

BioLyzer® Order information:

Catalog No.	BioLyzer	Contents		
B5601	200 / 600	R1	6 x	14 ml
		R1a	6 x	6 ml
B5603	300 / 600*	R1	6 x	14 ml
		R1a	6 x	6 ml

*only for instruments with a reagent tray for 20 / 70ml bottles

Intended use:

In vitro test for the quantitative determination of glycated protein (fructosamine) in human serum and plasma on automated clinical chemistry analyzers. Measurement of fructosamine may be a suitable alternative to measurement of HbA1c in patients with Hb variants.

Summary:

Fructosamine is a time-averaged indicator of blood glucose levels and is used to assess the glycemic status of diabetics. The concentration of glycated proteins such as glycohemoglobin, glycoalbumin or glycated total protein is generally recognized to be valuable in evaluating the glycemic status of diabetic patients. Various other methods used for such determinations such as affinity chromatography and the thiobarbituric acid method are labour-intensive and time consuming and results obtained from different laboratories are difficult to compare. This assay is based on the Nitroretrozolium-blue method and yields a precise and easily automatable determination of the non-enzymatic glycation of serum proteins. The turnover of serum proteins (albumin has a half-life of 19 days) is less than that of hemoglobin (lifespan of erythrocytes is approx. 120 days), and therefore fructosamine determinations provide a means of monitoring patient blood glucose status over a shorter period (1-3 weeks) than glycohemoglobin (6-8 weeks). As a result, changes in fructosamine values alert the physician to deteriorating glycemic control earlier than changes in HbA1c values. In addition, fructosamine levels decrease more quickly than HbA1c when diabetic patients are brought under better control.

Test principle:

Colorimetric assay

Sample and addition of R1 (NBT reagent/buffer):

This colorimetric assay is based on the ability of ketoamines to reduce nitro-tetrazolium-blue (NB) to formazan in an alkaline solution. The rate of formation of formazan is directly proportional to the concentration of fructosamine. Uric acid interference is eliminated by Uricase and detergent eliminates matrix effects. The rate of reaction is measured photometrically at 546nm.

Reagent Concentration:

R1:
Potassium carbonate buffer pH 10.3 250 mmol/l

R1a:
Nitroretrozolium-blue buffer 0.57 mmol/l
Sodium cholate 4.9 mmol/l
Potassium chloride 49 mmol/l
Potassium phosphate 49 mmol/l
Uricase (Arthrobacter species) >2.8 kU/l
Detergent 2.1 %

Preparation and stability:

R1: Add the contents of one bottle 1a careful to one bottle 1. Mix by swirling gently. A slight discoloration of R1 does not interfere with the performance of the assay.

Unopened kit components: up to the expiration date at +2 - +8°C
Store protected from light after opening.

Onboard stability: 28 days.

Notes:

For in vitro diagnostic use.

The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>. Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents. Disposal of all waste material should be in accordance with local guidelines.

Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes.

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Heparinized or EDTA plasma.

Stability: 3 days at +20°C to +25°C
2 weeks at + 4°C to + 8°C
2 month at -20°C

Avoid repeated freezing and thawing. Mix samples well after thawing.

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within ± 10% of initial values.

Icterus: Significant positive interference at an index I of 12 (approximate conjugated and unconjugated bilirubin concentration: 12 mg/dl).

Hemolysis: Significant positive interference at an index H of 31 (approximate hemoglobin concentration 31 mg/dl). Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 24 (approximate triglycerides concentration: 48 mg/dl). There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

Glycemia: No significant interference up to glucose concentrations of 900 mg/dl (50 mmol/l) and therefore fasting samples are not required. Glucose levels of more than 900 mg/dl falsely elevate fructosamine values to a significant extent in samples having normal fructosamine values.

Ascorbic acid concentrations of up to 4 mg/dl (220 µmol/l), exceeded only after infusion of high doses, do not interfere with the assay.

No significant interference from uric acid concentrations up to 24 mg/dl (1428 µmol/l).

The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

Testing procedure:

• Working solutions as described above

Additional materials required

• Calibrators and controls

• 0.9% NaCl

• General laboratory equipment

Measuring / reportable range:

10 - 600 µmol/l

Determine samples with higher activities via the rerun function using 0.9% NaCl.

Expected values:

Fructosamine concentrations were determined in 555 apparently healthy subjects between the ages of 20 and 60. A reference range of 205 to 285 µmol/l for adults without diabetes was determined in this study.

