

Order Information:

Catalog No.	Contents		
915	R1 6 x 50 ml	R4 1 x 5 ml	
AU9303 AU	R1 6 x 60 ml		

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. Dye-binding methods such as 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 tumours, 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 600nm. 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 %
R4 (#915):	
Protein	100 mg/dl (1 g/l)

According to a composition of 70% albumin and 30% immunoglobulins

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. 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 20 (approximate conjugated and unconjugated bilirubin concentration: (20 mg/dl).
Hemolysis: Due to protein nature of haemoglobin hemolysis leads elevated values dependent on the degree of lysis of the erythrocytes.
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.

No significant interference from:

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

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:	Hg 600 nm
Temperature:	+25 / +30 / +37°C.
Cuvette:	1 cm light path
Zero adjustment:	Reagent blank; one reagent blank per series only

Macro:

	Blank	Standard	Sample
Standard/ R4	---	75 µl	---
Sample	---	---	75 µl
R1	3000 µl	3000 µl	3000 µl

Micro:

	Blank	Standard	Sample
Standard/ R4	---	25 µl	---
Sample	---	---	25 µl
R1	1000 µl	1000 µl	1000 µl

Mix, incubate for 10 minutes. Measure the absorbance.

Calculation:

$$\frac{\Delta A \text{ sample}}{\Delta A \text{ calibrator}} \times \text{calibrator conc.} = \text{protein conc. in mg/dl}$$

Measuring /reportable range:

5.0 - 160 mg/dl (0.05 - 1.6 g/l) for the micro and macro pipetting schedule. In case of higher concentrations, dilute sample 1 : 4 with saline solution (0.9%) and repeat test. Multiply result by 5.

Analytical sensitivity (lower detection limit)

Detection limit: 2.0 mg/dl or 0.02 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	Between day		
Sample	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Human urine	15.11	0.55	3.64
Control 1	19.08	0.69	3.61
Control 2	57.29	0.59	1.03

Urine	Within run		
Sample	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Control 1	15.11	0.55	3.64
Control 2	19.08	0.69	3.61

Quality Control:

Human Urine Control: 8 x 5 ml #1507
Urine control Set

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.

Fluitest[®] USP

ULTRASENSITIVE PROTEIN



Calibration:

S1: 0.9% NaCl

S2: Protein-C Standard 3 x 5 ml #1491
Calibrator R4

Calibration frequency

Recalibration is recommended

- After bottle change
- As required following quality control procedures

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literature:

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.



Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Inhalt
915	R1 6 x 50 ml R4 1 x 5 ml
AU9303 AU	R1 6 x 60 ml

Anwendungszweck:

In vitro Test zur quantitativen Bestimmung von Protein im 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 Detergenzien 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 %

R4 (#915):

Protein	100 mg/dl (1 g/l)
Entspricht einer Zusammensetzung von 70% Albumin und 30% Immunglobulinen	

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.

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 ± 10% vom Ausgangswert.

Icterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 20 (ca. 20 mg/dl konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin).

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

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.

Das Messverfahren zeigt keine deutliche Interferenz mit:

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

Testverfahren:

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Gelieferte Materialien

• Reagenzien wie vorher angegeben.

• Zusätzlich benötigte Materialien

• Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben.

• Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

Manuelle Testdurchführung:

Wellenlänge:	Hg 600 nm
Reaktionstemperatur:	+25°C / +30°C / +37°C
Schichtdicke:	1 cm
Messung:	Pro Messreihe ein Reagenzienleerwert

Makro:	Leerwert	Standard	Probe
Standard/ R4	---	75 µl	---
Probe	---	---	75 µl
R1	3000 µl	3000 µl	3000 µl

Mikro:	Blank	Standard	Sample
Standard/ R4	---	25 µl	---
Probe	---	---	25 µl
R1	1000 µl	1000 µl	1000 µl

Mischen, nach 10 Minuten Extinktion gegen Reagenzienleerwert messen.

Berechnung:

$$\frac{\Delta E \text{ Probe}}{\Delta E \text{ Standard}} \times \text{StandardKonz.} = \text{ProteinKonz. in mg/dl}$$

Messbereich:

Bis 5,0 - 160 mg/dl (0,050 - 1,6 g/l) bei Verwendung des Makro- und Mikro-Pipettierschema.

Bei höheren Konzentrationen wird die Probe 1 : 4 mit Natriumchlorid-Lösung (0,9%) verdünnt und die Messung wiederholt. Das Ergebnis ist mit 5 zu multiplizieren.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

2,0 mg/dl bzw. 0,020 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 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	VK %
Probe1	15,11	0,55	3,64
Probe2	19,08	0,69	3,61
Probe3	57,29	0,59	1,03

Urin	Tag / Tag		
Probe	MW mg / dl	SD mg / dl	VK %
Probe1	15,11	0,55	3,64
Probe4	19,08	0,69	3,61

Qualitätskontrolle:

Humaner Kontrollurin:

Urine control Set

8 x 5 ml #1507

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: Protein-C Standard 3 x 5 ml #1491
Kalibrator R4

Kalibrationshäufigkeit

Die Rekalibrierung wird empfohlen:

- Nach Reagenzienwechsel
- Der Probenleerwert ist täglich zu bestimmen.

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. 3. Auflage. Philadelphia, Pa. WB Saunders co; 1995;520.
5. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3. Auflage. Philadelphia, Pa: WB Saundes 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.