

Microprotein-Reagenz

Benzethonium-Chlorid-Methode

KURZBESCHREIBUNG DES PRODUKTS

Stabilität	:	bis Verfallsdatum bei 2-25°C
Linearer Bereich	:	0,05 - 2,0 g/L (50 - 2000 mg/L)
Probe Typ	:	Urin oder CSF
Methode	:	Turbidimetrische
Reagenz-Vorbereitung	:	Gebrauchsfertig geliefert.

IVD

VERWENDUNGSZWECK

Dieses Reagenz dient der quantitativen in-vitro-Bestimmung von Protein in Urin und Zerebrospinal-Flüssigkeit (CSF) sowohl für manuelle als auch automatisierte Systeme.

KLINISCHE BEDEUTUNG^{1,2}

Die Rolle des Nierensystems in der Erhaltung von Plasmaproteinen ist seit einiger Zeit bekannt. Unter normalen physiologischen Bedingungen passieren Proteine mit geringem Molekulargewicht, wie z.B. Insulin, in relativ großen Mengen durch die Glomeruli. Proteine mittlerer Größe, wie z.B. Transferrin und Albumin durchdringen diese auch, jedoch nur in relativ geringen Mengen.

Die meisten dieser Proteine werden in den Nierentubuli resorbiert, so dass normaler Urin weniger als 150 mg Protein pro Tag enthält. Dies schließt auch das Protein ein, das nicht von Serum stammt und gewöhnlich durch die distalen Tubuli (Mucoprotein) und Auffangkanäle ausgeschieden wird. Erhöhte Proteinwerte im Urin, (Proteinurie) gewöhnlich mehr als 0,15 g pro 24 Stunden (150 mg/24 Stunden), deutet fast immer auf eine Erkrankung hin.

Proteinurie kann als Nierenproteinurie oder Proteinurie mit normaler Nierenfunktion klassifiziert werden. Nierenproteinurie kann weiterhin als glomeruläre oder tubuläre Proteinurie klassifiziert werden. Glomeruläre Proteinurie entsteht durch erhöhte glomeruläre Durchlässigkeit (Nephrotisches Syndrom) und kann bei glomerulärer Nephritis oder als Begleiterscheinung anderer Erkrankungen, wie z.B. diabetischer Nephropathie, beobachtet werden. Albumin ist gewöhnlich das im Urin vorherrschende Protein. Tubuläre Proteinurie kann ihre Ursache in der Schädigung der ableitenden Harnwege aus verschiedenen Gründen haben, insbesondere der Pyelonephritis. Die tubuläre Proteinurie resultiert in leichten Erhöhungen der Proteine mit geringem Molekulargewicht, falls die glomeruläre Durchlässigkeit normal ist. Die Proteinurie mit normaler Nierenfunktion kann das Ergebnis physiologischer Erhöhungen der Proteinausscheidung oder der Produktion abnormal großer Mengen von Proteinen mit geringem Molekulargewicht sein. Eine erhöhte Proteinausscheidung wird während einer normalen Schwangerschaft, nach anstrengender körperlicher Belastung oder infolge langen Stehens beobachtet. Erhöhungen von Proteinen geringen Molekulargewichts können das Ergebnis der Produktion von Bence Jones Protein, Hämoglobinurie infolge schwerer Hämolyse und Myoglobinurie infolge schwerer Muskelschäden sein.

METHODE

Die für die Bestimmung von Gesamtprotein im Urin verwendeten Methoden umfassen Farbbindung, sowie chemische und turbidimetrische Verfahren, wobei das letztgenannte die am meisten verwendete Technik darstellt.³ Die Beliebtheit der turbidimetrischen Verfahren lässt sich auf deren einfache Durchführung sowie erhöhte Empfindlichkeit zurückführen.

Das Thermo Microprotein-Set ist ein turbidimetrisches Verfahren, in dem Benzethonium-Chlorid zur Proteinverfärbung verwendet wird. Die im Urin vorhandenen Proteine werden durch Benzethonium-Chlorid verfärbt, was zur Bildung einer feinen Lösung führt, die bei 405 nm turbidimetrisch quantifiziert wird. Das Reagenz wurde modifiziert, um das Problem mit hoher Konzentration, den sogenannten Hook-Effekt, zu überkommen, wobei sehr hohe Proteinkonzentrationen im Urin zu einem scheinbar niedrigen bzw. Nullergebnis führen können.⁴

REAGENZUSAMMENSETZUNG

Aktive Bestandteile	Konzentration
Reagenz 1	
Carbonat-Puffer	99,8 mmol/L
Natriumchlorid	140 mmol/L
EDTA	32 mmol/L
Reagenz 2	
Benzethonium-Chlorid	20 g/L

SYMBOLE PRODUKTBEZEICHNUNG

EC REP	Autorisierter Vertreter		Temperaturbeschränkung
IVD	Für in vitro Diagnostik		Verfallsdatum
LOT	Batch Code / Losnummer		VORSICHT. Siehe Benutzungsanweisungen
REF	Katalognummer		Hergestellt von
	Siehe Benutzungsanweisungen		
	Xi - Reizend		
REAG 1	Reagenz 1	REAG 2	Reagenz 2

Reagenzien enthalten auch Tenside und Stabilisatoren, die für deren optimale Leistung notwendig sind.