In a poorly controlled diabetic patient population, mean fructosamine values were reported to be 396 µmol/l (range 228-563 µmol/l). A fructosamine concentration above the established expected values is an indicator for hyperglycemia during the preceding 1-3 weeks or longer.

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes, fructosamine results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

Note:

In haemraemic states (e. g. during pregnancy) it is recommended to relate fructosamine to total protein using the following formula:

$$\text{Fructosamine}_{\text{related to total protein}} = \frac{\text{fructosamine}_{\text{measured in } \mu\text{mol/l}} \times 7.2}{\text{total protein}_{\text{measured in g/l}}} [\mu\text{mol/l}]$$

Correction for serum albumin is not recommended. Dysproteinemic states may produce erroneous fructosamine values.

Analytical sensitivity (lower detection limit):

10 µmol/l

The lower detection limit represents the lowest measurable fructosamine activity that can be distinguished from zero.

Imprecision:

Reproducibility was determined using samples in an internal protocol. The following results were obtained.

Sample	With in run		
	Mean (µmol/l)	SD (µmol/l)	CV %
Sample 1	472.5	8.4	1.8
Sample 2	287.7	6.0	2.1
Sample 3	531.2	13.6	2.6

Sample	Run to run		
	Mean (µmol/l)	SD (µmol/l)	CV %
Sample 1	402.9	7.9	2.0
Sample 2	279.0	5.1	1.8
Sample 3	527.3	11.5	2.2

Method comparison:

A comparison of the Analyticon FRUC (y) with a commercial obtainable assay (x) resulted in the following correlation (µmol/l):

$$y = 8.477x + 10.79; \quad r = 0.9612$$

Quality Control:

For quality control, use suitable control material. The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Calibration:

Standardization: the fructosamine assay was standardized against glycated poly-L-lysine and C-glucose.

Calibration Type: Linear

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® FRUC 3 x 1 ml #14560

Calibration frequency

Two-point calibration is recommended:

- every 7 days if reagent bottles are onboard the analyzer for more than 7 days
- after reagent bottle change if previous reagent bottles were onboard the analyzer for more than 7 days
- after reagent lot change
- as required following quality control procedures

Disposal:

Please note the legal regulations.

Text passages with grey background were changed in the latest revision of this package insert.

Literature:

1. Armbruster DA. Clin Chem 1987;33:2153-2163.
2. Furth AJ. Anal Biochem 1988;175:347-360.
3. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem. 1986;32:470-474.
4. Guder WG Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preatalytical Variables. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag, 1996.
5. Henrichs HR, ed. European Fructosamine Workshop. Wien Klin Wochenschr Suppl 1990:180.
6. Johnson RN, Metcalf PA, Baker JR. Clin Chim Acta 1983;127: 87-95.
7. Kennedy, AL, Merimee TJ. Glycosylated serum protein and hemoglobin A1 levels to measure control of glycemia. Ann Intern Med. 1981 ;95:56-58.
8. Kruse-Jarres JD, Jarausch J, Lehmann F Vogt BW, Rietz R Lab Med 1989;13:245-253.
9. Melzi d'Eril GV, Bosini T, Solerte SB, Fioravanti M, Ferrari E. Wien Klin Wochenschr Suppl 1990;180:60-63.
10. Schleicher ED, Olgemöller B, Wiedenmann E, Gerbitz KD. Clin Chem. 1993;39:625-628.
11. Schleicher ED, Vogt BW. Clin Chem. 1990;36:136-139.
12. Tahara Y Shima K. Diabetes Care 1995;18:440-447.

Bioalyzer® Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Bioalyzer	Inhalt
B5601	200 / 600	R1 6 x 14 ml
		R1a 6 x 6 ml
B5603	300 / 600*	R1 6 x 14 ml
		R1a 6 x 6 ml

*nur für Instrumente mit Reagenzteller für 20 / 70ml Flaschen

Anwendungszweck:

In vitro Test zur quantitativen Bestimmung von glykiertem Protein (Fructosamin) im Humanserum und -plasma mit klinisch-chemischen Analysenautomaten. Die Bestimmung von Fructosamin ist eine geeignete Alternative zur HbA1c-Bestimmung bei Patienten mit Hb-Varianten.

