

BioLyzer® Order Information:

Catalog No.	BioLyzer	Contents
B9301	200 / 600	R1 6 x 50 ml
B9303	300 / 600*	R1 6 x 60 ml

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

Intended use:

For the quantitative determination of protein in urine and cerebrospinal fluid on automated clinical chemistry analyzers.

Summary:

Urine is formed by ultrafiltration of plasma across the glomerular capillary wall. Proteins with a relative molecule mass > 40 000 are almost completely retained, while smaller substances easily enter the glomerular filtrate.

Most CSF protein originates by diffusion from plasma across the blood-CSF barrier. Elevated levels occur as a result of increased permeability of the blood-CFS barrier or with increased local synthesis of immunoglobulins.

Turbidimetric methods using trichloroacetic acid (TCA) or sulfosalicylic acid (SSA) require precipitation of the protein in the sample; the resulting turbidity may be unstable and flocculate.

Protein measurements in urine are used in the diagnosis and treatment of disease conditions such as renal or heart diseases, or thyroid disorders, which are characterized by proteinuria or albuminuria.

CSF protein measurements are used in the diagnosis and treatment of conditions such as meningitis, brain tumors, and infections of the central nervous systems.

Test principle:

Pyrogallol-red-molybdate complexes are bound to proteins. The binding causes an increase of absorbance at 600 nm. This increase is direct proportional to the protein concentration. Due to the presence of detergents in the reagents, different types of proteins give similar recoveries.

Reagent Concentration:

R1:	
Pyrogallol red	0.035 mmol/l
Sodium molybdate	0.018 mmol/l
Succinate buffer	50 mmol/l
Detergent	2 %

Preparation and stability:

Reagent and standard are ready to use.

The reagents are stable up to the stated expiry date when stored at +2 to +8°C and protected from light.

On board stability: 28 days
Contamination after opening must be avoided! Protect from light.

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.

Specimen:

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Collection and preparation

Urine:

Use random or 24 hour urine specimens. Use no preservatives.

Refrigerate specimen during collection.

Cerebrospinal Fluid (CSF):

No special additives are required. Blood in a CSF specimen invalidates the protein value.

Specimens may be stored at temperatures between +2°C and +8°C for 48 hours.

Limitations – interference:

Criterion: recovery ± 10 % of initial values

Icterus: No significant interference up to an index I of 15 (approximate conjugated and unconjugated bilirubin concentration: (15 mg/dl).

Hemolysis: Due to protein nature of haemoglobin hemolysis leads elevated values dependent on the degree of lysis of the erythrocytes.

No significant interference from:

Ascorbic Acid	Creatinine	Glucose
Phosphorus	Urea	Magnesium
Sodium Citrate	Caffeine	Cefazolin Sodium
Chlorpromazine	Calcium	L-Dopa Gentamicin
Sulfate	Sodium Oxalate	Uric Acid

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

Materials provided

• Working solutions as described above

Additional materials required

• Calibrators and controls as indicated below
• 0.9% NaCl

Measuring /reportable range:

5 – 100 mg/dl (0.05 – 1 g/l)

Determine samples having higher concentrations via the rerun function using 0.9 % NaCl.

Analytical sensitivity (lower detection limit):

Detection limit: 5 mg/dl or 0.05 g/l

The lower detection limit represents the lowest measurable USP Protein concentration that can be distinguished from zero. It is calculated as the concentration lying three standard deviations above that of the lowest standard.

Expected values:

Urine:

Random	< 12 mg/dl (< 120 mg/l)
24 hr	< 150 mg/24h (<150 mg/d)

Cerebrospinal Fluid:

Adults: < 45 mg/dl (< 0.45 g/l)

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

Imprecision:

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

Urine	Within run		
Sample	Mean (mg/dl)	SD (mg/dl)	CV %
Control 1	45.13	0.96	2.1
Control 2	82.11	1.42	1.7
Control 3	103.62	1.24	1.2

Urine	Run to run		
Sample	Mean (mg/dl)	SD (mg/dl)	CV %
Control 1	72.01	2.80	3.9
Control 2	74.20	2.14	2.9
Control 3	103.21	3.38	3.3

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Fluitest USP (y) with a commercial obtainable assay (x) gave with the following result (mg/dl):

$$y = 0.8513x + 1.0211; r = 0.976$$

Quality Control:

Human Urine Control:

Urine Control Set 8 x 5 ml #1507

Calibration:

Calibration Type: Linear

S1: 0.9% NaCl

S2: Protein- C Standard 3 x 5 ml #1491

Calibration frequency:

Calibration is recommended

• After bottle change
• As required following quality control procedures

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literature:

- Iwata I, Nishikaze O. Clin Chem. 1979;25/7:1317 – 1319.
- Koumantakis G. Fluorescein Interference with Urinary Creatinine and Protein Measurements. Clin Chem. 1991;37/10:1799.
- Luxton R, Patel P, Keir G, Thompson E. Clin Chem. 1989; 35/8: 1731 – 1734.
- Tietz NW. clinical Guide to Laboratory Tests. 3rd ed. Philadelphia, Pa. WB Saunders co; 1995;520.
- Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders co; 1987:336,339,340,341.
- Watanabe N, Kamei S et al., Urinary protein as measured with a pyrogallol red-molybdate complex manually and in a Hitachi 726 automated analyzer. Clin Chem 1986; 32:1551-1554.

BioLyzer® Bestellinformation:

Katalog-Nr.	BioLyzer	Inhalt
B9301	200 / 600	R1 6 x 50 ml
B9303	300 / 600*	R1 6 x 60 ml

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

Anwendungszweck:

In vitro Test zur quantitativen Bestimmung in Urin und Cerebrospinalflüssigkeit (CSF) mit klinischen Analysenautomaten.

