

### Order information:

Catalog No.		Contents			
H9501	Hit I (ILab*)	R1	9 x	40 ml	R2 9 x 45 ml
H9503	Hit 917 (AU*)	R1	6 x	60 ml	R2 6 x 60 ml
AU9503	AU	R1	6 x	60 ml	R2 6 x 60 ml

(\* ) Kit contains only reagent barcode for Hitachi systems

### System information:

Hitachi 911: ACN 166  
 Hitachi 917: ACN 758 or ACN 756 (STAT)  
 For application on the Hitachi 912, please use an open system or contact the Analyticon Customer Support.

### Intended use:

In vitro test for the quantitative determination of total protein in human serum and plasma.

### Summary:

Plasma proteins are synthesized predominantly in the liver, plasma cells, lymph nodes, the spleen and in bone marrow. In the course of disease the total protein concentration and also the percentage represented by individual fractions can significantly deviate from normal values.

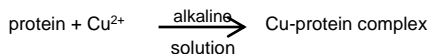
Hypoproteinemia can be caused by diseases and disorders such as loss of blood, sprue, nephrotic syndrome, severe burns, salt retention syndrome and Kwashiorkor (acute protein deficiency). Hyperproteinemia can be observed in cases of severe dehydration and illnesses such as multiple myeloma. Changes in the relative percentage of plasma proteins can be due to a change in the percentage of one plasma protein fraction. Often in such cases the amount of total protein does not change. The A/G-ratio is commonly used as an index of the distribution of albumin and globulin fractions. Marked changes in this ratio can be observed in cirrhosis of the liver, glomerulonephritis, nephrotic syndrome, acute hepatitis, lupus erythematosus as well as in certain acute and chronic inflammations. Total protein measurements are used in the diagnosis and treatment of a variety of diseases involving the liver, kidney, or bone marrow, as well as other metabolic or nutritional disorders.

### Test principle:

Colorimetric assay

- Sample and addition of R1
- Addition of R2 (Biuret reagent) and start of the reaction:

Divalent copper reacts in alkaline solution with protein peptide bonds to form the characteristic purple-colored biuret complex. Sodium potassium tartrate prevents the precipitation of copper hydroxide and potassium iodide prevents autoreduction of copper.



The color intensity is directly proportional to the protein concentration which can be determined photometrically.

### Reagent Concentration:

<b>R1:</b>	
Sodium hydroxide	550 mmol/l
potassium sodium tartrate	23.4 mmol/l
<b>R2:</b>	
Sodium hydroxide	550 mmol/l
potassium sodium tartrate	23.4 mmol/l
potassium iodide	13 mmol/l
copper sulfate	20.6 mmol/l

### Preparation and stability:

R1: Ready for use  
 R2: Ready for use  
 Unopened kit components: Up to the expiration date at +2°C to +8°C  
 Onboard stability: R1 28 days  
 R2 28 days

### Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes.

Heparin or EDTA plasma

Stability: 3 days at +2°C to +8°C  
 6 months at -20°C

Separate the serum or plasma within 4 hours from the clot or cells.

The total protein concentration is by 0.4 to 0.8 mg/dl lower when the sample is collected from a patient situated in the recumbent position rather than upright.

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

### 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.

### Limitation interference:

Criterion: Recovery within ± 10% of initial value.

Icterus: No significant interference up to an index I of 22 corresponding to approximately 22 mg/dl of bilirubin.

Hemolysis: No significant interference up to an index H of 1100 (approximate hemoglobin concentration: 1100 mg/dl).

This interference results from the fact that hemoglobin is reacting as a protein in the Total Protein assay.

Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 1075 (approximate triglycerides concentration: 2150 mg/dl). There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

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:

Applications for automated systems are available on request.

#### Materials provided

- Working solutions as described above

#### Additional materials required

- Calibrators and controls as indicated below
- 0.9% NaCl

### Manual procedure:

Wavelength:	546 nm (530-570 nm)
Temperature:	+25°C to +37°C
Cuvette:	1 cm light path
Zero adjustment:	Reagent blank/ each series needs
one reagent blank only	

	Blank	Sample / Calibrator
R1	500 µl	500 µl
R2	500 µl	500 µl
Sample / Calibrator	---	20 µl

Mix. Incubate for 10 minutes. Measure absorbance against reagent blank.