Zusammenfassung:

Fructosamin ist ein zeitlich mittelender Indikator für den Blutzuckerspiegel und dient zur Beurteilung des glykämischen Status von Diabetikern. Die Konzentration von glykierten Proteinen wie Glykohämoglobin, Glykoalbumin oder glykiertem Gesamtprotein fand allgemein Anerkennung für die Auswertung der Glykämie bei Diabetespacienten. Verschiedene Methoden für diese Messungen wie Affinitätschromatographie und die Thiobarbitursäure-Methode können arbeitsintensiv im Labor, zeit-aufwändig und unter den Laboratorien schwer vergleichbar sein. Dieser Test beruht auf der Nitrotetrazolium-Blau-Methode und liefert eine einfache präzise und leicht automatisierbare Messung der nicht-enzymatischen Glykierung von Serumproteinen.

Da der Umsatz von Serumproteinen (die Halbwertszeit von Albumin beträgt 19 Tage) kürzer ist als derjenige von Hämoglobin (Lebensdauer von Erythrozyten ca. 120 Tage), überwachen Fructosaminmessungen den Glucosestatus über einen kürzeren Zeitraum (1-3 Wochen) als Glykohämoglobin (6-8 Wochen). Änderungen der Fructosaminwerte können dem Arzt rascher eine Verschlechterung der Stoffwechsellage anzeigen als Änderungen der HbA1c Werte. Umgekehrt fällt der Fructosaminspiegel durch bessere Therapiekontrolle des Diabetikers rascher als der HbA1c Spiegel ab.

Testprinzip:

Probe und Zugabe von R1 (NBT Reagenz/Puffer):
Der Farb-Test beruht auf der Fähigkeit von Ketoaminen, Nitrotetrazolium-Blau (NB) in einer alkalischen Lösung zu Formazan zu reduzieren. Die Geschwindigkeit der Formazanbildung ist der Fructosaminkonzentration direkt proportional. Uricase dient zur Eliminierung von Harnsäureinterferenz, während ein Detergenz Matrixeffekte eliminiert. Die Reaktionsgeschwindigkeit wird bei 546 nm photometrisch gemessen.

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:	
Kalium-Carbonatpuffer pH 10,3	250 mmol/l
R1a:	
Nitrotetrazolium-Blau Puffer	0,57 mmol/l
Natrium-Cholat	4,9 mmol/l
Kaliumchlorid	49 mmol/l
Kalium-Phosphatpuffer	49 mmol/l
Kalium-Carbonatpuffer pH 10,3	250 mmol/l
Uricase (Arthrobacter species)	2,8 kU/l
Detergenz	2,1 %

Herstellung und Haltbarkeit:

Inhalt einer Flasche 1a in eine Flasche 1 geben und durch leichtes Schwenken mischen. Eine leichte Verfärbung von R1 beeinträchtigt nicht die Funktionsfähigkeit des Tests.

Lagerung und Haltbarkeit:

Ungeöffnete Packungsbestandteile: bei 2-8°C bis zum angegebenen Verfallsdatum Nach dem Öffnen lichtgeschützt lagern.

Onboard-Stabilität: 28 Tage

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen

Heparin- oder EDTA-Plasma.

Haltbarkeit: 3 Tage bei +20°C bis +25°C
2 Wochen bei + 4°C bis + 8°C
2 Monate bei -20°C

Mehrmaliges Einfrieren und Auftauen vermeiden. Proben nach dem Auftauen gut mischen.

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Hinweis:

In vitro Diagnostikum.

Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.

Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung ±10% vom Ausgangswert.

Ikterus: Wesentlich höhere Beeinflussung bei einem I von 12 (entsprechend ca. 12 mg/dl Bilirubin).

Hämolyse: Wesentlich höhere Beeinflussung bei einem Index H von 31 (ca. 31 mg/dl Hämoglobin).

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 24 (ca. 48 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufrieden stellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.

Glykämie: Eine im Nüchternzustand gewonnene Probe ist nicht erforderlich, da Glucose bis zu 900 mg/dl (50 mmol/l) keine Interferenz verursachte. Glucosespiegel über 900 mg/dl erhöhen in einer Probe mit einem normalen Fructosaminwert die Fructosaminkonzentration wesentlich.

Ascorbinsäure bis zu einer Konzentration von 4 mg/dl (220 mmol/l), die nur nach Infusion von hohen Dosen überschritten wird, stört den Test nicht.

Keine wesentliche Beeinflussung von Harnsäurekonzentrationen bis 24 mg/dl (1428 µmol/l).

Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Testverfahren:

Gelieferte Materialien

• Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben

Zusätzlich benötigte Materialien

• Kalibrations- und Kontrollmaterial

• Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

Messbereich:

10 - 600 µmol/l

Proben mit höheren Konzentrationen werden bestimmt über die ReRun-Funktion mit NaCl-Lösung (0,9%).

