

Gesamtprotein-Reagenz

Biuret-Methode

KURZBESCHREIBUNG DES PRODUKTS

Stabilität	:	bis zum Verfallsdatum bei 2-25°C
Linearer Bereich	:	bis zu 150 g/L (15 g/dL)
Probetyp	:	Serum, Plasma
Methode	:	Endpunktbestimmung
Reagenzvorbereitung	:	Gebrauchsfertig geliefert.



VERWENDUNGSZWECK

Dieses Reagenz dient der quantitativen in-vitro-Bestimmung von Gesamtprotein in menschlichem Serum oder Plasma sowohl auf manuellen als auch automatischen klinischen Chemiegeräten.

KLINISCHE BEDEUTUNG¹

Gesamtprotein ist bei der Beobachtung von starken Änderungen der Proteinwerte, die durch verschiedene Krankheitszustände hervorgerufen werden, von Nutzen. Der Test wird gewöhnlich gemeinsam mit anderen Tests, wie z.B. Serum-Albumin, Leberfunktionstests oder Protein-Elektrophorese, durchgeführt. Zum Erhalt zusätzlicher Informationen wird oft ein Albumin-Globulin-Verhältnis berechnet. Erhöhte Werte werden bei Dehydrierung, Multiplem Myelom und chronischer Lebererkrankung festgestellt, während gesenkte Werte bei Nierenerkrankungen und terminalem Leberversagen auftreten.

METHODE

Zu den Methoden, die für die Bestimmung von Gesamtprotein entworfen wurden, gehören die Messung des spezifischen Gewichts, des Brechungskoeffizienten, Lichtabsorption im Ultraviolettbereich sowie die Reaktion von Proteinen mit dem Reagenz von Folin und Ciocalteu.

Historisch wurde Gesamtprotein erstmals durch die Kjeldahl-Methode bestimmt, die nach wie vor als Bezugsmethode existiert. Die Biuret-Reaktion wird seit Ende des 19. Jahrhunderts verwendet und ist wegen seiner Einfachheit, Schnelligkeit und Zuverlässigkeit in klinischen Labors die vorgezogene Methode. Es wurden viele Modifizierungen der Biuret-Methode vorgeschlagen; das in dieser Prozedur verwendete Reagenz basiert auf der Arbeit von Goodwin, et al.,² sowie Flack und Woollen.³

Die Peptidverbindungen von Protein reagieren mit den Kupfer II - Ionen in alkalischer Lösung, wobei ein blauvioletter Komplex (die sogenannte Biuret-Reaktion) entsteht, indem jedes Kupferion sich mit 5 oder 6 Peptidverbindungen zusammenschließt.⁴ Als Stabilisator wird Tartrat hinzugefügt, während Iodid verwendet wird, um eine selbständige Reduzierung des alkalischen Kupferkomplexes zu verhindern. Die entstehende Farbe ist proportional zur Proteinkonzentration und wird bei 520-560 nm gemessen. Für bichromatische Analysegeräte sollte die blaue Wellenlänge auf 600-700 nm gesetzt werden.

REAGENZZUSAMMENSETZUNG

Aktive Bestandteile	Konzentration
Kupfer II Sulfat	12 mmol/L
Kalium-Natrium-Tartrat	32 mmol/L
Kalium-Iodid	30 mmol/L
Natrium-Hydroxid	600 mmol/L

pH 13,5 ± 0,1 bei 20°C

WARNUNG: Nicht Einnehmen! Im Falle des Verschüttens die betroffenen Flächen gründlich mit Wasser waschen. Wir empfehlen, nach dem Weggießen mit viel Wasser nachzuspülen. Für weitere Informationen konsultieren Sie bitte das Material- und Sicherheitsdatenblatt mit dem Titel "Gesamtprotein-Reagenz".

R34 Verursacht Verätzungen.
S24/25 Berührung mit den Augen und der Haut vermeiden.
S26 Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.

REAGENZVORBEREITUNG

Das Reagenz wird gebrauchsfertig geliefert.

STABILITÄT UND LAGERUNG

Bei gekühlter Lagerung bei einer Temperatur von 2-25°C ist das Reagenz bis zu dem auf der Flasche und Testschachtel angegebenen Verfallsdatum stabil.

Indikationen einer Verschlechterung des Reagenz:

- Trübung;
- Auftreten von Ablagerungen;
- Absorption des Reagenz >0,200 bei 540 nm; und/oder

SYMBOLE PRODUKTBEZEICHNUNG

	Autorisierter Vertreter		Temperaturbeschränkung
	Für in vitro Diagnostik		Verfallsdatum
	Batch Code / Losnummer		VORSICHT. Siehe Benutzungsvorschriften
	Katalognummer		Hergestellt von
	Siehe Benutzungsvorschriften		C - Ätzend

- Kontrollwerte liegen außerhalb des erlaubten Bereichs.

PROBENSAMMLUNG UND HANDHABUNG²

Serum: Nicht hämolyisiertes Serum verwenden.

Plasma: Heparin verwenden.

