

A vizelet és a liquor összfehérje tartalmának meghatározására szolgáló reagenskészlet.

Pirogallol vörös, direkt kolorimetriás módszer.

A meghatározás elve

A vizeletben és a liquorban lévő fehérje molekulák hozzákötődnek a [molibdát – pirogallol vörös] komplexhez.

A kialakult szín intenzitása arányos a minta fehérje koncentrációjával.

Referencia-értéktartomány

Vizelet összfehérje	<140 mg/24h
Férfi:	10-160 mg/l (1-16 mg/dl)
Nő:	0-160 mg/l (0-16 mg/dl)
Liquor összfehérje	80-320 mg/l (8-32 mg/dl)

Minden laboratóriumnak ajánlott a saját normálérték-tartományát meghatározni.

Reagensek

1. Reagens (R1)

Pirogallol-vörös	60 µmol/l
Nátrium-molibdát	40 µmol/l
Nátrium-oxalát	1,04 mmol/l
Nátrium-benzoát	3,47 mmol/l
Metanol	100 mol/l
Borostyánkősav	50 mmol/l

2. Standard

Csak a 42051S és 42051S2 katalógusszámú terméknél. Kérjük olvassa el a mellékelt standard használati utasítást.

Biztonsági információk:

Reagens 1:

Veszély. Metanolt tartalmaz. Károsíthatja a szerveket. A por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzése tilos. LÉNYELÉS ESETÉN: azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ vagy orvoshoz.

Minta

Vizelet, liquor.

A reagens stabilitása

A reagens fénytől védve és 2-8 °C-on tárolva

felbontás nélkül: a címkén jelzett időpontig

felbontás után: 14 nap

kalibrációs gyakoriság: 5 nap

onboard stabilitás: 5-14 nap

A stabilitások kizárólag új rendszerflakon használata esetén érvényesek!

A VIZSGÁLAT KIVITELEZÉSE

A reagens felhasználásra kész.

A munkareagens stabilitása

Amennyiben a munkareagens abszorbanciája 578 nm-en meghaladja a 0,25-öt, a reagens nem használható.

Mérési eljárás

Hullámhossz:	598 (570-600) nm
Fényút:	1 cm
Hőmérséklet:	37°C
Mérési mód:	végpontos (növekvő)
Mérés:	reagensvakkal szemben

Bemérés

	Vak	Standard	Minta
R1	1 ml	1 ml	1 ml
Nátrium-klorid oldat (9 g/l)	20µl		
Standard		20µl	
Minta			20µl

Összekeverés után inkubáljuk 10 percig majd mérjük meg az abszorbanciát a vakkal szemben.

Kalibráció: (Pirogallol vörös módszer, 37 °C-on)

Kétpontos:

S1: Desztillált víz

S2: Vizeletfehérje standard (0,5 g/l) Kat.: 520715

Négypontos:

S1: Desztillált víz

S2: Vizeletfehérje standard (2,0 g/l) Kat.: 520715200

1:3 arányú hígítása (0,5 g/l)

S3: Vizeletfehérje standard

1:1 arányú hígítása (1,0 g/l)

S4: Vizeletfehérje standard

hígítás nélkül (2,0 g/l)

A hígítási sort desztillált vízzel készítse el!

Ajánlott új kalibrációt végezni:

– új gyártási számú készlet felbontásakor, ahogy ezt a laboratórium minőségügyi

rendszere előírja.

Az eredmény kiszámítása

$$\frac{A_{minta}}{A_{standard}} \times C_{standard} = C_{minta}$$

A=abszorbancia

C=koncentráció

Belső minőségellenőrzés

A minőségellenőrzés ajánlott minden laboratóriumnak. Két különböző szintű (egy normál és egy emelkedett) kontrollt javasunk. A kontrollok mért értékeinek a gyártó által meghatározott tartományba kell esniük. Ha a tartományon kívül esnek az értékek, ajánlott korrigálni a méréseket. Vizeletanalízishez a kétszintű DunaCont Urine kontroll ajánlott (DCONU2)

A REAGENS TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐI

A méréseket Olympus 600-as automatán végeztük (37°C). Átváltás: [mg/l]=[mg/dl]×10

Linearitás

A módszer kétpontos kalibráció esetén 1500 mg/l (150 mg/dl), négypontos kalibráció esetén 2000 mg/l (200 mg/dl) fehérjekoncentrációig lineáris. A linearitás alsó értéke 50 mg/l.