Referenzbereich:

Fructosaminkonzentrationen wurden bei 555 anscheinend gesunden Probanden zwischen 20 und 60 Jahren bestimmt. In dieser Studie wurde für Erwachsene ohne Diabetes ein Referenzbereich von 205 bis 285 µmol/l ermittelt. Für eine Population von Patienten mit schlecht eingestelltem Diabetes wurden Fructosaminwerte von durchschnittlich 396 µmol/l (Bereich 228-563 µmol/l) beschrieben. Eine Fructosaminkonzentration, die oberhalb des festgesetzten Referenzbereichs liegt, ist ein Hinweis auf eine Hyperglykämie während der vorangegangenen 1-3 Wochen oder länger.

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die Fructosaminergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Bei Hydrämiezuständen (zum Beispiel Schwangerschaft) kann ein Bezug auf Gesamtprotein nach der folgenden Formel sinnvoll sein:

$$\text{Fructosamin}_{\text{bezogen auf Totalprotein}} = \frac{\text{Fructosamin}_{\text{gemessen in } \mu\text{mol/l}} \times 7,2}{\text{Totalprotein}_{\text{gemessen in g/l}}} [\mu\text{mol/l}]$$

Ein Bezug auf Serumalbumin wird nicht empfohlen. Dysproteinämien können zu falschen Fructosaminwerten führen.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

Nachweisgrenze: 10 µmol/l

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren Fructosaminkonzentration, die von Null unterschieden werden kann.

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben bestimmt und ergaben folgende Ergebnisse:

	In der Serie		
Probe	MW (µmol/l)	SD (µmol/l)	VK %
Probe 1	472,5	8,4	1,8
Probe 2	287,7	6,0	2,1
Probe 3	531,2	13,6	2,6
	Tag / Tag		
Probe	MW (µmol/l)	SD (µmol/l)	VK %
Probe 1	402,9	7,9	2,0
Probe 2	279,0	5,1	1,8
Probe 3	527,3	11,5	2,2

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon FRUC (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden folgende Ergebnisse erhalten (µmol/l):

$$y = 8,477x + 10,79; \quad r = 0,9612$$

Qualitätskontrolle:

Zur Qualitätskontrolle geeignetes Kontrollmaterial einsetzen. Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

Kalibration:

Die Fructosamin-Methode wurde gegen glykiertes Poly-L-Lysin und C-Glucose abgeglichen.

Kalibrations Typ: Linear

S1: Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

S2: Bio Cal® FRUC 3 x 1 ml #14560

Kalibrationshäufigkeit:

Eine Zweipunkt-Kalibration wird empfohlen:

- Alle 7 Tage, wenn die Reagenzflaschen länger als 7 Tage im Gerät stehen.
- Bei Reagenzflaschenwechsel, wenn die vorhergehenden Reagenzflaschen länger als 7 Tage im Gerät standen.
- Bei Reagenzchargenwechsel
- Wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern.

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Grau hinterlegte Textpassagen wurden in der letzten Überarbeitung dieser Gebrauchsanweisung geändert.

Literatur:

1. Armbruster DA. Clin Chem 1987;33:2153-2163.
2. Furth AJ. Anal Biochem 1988;175:347-360.
3. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem. 1986;32:470-474.
4. Guder WG Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preanalytical Variables. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag, 1996.
5. Henrichs HR, ed. European Fructosamine Workshop. Wien Klin Wochenschr Suppl 1990:180.
6. Johnson RN, Metcalf PA, Baker JR. Clin Chim Acta 1983;127: 87-95.
7. Kennedy, AL, Merimee TJ. Glycosylated serum protein and hemoglobin A1 levels to measure control of glycemia. Ann Intern Med. 1981 ;95:56-58.
8. Kruse-Jarres JD, Jarausch J, Lehmann F Vogt BW, Rietz R Lab Med 1989;13:245-253.
9. Melzi d'Eril GV, Bosini T, Solerte SB, Fioravanti M, Ferrari E. Wien Klin Wochenschr Suppl 1990;180:60-63.
10. Schleicher ED, Olgemöller B, Wiedenmann E, Gerbitz KD. Clin Chem. 1993;39:625-628.
11. Schleicher ED, Vogt BW. Clin Chem. 1990;36:136-139.
12. Tahara Y Shima K. Diabetes Care 1995;18:440-447.