### Calculation:

$$\frac{\Delta A \text{ sample}}{\Delta A \text{ Calibrator}} \times \text{Conc. of Calib.} = \text{Protein in g/dl}$$

A sample blank has to be determined for haemolytic and lipemic sera by pipetting 20 µl of serum to 1000 µl NaCl (0.9%) and measuring the absorbance against distilled water. The absorbance of this sample blank has to be subtracted from the absorbance of the sample

### Reference value:

#### Expected values according to Josephson

Adults: 6.6-8.7 g/dl or 66-87 g/l

For reference ranges for children, please refer to the book „Pediatric reference ranges“ 3<sup>rd</sup> ed. S.J. Soldin, C. Brugnara, I.M. Hicks AACCPress

#### Expected values according to Tietz

Unbilical Cord	4.8-8.0 g/dl
Pemature	3.6-6.0 g/dl
Newborn	4.6-7.0 g/dl
1 week	4.4-7.6 g/dl
7 months – 1 year	5.1-7.3 g/dl
1-2 years	5.6-7.5 g/dl
> 3 years	6.0-8.0 g/dl
Adult (ambulatory)	6.4-8.3 g/dl

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, total protein results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

### Measuring range:

Measuring range: 0.2-13 g/dl (2.0-130 g/l)

Determine samples having higher concentrations via the rerun function. On instruments without rerun function, manually dilute samples with 0.9% NaCl or distilled/deionized water (e. g. 1 + 2). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. 3).

### Analytical sensitivity (lower detection limit):

Detection limit: 0.2 g/dl / 2 g/l

The detection limit represents the lowest measurable protein concentration that can be distinguished from zero.

### **Imprecision:**

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

<b>Within run</b>			
Sample	Mean g/dl	SD g/dl	CV %
Control serum 1	5.20	0.039	0.73
Control serum 2	5.37	0.039	0.75
Control serum 3	.70	0.037	0.65

<b>Between Day</b>			
Sample	Mean g/dl	SD g/dl	CV %
Control serum 1	5.15	0.070	1.36
Control serum 2	5.48	0.086	1.57
Control serum 3	5.95	0.085	1.43

### **Method comparison:**

A comparison of the Analyticon Fluitest TP (y) with a commercial obtainable assay

(x) gave following results:

$$y = 0.951x + 2.75; \quad r=0.999$$

### **Quality Control:**

Human Control Serum

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Controptath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

### **Calibration:**

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® E	10 x 3 ml	#1430
Bio Cal®	20 x 3 ml	#1420

### **Calibration frequency:**

Two point calibration is recommended

- after reagent lot change
- as required following quality control procedures

Calibration verification: Not necessary.

### **Disposal:**

Please note the legal regulations.

### **Literature:**

1. Brobeck J.R. (ed.). Physiological Basis of Medical Practice, 9<sup>th</sup> Baltimore, MD: Wilkins and Wilkins, 1973:4-7.
2. Glick M.R., Ryder K.W., Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
3. Josephson B, Gyllenswärd C. The Development of the Protein Fractions and of Cholesterol Concentration in the Serum of Normal Infants and Children. Scand J Clin Lab Investigation 1957; 9:29.
4. Koller A. Total serum protein. in Kaplan L.A., Pesce A.J. (ed.). Clinical Chemistry, Theory, Analysis, and Correlation. St. Louis: Mosby Company, 1984:1316-1319
5. Passing H. Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709-720.
6. Weichselbaum T.E. Amer J Clin Path 1946;16:40.

### Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Inhalt					
H9501	Hit I (ILab*)	R1	9 x	40 ml	R2	9 x 45 ml
H9503	Hit 917 (AU*)	R1	6 x	60 ml	R2	6 x 60 ml
AU9503	AU	R1	6 x	60 ml	R2	6 x 60 ml

(\* ) Kit enthält nur Reagenzien-Barcodes für Hitachi Systeme.

### Systeminformation:

Hitachi 911: ACN 166  
 Hitachi 917: ACN 758 oder ACN 756 (STAT)  
 Für die Benutzung am Hitachi 912 verwenden Sie bitte ein offenes System oder wenden Sie sich an den Analyticon Kundensupport.

### Anwendungszweck:

In vitro Test zur quantitativen Bestimmung von Gesamt-Eiweiß in Humanserum und -plasma.