WARNUNG: Pipette NICHT in den Mund nehmen. Falls verschüttet, die betroffenen Flächen gründlich mit Wasser abwaschen. Das Reagenz enthält Natriumazid, das mit Kupfer- oder Bleileitungen reagieren kann. Nach dem Wegschütten mit viel Wasser nachspülen. Für zusätzliche Informationen konsultieren Sie bitte das Material- und Sicherheitsdatenblatt mit dem Titel "Microprotein-Reagenz".

R36 Reizt die Augen.

S23 Dampf nicht einatmen.

REAGENZVORBEREITUNG

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig geliefert.

STABILITÄT UND LAGERUNG

Bei Lagerung zwischen 2-25°C sind die Reagenzien bis zum auf der Flasche und den Schachtel-etiketten angegebenen Verfallsdatum stabil.

PROBENSAMMLUNG UND HANDHABUNG

Bei Aufbewahrung bei 4°C sind Urinproben 2 - 3 days lang stabil⁵. Falls eine Verzögerung des Transports zum Labor erwartet wird, wird die Verwendung eines chemischen Konservierungsstoffes, wie z.B. Merthiolat (0,24 mmol/L) empfohlen.

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT GELIEFERTE AUSTRÜSTUNG

- Ein klinisches Chemie-Analysegerät, das eine konstante Temperatur sowie ein Mess-Absorptionsvermögen von 405 und 415 nm beibehalten kann.
- Analyse-spezifische Materialien, z.B.: Probebecher.
- Normales und abnormales getestetes Kontrollmaterial.
- Urinprotein-Standards, wie z.B. die Thermo Microprotein-Standards (Katalognr.: TR50943) verwendet werden.

TESTVERFAHREN (ASSAY VERFAHREN/PROZEDUR)

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

SYSTEMPARAMETER

Temperatur	Konstante (Siehe Anmerkung 2).
Primäre Wellenlänge	405 nm (405-415 nm)
Testtyp	Turbidimetrische
Richtung	Zunahme
Probe : Reagenz-Verhältnis	1 : 45
z.B.: Probe Volumen	8 µL
Reagenz 1 Volumen	300 µL
Reagenz 2 Volumen	60 µL
Verzögert Zeit (Probe + R1)	30 Sekunden
Inkubationszeit	360 Sekunden
Reagenz-Blindgrenzen	niedrig 0,00 AU
(405nm, 1cm Lichtweg)	hoch 2,00 AU
Linearität	0,05 - 2,0 g/L (50 - 2000 mg/L)

BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Die Ergebnisse, in g/L oder mg/L ausgedrückt, werden automatisch berechnet.

24 STUNDEN URINPROTEIN-AUSSCHIEDUNG

1. Messen Sie die Urinmenge über 24 Stunden in Litern und tragen Sie diese ein.
2. Bestimmen Sie mithilfe der obigen Prozedur die Proteinkonzentration in g/L oder mg/L.
3. Multiplizieren Sie die Proteinkonzentration mit der 24-Stunden-Urinmenge. Dieser Wert ist die Proteinausscheidung/24 Stunden.

Beispiel:

24 Stunden Urinmenge = 1,12 Liter
 Urinprotein-Konzentration = 0,13 g/L oder 130 mg/L

24 Stunden Urinprotein-Ausscheidung

0,13 x 1,12 = 0,146 g/24 Stunden
 130 x 1,12 = 146 mg/24 Stunden

ANMERKUNGEN

- Die Reagenz- und Probenmengen können proportional geändert werden, um sie verschiedenen Photospektrometern anzupassen.
- Die Temperatur der Reaktion ist nicht entscheidend, jedoch sollte die Temperatur des Spektrophotometers zwischen Zimmertemperatur und 37°C konstant gehalten werden.
- Das endgültige Absorptionsvermögen sollte innerhalb von 10 Minuten gemessen werden.
- Umrechnung: g/L x 1000 = mg/L