Lagerung: Gesamtproteinproben können bei Zimmertemperatur (18-25°C) für wenigstens 7 Tage und bei 4°C für wenigstens 1 Monat gelagert werden.

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT GELIEFERTE AUSRÜSTUNG

- Klinisches Chemie-Messgerät, das eine konstante Temperatur (37°C) sowie ein Mess-Absorptionsvermögen von 540 nm (520 nm - 560 nm) beibehalten kann.
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser für die Aufbereitung des Reagenz und entsprechende Hilfsgeräte (z.B. Pipette).
- Bereits gemessenes, normales und abnormales Kontrollmaterial.
- Kalibrator oder ein geeigneter wässriger Gesamtprotein-Standard.

TESTVERFAHREN (ASSAY VERFAHREN/PROZEDUR)

Die folgenden Test Parameter werden empfohlen: Einzelne Anwendungen des Instruments können auf Anfrage von der Technischen Unterstützungsgruppe erhalten werden.

TEST PARAMETER

Temperatur	37°C
Primäre Wellenlänge	540 nm (520-560 nm)
Testtyp	Endpunkt
Richtung	Zunahme
Probe: Reagenz-Verhältnis	1:50
z.B.: Probemenge	5 µL
Reagenzmenge	250µL
Inkubationszeit	600 Sekunden
Reagenz-Blindgrenzen	niedrig 0,0 AU
(540 nm, 1cm Lichtweg)	hoch 0,2 AU
Linearität	150 g/L (15 g/dL)
Analytische Sensitivität	5,5 ΔmA pro g/L
(540 nm, 1cm Lichtweg)	(0,055 ΔA pro g/dL)

BERECHNUNGEN

Die Resultate werden - normalerweise automatisch vom Instrument - wie folgt berechnet:

$$\text{Gesamtprotein} = \frac{\text{Absorption von Unbekannt}}{\text{Absorption von Kalibrator}} \times \text{Kalibratorwert}$$

Beispiel:

Absorptionsvermögen Kalibrator	=	0,319
Absorptionsvermögen von unbek.	=	0,396
Kalibratorwert	=	58 g/L (5,8 g/dL)

$$\text{Gesamtprotein} = \frac{0,396}{0,319} \times 58 = 72 \text{ g/L}$$

$$\text{Gesamtprotein} = \frac{0,396}{0,319} \times 5,8 = 7,2 \text{ g/dL}$$

ANMERKUNGEN

1. Die Reagenz- und Probemengen können proportional geändert werden, um unterschiedliche Spektrophotometer-Anforderungen zu berücksichtigen.
2. S.I. Einheitsumrechnungsfaktor: g/L x 0,1 = g/dL.

KALIBRIERUNG

Die Kalibrierung ist erforderlich. Es wird ein auf wässriger Lösung bzw. Serum basierender Kalibrator, der über einen zugeordneten, auf einen Primärstandard (z.B. NIST oder IRMM) zurück zu führenden Wert verfügt, empfohlen. Bezüglich der Häufigkeit der Kalibrierung für automatische Instrumente verweisen wir auf die Spezifikationen des Instrumentherstellers. Es ist zu beachten, dass die Stabilität der Kalibrierung sowohl von der optimalen Leistung des Instruments als auch von der Verwendung gemäß den unter Stabilität und Lagerung beschriebenen Empfehlungen für die Handhabung der Reagenzien abhängt. Für die folgenden Fälle empfehlen wir erneute Kalibrierung des Instruments:

- Neue Losnummer.
- Nach Wartung oder nach dem Austausch einer wichtigen Komponente.
- Falls die Kontrollwerte außerhalb des Normalbereichs liegen und das Auswechseln des Kontrollgefäßes nicht zur Lösung des Problems führt.

QUALITÄTSKONTROLLE

Um eine adäquate Qualitätskontrolle zu gewährleisten, sollten normale und abnormale Kontrollen mit getesteten Werten als unbekannte Proben getestet werden:-

- Mindestens einmal täglich oder wie durch das Labor festgelegt.
- Wenn eine neue Reagenzflasche verwendet wird.
- Nach Wartung oder nach dem Ersetzen einer kritischen Komponente.
- Mit jeder Kalibrierung.

Kontrollergebnisse, die über der Ober- bzw. unter der Untergrenze des festgelegten Bezugsbereichs liegen, zeigen an, dass der Test außer Kontrolle geraten sein mag. Für solche Situationen empfehlen wir die folgenden korrektiven Maßnahmen:-

- Die selben Kontrollen wiederholen.
- Falls die wiederholten Kontrollergebnisse außerhalb der Grenzwerte liegen, frisches Kontrollserum zubereiten und den Test wiederholen.
- Falls die Ergebnisse nach wie vor nicht stimmen, mit frischem Kalibrator rekalisieren und den Test wiederholen.
- Falls die Ergebnisse immer noch falsch sind, mit frischem Reagenz kalibrieren und den Test wiederholen.
- Falls die Ergebnisse immer noch außer Kontrolle sind, die Technische Unterstützung oder Ihrer lokalen Verkäufer kontaktieren.