### Zusammenfassung:

Plasmaproteine werden vorrangig in der Leber, den Plasmazellen, den Lymphknoten, der Milz und im Rückenmark synthetisiert. Bei einer Erkrankung kann sowohl die Gesamtproteinkonzentration als auch der Anteil der einzelnen Fraktionen erheblich von den Normalwerten abweichen.

Hypoproteinämie kann durch Erkrankungen und Störungen, wie nephrotisches Syndrom, starken Blutverlust, Sprue (Proteinabsorptionsstörung), schwere Verbrennungen, Salzretentionssyndromen und Kwashiorkor (akuter Proteinmangel), hervorgerufen werden.

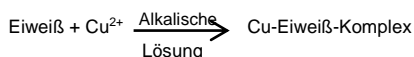
Hyperproteinämie ist in Fällen schwerer Dehydratation und Erkrankungen, wie multiples Myelom, zu beobachten. Veränderungen im Anteil der Plasmaproteine können nur auf eine der verschiedenen Proteinfractionen zurückzuführen sein. In diesem Fall ändert sich die Gesamtproteinmenge oftmals nicht. Das A/G-Verhältnis wird häufig als Index der Verteilung der Albumin- und der Globulinfraktion genutzt. Starke Veränderungen dieses Verhältnisses sind bei Leberzirrhose, Glomerulonephritis, nephrotischem Syndrom, akuter Hepatitis, Lupus erythematodes, sowie bei einigen akuten und chronischen Entzündungen zu beobachten. Messungen des Gesamteiweißes dienen zur Diagnose und Verlaufsbeurteilung einer Reihe von Erkrankungen der Leber, der Niere oder des Rückenmarkes ebenso wie weitere Stoffwechsel- oder ernährungsbedingte Erkrankungen.

### Testprinzip:

Colorimetrischer Test (Biuret-Reaktion)

- Probe und Zugabe von R1
- Zugabe von R2 (Biuret-Reagenz) und Start der Reaktion:

Zweiwertiges Kupfer reagiert in alkalischer Lösung mit der Peptidbindung der Eiweiße zum charakteristischen purpurfarbenen Biuretkomplex. Mit Natrium-Kalium-Tartrat wird die Ausfällung von Kupferhydroxid und mit Kaliumjodid die Autoreduktion des Kupfers verhindert.



Die Farbintensität ist direkt proportional zur Eiweißkonzentration, die photometrisch gemessen wird.

### Konzentration der gebrauchsfertigen Lösungen:

<b>R1:</b>	
NaOH	550 mmol/l
Kalium-Natrium-Tartrat	23,4 mmol/l
<b>R2:</b>	
NaOH	550 mmol/l
Kalium-Natrium-Tartrat	23,4 mmol/l
Kaliumjodid	13 mmol/l
Kupfersulfat	20,6 mmol/l

### Herstellung und Haltbarkeit:

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig  
 R2: Inhalt ist gebrauchsfertig  
 Ungeöffnete Packungsbestandteile sind bei +2°C bis +8°C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

Onboard Stabilität:	R1	28 Tage
	R2	28 Tage

### Untersuchungsgut:

Serum, Heparin- oder EDTA-Plasma  
 Haltbarkeit: 3 Tage bei +2°C bis +8°C  
 6 Monate bei -20°C

Serum bzw. Plasma ist innerhalb von 4 Stunden vom Blutkuchen bzw. den Zellen abzutrennen. Die Gesamteiweißkonzentration ist um 0,4 bis 0,8 mg/dl niedriger wenn sich der Patient bei der Entnahme des Serums in der Rückenlage befand und nicht aufrecht stand.

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: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 22 (ca. 22 mg/dl Bilirubin).  
 Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 1100 (ca. 1100 mg/dl Hämoglobin). Diese Störung beruht darauf, dass Hämoglobin als Protein in der Gesamt-Eiweiß-Bestimmung miterfasst wird.  
 Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 1075 (ca. 2150 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.  
 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:

Anwendungen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

#### Gelieferte Materialien

- Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben.