KALIBRIERUNG

Zu Kalibrierungszwecken sollten kommerziell erhältliche Urinprotein-Standards, wie z.B. die Thermo Microprotein-Standards (Katalognr.: TR50943) verwendet werden. Thermo empfiehlt, dass jeder Lauf mit mindestens 5 Standards kalibriert werden sollte, die auf NIST-Material rückführbar sind und in Werten von 0,1 bis 2,4 g/L (100 bis 2400 mg/L) reichen. 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:-

- Wenigstens alle acht Stunden.
 - Wenn eine neue Reagenzflasche verwendet wird.
 - Nach einer Wartung oder dem Austausch einer wichtigen Komponente.
- Kontrollergebnisse, die höher oder niedriger als die festgelegten Grenzwerte sind, deuten an, dass der Test aus der Kontrolle geraten ist. In solchen Situationen werden die folgenden Korrekturen empfohlen:-
- 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

- Bei Proben mit Proteinkonzentrationen bis zu 60 g/L wurde kein "Hook"-Effekt beobachtet.
- Für einen umfangreichen Bericht der Faktoren, die die Bestimmung von Urinprotein beeinflussen, nehmen Sie auf die Veröffentlichung von Young Bezug⁶.
- Interferenz von Hämoglobin wurde ab einem Wert von 20 mg/dL beobachtet.
- Keine Interferenz von Bilirubin bis zu einem Wert von 26 µmol/L (1,5 mg/dL).



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

**ERWARTETE WERTE**

Die Ausscheidung von Protein in Urin beträgt normalerweise weniger als 0,15 g/24 Stunden (150 mg/24 Stunden). Höhere Werte deuten fast immer auf eine Erkrankung hin¹.

Die angegebenen Werte sind stellvertretend für den erwarteten Wertebereich bei dieser Methode und sollten nur als Richtlinie gelten. Es wird empfohlen, dass jedes Labor diesen Bereich verifiziert oder für die von ihm betreute Bevölkerungsgruppe ein Referenzintervall ableitet.⁷

LEISTUNGSDATEN

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

UNGENAUIGKEIT

Innerhalb des Testlaufs:	Stufe I	Stufe II	Stufe II
Zahl d. Daten Punkte	20	20	20
Durchschnitt (g/L / mg/L)	0,184 / 184	0,510 / 510	1,750 / 1750
SD (g/L / mg/L)	0,009 / 9	0,024 / 24	0,034 / 34
CV (%)	4,9	4,7	1,9

Zwischen Tag:	Stufe I	Stufe II	Stufe II
Zahl d. Daten Punkte	20	20	20
Durchschnitt (g/L / mg/L)	0,182 / 182	0,505 / 505	1,757 / 1757
SD (g/L / mg/L)	0,010 / 10	0,022 / 22	0,029 / 29
CV (%)	5,5	4,4	1,7

EXAKTHEIT (GENAUIGKEIT)

Es wurden mit einer anderen kommerziell erhältlichen Benzethonium-Chlorid-Methode Vergleichsstudien durchgeführt. Normale und abnormale Urinproben wurden parallel getestet und die Ergebnisse mit der Methode der kleinsten Quadrate verglichen. Es entstand die folgende Statistik:

Anzahl der Probenpaare	63
Bereich der Probenergebnisse	0,01 - 1,58 g/L (10 - 1580 mg/L)
Durchschnitt der Bezugsmethoden-Ergebnisse	0,42 g/L (420 mg/L)
Durchschnitt der Microprotein-Ergebnisse	0,44 g/L (440 mg/L)
Neigung	1,14
Intercept	-0,04 g/L (-40 mg/L)
Korrelationskoeffizient	0,992

LINEARITÄT

Bei empfohlener Durchführung ist der Test bis zu 2,0 g/L (2000 mg/L).

SENSITIVITÄT

Bei Anwendung gemäß der empfohlenen Prozedur ist das Reagenz bis zu einem Wert von 0,05 g/L (50 mg/L) sensitiv.

LITERATURHINWEISE

- Zilva JF, Pannall PR. "Plasma Proteins and Immunoglobulins" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Lloyd-Luke 1979; Chap XIV:305-29.
- First MR. "Renal Function" in Clinical Chemistry theory, analysis and correlation. Kaplan LA, Amadeo JP (Ed). CV Mosby Co. 1984; Chap 23:418.
- Koller A. "Total Urine Protein" in Clinical Chemistry theory, analysis and correlation Kaplan LA, Amadeo JP (Ed). CV Mosby Co. 1984; Chap 60: 1319-20.
- Watkins I, Jenkins L. Clinical Chemistry 1987; 33:21 27-8.
- Shephard MDS, Mazzachi RD. The Clinical Biochemist 1983; 4: 61-7.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition 1990; 3: 296-300.
- Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.

© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

REF

Nachbestellinformation

Katalog Nr.

REAG 1

REAG 2

TR50001

1 x 125 mL

1 x 25 mL