Zusammenfassung:

Urin wird durch Ultrafiltration des Plasmas durch die glomerulären Kapillarwände gebildet. Proteine mit einer relativen molekularen Masse > 40 000 werden nahezu vollständig zurückgehalten während kleinere Substanzen problemlos als glomeruläres Filtrat passieren.

Die meisten Liquor-Proteine diffundieren aus dem Plasma durch die Blut-Hirn-Schranke. Erhöhte Konzentrationen ergeben sich aus einer erhöhten Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke oder durch eine Zunahme der lokalen Immunglobulin-Synthese.

Turbidimetrische Verfahren mit Trichloressigsäure (TCA) oder Sulfosalicylsäure (SSA) beruhen auch einer Präzipitation des Proteins in der Probe; die resultierende Trübung kann instabil und flockig sein.

Proteinbestimmungen durch Anlagerungsfarbstoffe im Urin dienen der Diagnose und Behandlung von Nieren- oder Herzerkrankungen oder Störungen der Schilddrüsenfunktion, die durch Proteinurie bzw. Albuminurie gekennzeichnet sind. CSF-Proteinbestimmungen dienen der Diagnose und Behandlung von Meningitis, Hirntumoren und Infektionen des Zentralen Nervensystems.

Testprinzip:

Pyrogallol-Rot-Molybdat Komplexe binden an Proteine. Die Proteinbindung verursacht eine Extinktionszunahme bei 600 nm. Diese ist direkt proportional zur Proteinkonzentration. Durch Zugabe von Detegenzien wird erreicht, dass unterschiedliche Proteintypen vergleichbare Werte ergeben.

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:	
Pyrogallol-Rot	0,035 mmol/l
Natrium-Molybdat	0,018 mmol/l
Succinat Puffer	50 mmol/l
Detergenzien	2 %

Herstellung und Haltbarkeit:

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig. Die Reagenzien sind bei Lagerung im Dunkeln bei +2°C bis +8°C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum haltbar.

Onboard Stabilität: 28 Tage
Vor Licht schützen. Kontaminationen sind zu vermeiden.

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.

Untersuchungsgut:

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

Urin:

Spontan- oder 24h –Urin verwenden.
Keine Konservierungsmittel verwenden.

Während der Probensammlung kühlen.

Cerebrospinalflüssigkeit (CSF):

Es werden keine speziellen Zusatzstoffe benötigt. Blut in der Probe macht die Probenbestimmung wertlos.

Haltbarkeit der Proben: 48 Stunden bei +2°C bis +8°C

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung \pm 10% vom Ausgangswert.

Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 15 (ca. 15 mg/dl konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin).

Hämolyse: Aufgrund der Proteinnatur des Hämoglobins führt Hämolyse in Abhängigkeit von der Intaktheit der Erythrozyten zu erhöhten Messwerten.

Das Messverfahren zeigt keine deutliche Interferenz mit:

Ascorbinsäure	Calcium	Cefazolin, Natriumsalz
Chlorpromazine	Creatinine	Gentamicin
Coffein	Glucose	Harnsäure
Harnstoff	L-Dopa	Magnesium
Natriumcitrat	Natriumoxalat	Phosphat, anorg.
Sulfat		

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

• Reagenzien wie vorher angegeben.

Zusätzlich benötigte Materialien

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

Messbereich:

5 – 100 mg/dl (0,05 – 1 g/l)

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

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

5 mg/dl bzw. 0,05 g/l

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren Aktivität der USP, die von Null unterschieden werden kann. Sie ist berechnet als die Konzentration, die drei Standardabweichungen oberhalb des niedrigsten Standards liegt.

Referenzbereich:

Urin:

Spontan	< 12 mg/dl (< 120 mg/l)
24 Std.	< 150 mg/24h (< 150 mg/d)

Cerebrospinalflüssigkeit:

Erwachsene: < 45 mg/dl (< 0,45 g/l)

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

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit in der Serie wurde mit Kontrollproben (n = 20) gemäß einem internen Protokoll bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Urin	In der Serie		
	Probe	MW (mg/dl)	SD (mg/dl)
Probe 1	45,13	0,96	2,1
Probe 2	82,11	1,42	1,7
Probe 3	103,62	1,24	1,2

Urin	Tag / Tag		
	Probe	MW (mg/dl)	SD (mg/dl)
Probe 1	72,01	2,80	3,9
Probe 2	74,20	2,14	2,9
Probe 3	103,21	3,38	3,3

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Fluitest USP (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden folgende Ergebnisse erhalten (mg/dl):
 $y = 0,8513x + 1,0211$; $r = 0,976$

Qualitätskontrolle:

Humane Urin-Kontrolle:

Urine Control Set 8 x 5 ml #1507

Kalibration:

Kalibrations Typ: Linear

S1: 0.9% NaCl

S2: Protein-C Standard 3 x 5 ml #1491

Kalibrationshäufigkeit:

Eine Kalibration wird empfohlen:

- Nach Reagenzienwechsel
- Wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Literatur:

1. Iwata I, Nishikaze O. Clin Chem. 1979;25/7:1317 – 1319.
2. Koumantakis G. Fluorescein Interference with Urinary Creatinine and Protein Measurements. Clin Chem. 1991;37/10:1799.
3. Luxton R, Patel P, Keir G, Thompson E. Clin Chem. 1989; 35/8:1731– 1734.
4. Tietz NW. clinical Guide to Laboratory Tests. 3rd ed. Philadelphia, Pa. WB Saunders co; 1995;520.
5. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders co; 1987:336,339,340,341.
6. Watanabe N, Kamei S et al., Urinary protein as measured with a pyrogallol red-molybdate complex manually and in a Hitachi 726 automated analyzer. Clin Chem 1986; 32:1551-1554.