#### Zusätzlich benötigte Materialien

- Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben.
- Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

### Manuelle Testdurchführung:

Wellenlänge:	546 nm (530-570 nm)
Reaktionstemperatur:	+25°C bis +37°C
Schichtdicke:	1 cm
Messung:	pro Messreihe ein Reagenzienleerwert

	Leerwert	Probe / Kalibrator
R1	500 µl	500 µl
R2	500 µl	500 µl
Probe / Kalibrator	---	20 µl

Mischen. 10 Minuten inkubieren. Extinktion gegen Reagenzienleerwert messen.

### Berechnung:

$$\frac{\Delta E \text{ Probe}}{\Delta E \text{ Kalibrator}} \times \text{Kalibratorkonz.} = \text{Protein in g/dl}$$

Bei der Messung lipämischer, ikterischer oder hämolytischer Proben ist ein Probenleerwert mitzuführen. Dazu werden 20 µl Probe und 1000 µl NaCl-Lösung (0,9%) pipettiert und die Extinktion gegen Aqua dest. bestimmt. Die Extinktion des Probenleerwertes wird von der Extinktion der Probe abgezogen.

### Referenzbereich:

#### Referenzbereich nach Josephson

Erwachsene: 6,6-8,7 g/dl bzw. 66-87 g/l

Referenzbereiche für Kinder bitte dem Buch „Pediatric reference ranges“ 3. Auflage. S.J. Soldin, C. Brugnara, I.M. Hicks AACCC Press entnehmen.

#### Referenzbereiche nach Tietz

Nabelschur	4,8-8,0 g/dl
Frühgeburt	3,6-6,0 g/dl
Neugeborene	4,6-7,0 g/dl
1 Woche	4,4-7,6 g/dl
7 Monate – 1 Jahr	5,1-7,3 g/dl
1-2 Jahre	5,6-7,5 g/dl
> 3 Jahre	6,0-8,0 g/dl
Erwachsene (ambulant)	6,4-8,3 g/dl

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

### Messbereich:

0,2-13 g/dl bzw. 2,0-130 g/l  
 Proben mit höheren Konzentrationen werden über eine Rerun-Funktion bestimmt. Bei Geräten ohne Rerun-Funktion werden diese Proben manuell mit Natriumchlorid-Lösung (0,9%) oder dest. bzw. entionisiertem Wasser verdünnt (z.B. 1 + 2). Ergebnis mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multiplizieren (z.B. Faktor 3).

### Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

0,2 g/dl bzw. 2,0 g/l  
 Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren Gesamt-Eiweiß-Konzentration, die von Null unterschieden werden kann.

### Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben bestimmt und ergaben folgende Ergebnisse:

Probe	In der Serie		
	MW g/dl	SD g/dl	VK %
Kontrollserum 1	5,20	0,039	0,73
Kontrollserum 2	5,37	0,039	0,75
Kontrollserum 3	5,70	0,037	0,65

Probe	Tag / Tag		
	MW g/dl	SD g/dl	VK %
Kontrollserum 1	5,15	0,070	1,36
Kontrollserum 2	5,48	0,086	1,57
Kontrollserum 3	5,95	0,085	1,43

### Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Fluitest TP (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit Proben folgende Ergebnisse erhalten:

$$y = 0,951 x + 2,75 ; \quad r = 0,999$$

### Qualitätskontrolle:

Humane Kontrollseren:

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Contropath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

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

### Kalibration:

S1: 0,9% NaCl

S2: Bio Cal® E	10 x 3 ml	#1430
Bio Cal®	20 x 3 ml	#1420

### Kalibrationshäufigkeit:

Zweipunktkalibration wird empfohlen bei

- Reagenzchargenwechsel
- wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

### Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

### Literatur:

1. Brobeck J.R. (Hrsg.). Physiological Basis of Medical Practice, 9 Auflage. Baltimore, MD: Wilkins and Wilkins, 1973:4-7.
2. Glick M.R., Ryder K.W., Jackson SA. Graphical Comparisons of interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
3. Josephson B., Gyllenswärd C. The Development of the Protein Fractions and of Cholesterol Concentration in the Serum of Normal infants and Children. Scand J Clin Lab Investigation 1957; 9:29.
4. Koller A. Total serum protein. in Kaplan L.A., Pesce A.J. (Hrsg.). Clinical Chemistry, Theory, Analysis, and Correlation. St. Louis: Mosby Company, 1984:1316-1319
5. Passing H., Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709-720
6. Weichselbaum T.E. Amer J. Clin Path 1946;16:40.