Kimutatási határ: 5 mg/l

Érzékenység

Minden laboratórium számára ajánlott meghatározni saját érzékenységi határt, mivel ezt az alkalmazott spektrofotométer érzékenysége is befolyásolja. A kézi mérés körülményei között 598 nm-en mért 0,001 abszorbanciaváltozás megegyezik 1,9 mg/l (0,19 mg/dl) fehérje koncentrációval.

Szelektivitás

Bilirubin 1 mg/dl-ig (5 mg/dl fehérje) és 5 mg/dl-ig (20 mg/dl fehérje nem befolyásolja a mérést.

Precizitás

Reprodukálhatóság

n=20	szérum			vizelet		
	minta mg/l	SD	CV%	minta mg/l	SD	CV%
114	2,26	1,98		75	2,3	3,11
727	20,5	2,82		537	18,5	3,45

Ismételhetőség

n=20	szérum	
	minta mg/l	SD
26,6	1,23	4,61
2448	12,9	0,53

Korreláció

Humán mintákon összehasonlítottuk reagensünket más gyártó reagensével.

A korrelációs regresszió adatai a következők:

korrelációs koefficiens: $r = 0,9778$,

lineáris regresszió: $y \text{ (mg/l)} = 0,993x - 1,657$










(x= más gyártó reagens, y= saját reagens).

Megjegyzés

Ne használja a reagenst a csomagolása címkéjén feltüntetett lejárati dátum eltelte után. A készítményeket, tesztoldatokat és reagenseket csak az itt leírt teszthez szabad felhasználni.

Csak in vitro diagnosztikai vizsgálatra alkalmas.

A címkéken a következő szimbólumok lehetnek

	In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz		Gyártási szám
	Gyártó		Kódszám
	CE-jelölés		Tárolási irány
	Tárolási hőmérséklet		Biológiai veszély
	Lejárati idő (év/hónap)		

Irodalom

N. Watanabe N. et. a.: Clin. Chem. 32: 1551. (1986)

Verzió: 32-DL-2016-13

Felülvizsgálat dátuma: 2016-12

Reagent kit for the quantitative determination of total protein concentration in urine and liquor. Pyrogallol Red, direct colorimetric method.

Principle

Protein molecules in urine or liquor bind to the molybdate pyrogallol Red complex. The formation of the protein-dye complex causes a shift in the absorbance maximum from 467 nm to 598 nm.

Reference values

Urine total protein <140 mg/24h
 Male: 10-160 mg/l (1-16 mg/dl)
 Female: 0-160 mg/l (0-16 mg/dl)
 Cerebrospinal liquor 80-320 mg/l (8,0-32,0 mg/dl)
 It is recommended that each laboratory should assign its own normal range.

Reagents

1. Color reagent (R1)

Pyrogallol-red 60 µmol/l
 Sodium molybdate 40 µmol/l
 Sodium oxalate 1.04 mmol/l
 Sodium benzoate 3.47 mmol/l
 Methanol 100 mol/l
 Succinic acid 50 mmol/l

Safety instructions:

Reagent 1:

Danger. Contains Methanol. May cause damage to organs. Do not breathe dust/fumes/gas/mist/vapours/spray.

IF SWALLOWED: Immediately call a POISON CENTER/doctor

Sample

Urine. Cerebrospinal fluid.

Stability of the reagent

Store the reagent protected from light. Store it between 2-8 °C.
 without opening: till the expiry date indicated on the label
 after opening: 14 days
 calibration frequency: 5 days
 onboard stability: 5-14 days
 Stability data are valid only when using new system bottle!

