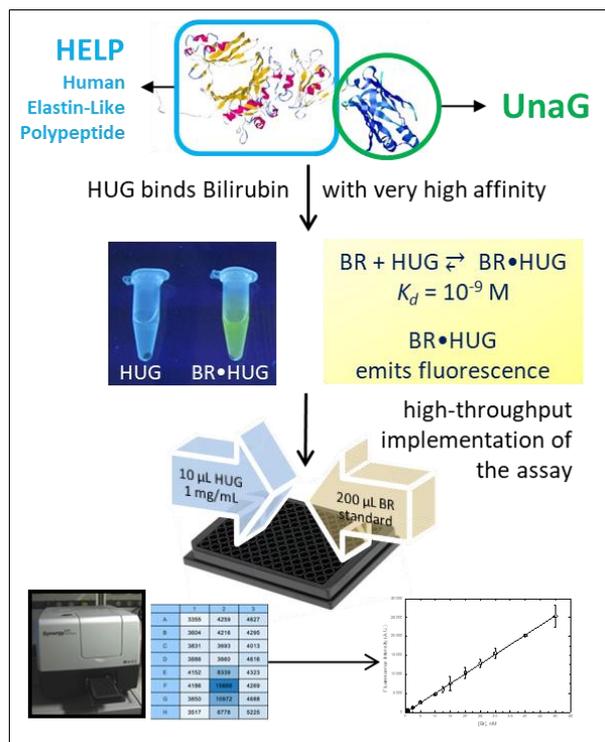


Analisi della Bilirubina in Fluidi Biologici

Paola Sist, Federica Tramer, Antonella Bandiera, Sabina Passamonti
 Università di Trieste, Dipartimento di Scienze della Vita spassamonti@units.it (S.Passamonti)

Nel 1960 Mather sosteneva che “*bilirubin determinations are perhaps the most notoriously unreliable of any in clinical chemistry*” e nonostante gli enormi progressi analitici questa considerazione è ancora in parte attuale. La bilirubina è infatti uno degli analiti più complicati da quantificare con precisione in ambito clinico. Accanto all’importanza della sua quantificazione nella diagnosi dell’ittero e al suo utilizzo come biomcatore di malattie epatiche ed ematologiche, si è



attualmente aperto un ambito che riguarda la sua potenziale attività biologica a basse concentrazioni come antiossidante. Diviene quindi di fondamentale importanza trovare un metodo di analisi della bilirubinemia che consenta di avere una stima precisa quando le sue variazioni sono di poco superiori ai livelli fisiologici. utilizzando tecniche di prelievo non invasive e di facile esecuzione.

Il nostro gruppo di ricerca ha sviluppato un metodo fluorimetrico basato sul legame altamente specifico della bilirubina alla proteina ricombinante bifunzionale HUG. Questa proteina di fusione, che può essere facilmente purificata sfruttando le proprietà termoreattive del dominio simile all’elastina, lega la bilirubina attraverso il tratto funzionale UnaG. Il complesso estremamente stabile che si forma emette un intenso segnale fluorescente.

La valutazione della concentrazione di bilirubina in fluidi biologici richiede un’accurata calibrazione del metodo con opportune soluzioni standard. La scarsa solubilità della bilirubina, la sua foto degradazione e la facile ossidazione sono tutti parametri che abbiamo considerato nell’ottimizzazione del protocollo di analisi. L’obiettivo di avere soluzioni standard stabili e riproducibili è stato

raggiunto utilizzando un solvente composto da albumina sierica bovina in tampone fosfato.

Il saggio si è rivelato robusto e applicabile in ampi range di variabilità delle condizioni analitiche (pH, temperatura, concentrazione di albumina).