BESCHRÄNKUNGEN

1. Es wurden Studien zur Bestimmung der Interferenz von Hämoglobin, Bilirubin und Lipämie auf einem sich in gutem Zustand befindlichen klinischen Chemie-Analysegerät durchgeführt. Es entstanden die folgenden Ergebnisse:

Hämoglobin: Keine Interferenz von Hämoglobin bis zu 265 mg/dL.

Freies Bilirubin: Keine Interferenz von Bilirubin bis zu 211 µmol/L (12,3 mg/dL).

Konjugiertes Bilirubin: Keine Interferenz von Bilirubin bis zu 211 µmol/L (12,3 mg/dL).

Lipämie: Bei bichromatischer Messung keine Interferenz von Lipämie, als Absorption bei 630 nm gemessen, bis zu 1,046 AU.

2. Young DS⁵ hat eine umfangreiche Liste der Medikamente und Substanzen, welche diesen Test beeinträchtigen könnten, veröffentlicht.

ERWARTETE WERTE

60 - 83 g/L (6,0 - 8,3 g/dL)⁴

Die angegebenen Werte sollten nur als Bezugswerte dienen. Es wird empfohlen, dass jedes Labor diesen Bereich überprüft bzw. ein Referenzintervall für die von ihm betreute Bevölkerungsgruppe ableitet.⁶

LEISTUNGSDATEN

Die folgenden Daten wurden unter Verwendung des Gesamtprotein-Reagenz auf einem sich in gutem Zustand befindlichen automatischen klinischen Chemie-Analysegerät erhalten. Der Benutzer muss die Produktleistung für sein spezifisches Gerät festlegen.

UNGENAUIGKEIT

Die Ungenauigkeit wurde über einen Zeitraum von 20 Tagen mit Hilfe zweier Kontrollstufen ausgewertet. Dabei wurde die NCCLS EPS-T Kontrollprozedur befolgt.⁷

Innerhalb des Testlaufs:	Stufe I	Stufe II
Zahl d. Daten Punkte	80	80
Durchschnitt (g/L)	58	49
Durchschnitt (g/dL)	5,8	4,9
SD (g/L)	0,8	0,6
SD (g/dL)	0,08	0,06
CV (%)	1,4	1,3

Total:	Stufe I	Stufe II
Zahl d. Daten Punkte	80	80
Durchschnitt (g/L)	58	49
Durchschnitt (g/dL)	5,8	4,9
SD (g/L)	1,9	1,6
SD (g/dL)	0,19	0,16
CV (%)	3,2	3,2

METHODE VERGLEICH

Vergleichsstudien wurden mit einem ähnlichen im Handel erhältlichen Gesamtprotein-Reagenz zur Bezugnahme durchgeführt. Serum- und Plasma(Heparin)-Proben wurden parallel getestet und die Ergebnisse mit der Methode der kleinsten Quadrate verglichen. Es entstand die folgende Statistik.

Zahl der Probenpaare	60
Bereich der Proben	21-92 g/L (2,1-9,2 g/dL)
Durchschnitt der Referenzmethode	71,8 g/L (7,18 g/dL)
Durchschnitt der Gesamtprotein-Reagenz-Ergebnisse	71,5 g/L (7,15 g/dL)
Steigung	0,955
Schnittpunkt	2,9 g/L (0,29 g/dL)
Korrelations-Koeffizient	0,9844

LINEARITÄT

Bei empfohlener Durchführung verlief der Test zwischen 0 und 150 g/L (0-15 g/dL).

ANALYTISCHE SENSITIVITÄT

Bei empfohlener Durchführung ist die Sensitivität dieses Tests 5,5 ΔmA pro g/L (0,055 ΔA pro g/dL).

LITERATURHINWEISE

1. Tietz N.W. (Ed.), Textbook of Clinical Chemistry, W.B Saunders 1986; p579.
2. Goodwin J.F., et al, Automation in Anal. Chem, Technicon Sympolsia 1965, p.315-320.
3. Flack C.P. and Woollen J.W., Clin. Chem., 30, 559 (1984).
4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnosis (4th Ed.) Burtis, Ashwood & Bruns (Eds), Elsevier Saunders, 2005; 2293.
5. Young DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990: 3:292-301.
6. Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Laboratory Devices. NCCLS; 1984, NCCLS Publication EP5-T.



Fisher Diagnostics
a division of Fisher Scientific Company, LLC
a part of Thermo Fisher Scientific Inc.
Middletown, VA 22645-1905 USA
Phone: 800-528-0494
540-869-3200
Fax: 540-869-8132



MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



REF

Nachbestellinformation

Katalog Nr.	Konfiguration
TR34021/1700-250	2 x 125 mL
TR34026/1700-500	2 x 250 mL
TR34098/1700-1L	2 x 500 mL
1700-400H	4 x 100 mL (Hitachi)
TL34001	8 x 100 mL (iLab 600)
TY34001	4 x 50 mL (Hitachi)

© 2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. Hitachi is a registered trademark of Roche Diagnostics, Indianapolis, IN 46250. iLab 600 is a registered trademark of Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.