PROCEDURE

Working reagent

The reagents are ready for use. Keep away from light.
 If the absorbance of working reagent is higher than 0.25 at 578 nm the reagent can not be used.

Assay conditions

Wavelength: 598 nm
 Temperature: 37 °C
 Cuvette: 1 cm light path
 Read against: reagent blank
 Method: endpoint (increasing)

Pipette into cuvette

	Blank	Standard	Sample
Color reagent	1 ml	1 ml	1 ml
Sodium chloride (9 g/l)	20µl		
Standard		20µl	
Sample			20µl

Mix and incubate for 10 minutes at room temperature.

Calibration: (37°C, Pyrogallol Red method)

Two-point:
 S1: Distilled water
 S2: Total protein ultrasensitive standard (50,0 mg/dl) Cat. No.: 520715H
 Four-point:
 S1: Distilled water
 S2: Total protein ultrasensitive standard (200,0 mg/dl) Cat. No.: 520715N
 ratio 1:3 dilution (50,0 mg/dl)
 S3: Total protein ultrasensitive standard
 ratio 1:1 dilution (100,0 mg/dl)
 S4: Total protein ultrasensitive standard
 without dilution (200,0 mg/dl)
 Use distilled water for dilution!

Calibration frequency

Two point calibration is recommended:
 - after reagent lot change,
 - as required following quality control procedures.

Calculation using calibration

$$\frac{A_{sample}}{A_{standard}} \times C_{standard} = C_{sample}$$

A = Absorbance
 C = Concentration

Quality control

A quality control program is recommended for all clinical laboratories. The analysis of control material in both the normal and abnormal ranges with each assay is recommended for monitoring the performance of the procedure. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits. DunaCont Urine two levels control (DCONU2) is recommended for urine analysis.

PERFORMANCES DATA

The following data were obtained using the Olympus 600 analyzer (37°C). Conversion factor: [mg/l]=[mg/dl]×10

Linearity

The test is linear up to 2000 mg/l (200 mg/dl) if four-point calibration is used, and 1500 mg/l (150 mg/dl) if the calibration is two-point. Lower limit of linearity is 50 mg/l (5 mg/dl)

Limit of detection 5 mg/l

Sensitivity

It is recommended that each laboratory establishes its own range of sensitivity as this is limited by the sensitivity of the spectrophotometer used. Under manual conditions however, a change of 0.001 Abs is equivalent to 1.9 mg/l (0,19 mg/dl) protein concentration at 578 nm.

Selectivity

Bilirubin up to 1 mg/dl (5 mg/dl protein) and 5 mg/dl (20 mg/dl protein) don't interfere with the assay up to the given levels.

Precision

Reproducibility

n=20	serum		urine		
sample mg/l	SD	CV%	sample mg/l	SD	CV%
114	2,26	1,98	75	2,3	3,11
727	20,5	2,82	537	18,5	3,45

Repeatability

n=20	serum	
sample mg/l	SD	CV%
26,6	1,23	4,61
2448	12,9	0,53

Correlation

Comparative studies were done to compare our reagent with another commercial Total protein reagent.

The results from these studies are detailed below.

Correlation coefficient: $r = 0,9778$

Linear regression: $y \text{ (mg/l)} = 0,993x - 1,657$










(x= other commercial reagent, y= own reagent).

NOTE

Do not use reagents after the expiry date stated on each reagent container label. Do not use products, test solutions and reagents described above for any purpose other than described herein.

For in vitro diagnostic use only.

The following symbols can be used on the labels

	In vitro diagnostic device		Batch code
	Manufacturer		Catalogue number
	CE-marking		This way up
	Temperature limitations		Biological risk
	Use by (year/month)		

Bibliography

N. Watanabe N. et. a.: Clin. Chem. 32: 1551. (1986)

Version: 32-DL-2016-13

Date of revision: 2016-12