C.f.a.s. PUC		
	Al fine di determinare le concentrazioni dello standard per la curva di calibrazione a 6 punti, moltiplicare i valori lotto-specifici del calibratore C.f.a.s. PUC per i fattori indicati di seguito:		
	S2: 0.025	S5: 0.250	
	S3: 0.050	S6: 1.0	
	S4: 0.125		
Tipo di calibrazione	RCM		
Frequenza di calibrazione	Calibrazione completa		
	– a cambio di lotto del reattivo		
	– se richiesto dai procedimenti del controllo di qualità		

Tracciabilità:⁸ questo metodo è stato standardizzato contro uno standard primario tracciabile al NIST.

Controllo di qualità

Per il controllo di qualità, impiegare i materiali di controllo indicati nella sezione "Informazioni per ordini".

In aggiunta, è possibile utilizzare altro materiale di controllo appropriato.

Gli intervalli ed i limiti del controllo dovranno essere conformi alle esigenze individuali di ogni laboratorio. I valori ottenuti devono rientrare nei limiti definiti. Ogni laboratorio deve definire delle misure correttive da attuare nel caso che alcuni valori siano al di fuori dei limiti definiti.

Per il controllo di qualità, attenersi alle normative vigenti e alle linee guida locali.

Calcolo

I sistemi Roche/Hitachi **cobas c** effettuano il calcolo automatico della concentrazione dell'analita di ciascun campione.

Fattori di conversione: mg/L x 0.1 = mg/dL
 mg/L x 0.001 = g/L

Per calcolare l'escrezione di proteine nell'urina delle 24 ore:

mg/L x volume totale (litri per 24 ore) = mg/die.

Limiti del metodo – interferenze

Valutazione: recupero entro ±10 % del valore iniziale ad una concentrazione di proteine totali di 120 mg/L (12 mg/dL; 0.12 g/L).

Effetto hook: i risultati dei campioni con alte concentrazioni di proteine totali (al di sopra dell'intervallo di misura, fino a 100000 mg/L) vengono segnalati dallo strumento con il messaggio d'errore > TEST o > ABS.

Urina

Ittero: nessuna interferenza significativa fino ad una concentrazione di 342 µmol/L (20 mg/dL) per la bilirubina coniugata.

Emolisi: l'emoglobina interferisce.⁹

Farmaci: non si è osservata alcuna interferenza a concentrazioni terapeutiche impiegando le più comuni famiglie di farmaci.¹⁰

Eccezione: la levodopa, la metildopa e la Na₂-cefotina causano risultati artificialmente alti di proteine totali, ed il calcio dobesilato causa risultati artificialmente bassi di proteine.

Altro: i campioni prelevati da pazienti contenenti >8 g/L di iodio organicamente legato proveniente da mezzi di contrasto radiopachi (per es. Hexabrix) possono provocare risultati falsamente elevati.

Alti livelli di acido omogentisico possono essere riscontrati nell'urina dei pazienti con alcaptonuria, una rara disfunzione genetica.¹¹ L'acido omogentisico presente in campioni di urina a concentrazioni > 0.6 mmol/L può provocare risultati erronei.

La somministrazione di sostituzioni plasmatiche a base di gelatina può provocare valori aumentati di proteine nell'urina.

CSF

Emolisi: l'emoglobina interferisce.⁹

Ai fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati congiuntamente con la storia clinica del paziente, con gli esami clinici e con altre evidenze cliniche.

AZIONI RICHIESTE

Programmazione extra lavaggi: è assolutamente necessario effettuare specifiche fasi di lavaggio se certe combinazioni di test vengono eseguite insieme sui sistemi Roche/Hitachi **cobas c**. La versione più recente dell'elenco dei possibili carry-over si trova allegata alle metodiche NaOHD - SMS - SmpCln1+2 - SCCS. Per ulteriori istruzioni, consultare il manuale d'uso.

Analizzatore **cobas c 502:** tutte le programmazioni di extra lavaggi richieste per evitare possibili carry-over sono disponibili tramite **cobas link** senza che sia necessario effettuare inserimenti manuali.

È necessario implementare la procedura di extralavaggio (qualora richiesta) prima di riportare i risultati di questo test.

Limiti ed intervalli**Intervallo di misura**

40-2000 mg/L (4-200 mg/dL; 0.04-2 g/L)

Determinare i campioni con concentrazioni più alte mediante la funzione rerun. La diluizione dei campioni mediante la funzione rerun avviene nel rapporto 1:3. I risultati ottenuti con i campioni diluiti mediante la funzione rerun vengono automaticamente moltiplicati per il fattore 3.

Limiti inferiori di misura**Limite di sensibilità inferiore del test**

40 mg/L (4 mg/dL; 0.04 g/L)

Il limite di sensibilità inferiore rappresenta la minima concentrazione misurabile dell'analita che può essere distinta dallo zero. Viene calcolato come il valore che si trova 3 deviazioni standard al di sopra dello standard più basso (standard 1 + 3 DS, ripetibilità, n = 21).

Valori di riferimento

Urina: ¹²	24 h:	<140 mg/24 h*
	randomizzata:	<150 mg/L*

* Valori ottenuti da campioni centrifugati

CSF:	intervallo di riferimento sec. Tietz:	150-450 mg/L (15-45 mg/dL) ¹³
	intervallo di riferimento sec. Thomas:	200-400 mg/L (20-40 mg/dL) ¹⁴

Ogni laboratorio deve controllare l'applicabilità dei valori di riferimento alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare intervalli di riferimento propri.

Dati specifici sulla performance del test

Qui di seguito sono riportati i dati rappresentativi delle prestazioni sugli analizzatori. I risultati dei singoli laboratori possono differire da questi.

Precisione

La precisione è stata determinata usando campioni umani e controlli, eseguiti in base ad un protocollo interno: con ripetibilità (n = 21) e precisione intermedia (3 aliquote per serie, 1 serie al giorno, 21 giorni). Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Urina

Ripetibilità	Media	DS	CV
	mg/L (mg/dL)	mg/L (mg/dL)	%
Precinorm PUC	159 (15.9)	1 (0.1)	0.7
Precipath PUC	1576 (158)	8 (0.8)	0.5
Urina umana 1	101 (10.1)	1 (0.1)	1.0
Urina umana 2	191 (19.1)	4 (0.4)	2.2
Precisione intermedia	Media	DS	CV
	mg/L (mg/dL)	mg/L (mg/dL)	%
Precinorm PUC	156 (15.6)	2 (0.2)	1.5
Precipath PUC	1482 (148)	8 (0.8)	0.5
Urina umana 3	106 (10.6)	2 (0.2)	1.6
Urina umana 4	154 (15.4)	1 (0.1)	0.9

CSF

Ripetibilità	Media	DS	CV
	mg/L (mg/dL)	mg/L (mg/dL)	%
Livello di controllo 1	281 (28.1)	4 (0.4)	1.5
Livello di controllo 2	691 (69.1)	4 (0.4)	0.6
CSF umano 1	355 (35.5)	4 (0.4)	1.1
CSF umano 2	517 (51.7)	5 (0.5)	1.0
Precisione intermedia	Media	DS	CV
	mg/L (mg/dL)	mg/L (mg/dL)	%
Livello di controllo 1	272 (27.2)	4 (0.4)	1.6
Livello di controllo 2	660 (66.0)	6 (0.6)	0.9
CSF umano 3	349 (34.9)	4 (0.4)	1.2
CSF umano 4	501 (50.1)	7 (0.7)	1.5

Confronto tra metodi

I valori di proteine totali ottenuti per campioni di urina e di CSF umani su un analizzatore Roche/Hitachi **cobas c 501** (y) sono stati confrontati con quelli determinati con il reagente corrispondente su un analizzatore Roche/Hitachi 917 (x).

Urina

Dimensione (n) del campione = 70

Passing/Bablok ¹⁵	Regressione lineare
$y = 0.985x + 6.23 \text{ mg/L}$	$y = 0.988x + 5.35 \text{ mg/L}$
$\tau = 0.970$	$r = 1.000$

Le concentrazioni dei campioni erano comprese fra 47.0 e 1887 mg/L (fra 4.70 e 189 mg/dL).

CSF

Dimensione (n) del campione = 86

Passing/Bablok¹⁵

$$y = 1.015x - 7.51 \text{ mg/L}$$

$$\tau = 0.975$$

Regressione lineare

$$y = 1.010x - 5.23 \text{ mg/L}$$

$$r = 0.999$$

Le concentrazioni dei campioni erano comprese fra 53.0 e 1087 mg/L (fra 5.30 e 109 mg/dL).

Letteratura

- Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd ed. Pa: WB Saunders Co 1987:336.
- Boege F. Bence Jones-Proteine. J Lab Med 1999;23(9):477-482.
- Iwata J, Nishikaze O. New micro-turbidimetric method for determination of protein in cerebrospinal fluid and urine. Clin Chem 1979;25(7):1317-1319.
- Luxton RW, Patel P, Keir G, et al. A micro-method for measuring total protein in cerebrospinal fluid by using benzethonium chloride in microtiter plate wells. Clin Chem 1989;35(8):1731-1734.
- Hohnadel DC, Koller A. Urine protein total. In: Pesce AJ, Kaplan LA, editors. Methods in clinical chemistry, St. Louis, Mosby 1987.
- Koumantakis G. Fluorescein Interference with Urinary Creatinine and Protein Measurements. Clin Chem 1991;37(10):1799.
- WHO Publication: Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations, WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2:Jan 2002.
- Standard Reference Materials from NERL, traceable to NIST (National Institute of Standards and Technology).
- Yilmaz FM, Yücel D. Effect of Addition of Hemolysate on Urine and Cerebrospinal Fluid Assays for Protein. Clin Chem 2006;52:152-153.
- Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.
- Phornphutkul C, Introne WJ, Perry MB, et al. Natural History of Alkaptonuria. N Engl J Med 2002;347(26):2111-2121.
- Junge W, Wilke B, Halabi A, et al. Reference Intervals for Total Protein in Collected and Random Urine using the Benzethonium Chloride Method [Abstract]. Clin Chem 2006;52:157.
- Tietz NW, ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Company 1995;518-523.
- Thomas L. Labor und Diagnose, 6. Auflage, TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, Frankfurt/Main 2005;930-934.
- Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.

In questa metodica, per separare la parte intera da quella frazionaria in un numero decimale si usa sempre il punto. Il separatore delle migliaia non è utilizzato.

Simboli

Oltre a quelli indicati nello standard ISO 15223-1, Roche Diagnostics impiega i seguenti simboli:

CONTENT

Contenuto della confezione



Volume dopo ricostituzione o mescolamento

GTIN

Global Trade Item Number

Le aggiunte, cancellazioni o modifiche sono indicate mediante una linea verticale posizionata al margine.

© 2015, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

