

TOTAL PROTEIN (MICRO) ASSAY

CATALOGUE NUMBER: 450-50 **SIZE:** 2 x 250 mL + 15 mL Calibrator

INTENDED USE

For the IN VITRO quantitative measurement of total protein concentration in urine and cerebrospinal fluid (CSF).

TEST SUMMARY

The presence of protein in the urine is useful in the evaluation of renal disorders. The degree of proteinuria varies with the type and severity of the disease and measuring the amount of protein excreted aids in the diagnosis and directs the therapy. Excess protein in CSF is indicative of infection and its measurement is useful in diagnosis.

This method for the determination of urine proteins is based on the procedure developed by Fujita⁽¹⁾ and Watanabe⁽²⁾. It is a sensitive dye-binding colorimetric method. Pyrogallol red is combined with molybdenum acid. At a low pH, the dye is red, the color changes to blue under test conditions when complexed with proteins. This method reduces cuvette staining and is easily adapted to automated analyzers.

TEST PRINCIPLE

Protein + Pyrogallol → Protein Pyrogallol
Red-Molybdenum Complex Red-Molybdenum Complex

The increase in absorbance at 600 nm due to the formation of the colored complex is directly proportional to the concentration of protein in the reaction.

REAGENTS

Total Protein (Micro) Reagent: An aqueous solution containing a buffer, 0.067 mmol/L pyrogallol red, at least 1 mmol/L molybdenum, a stabilizer, a surfactant, and a preservative.

Total Protein (Micro) Calibrator: An aqueous solution containing 100 mg/dL (1 g/L) human serum albumin and a preservative.

WARNINGS & PRECAUTIONS FOR USE

S24/25: Avoid contact with skin and eyes.

The reagent provided is for IN VITRO diagnostic use. Do not pipette the reagent by mouth and avoid contact with eyes.

Any donor unit which may be used in the preparation of this product has been tested and found non-reactive for Hepatitis B surface antigen (HBsAg) and HIV antibody. No known test method can offer complete assurance that products derived from human blood will not transmit infectious agents. Therefore, all human based blood products and patients samples are considered potentially hazardous and should be handled in accordance with good laboratory practices.

See Material Safety Data Sheet for additional information.

REAGENT PREPARATION, STORAGE & STABILITY

Reagents are ready for use.

Supplied reagents are stable at 2-8°C until expiry date.

Stability claims are based on real time studies.

REAGENT DETERIORATION

The reagent solutions should be clear. Turbidity would indicate deterioration.

DISPOSAL

Reagents must be disposed of in accordance with all Federal, Provincial, State, and local regulations.

SPECIMEN

Fresh, clear, unhemolysed urine or cerebrospinal fluid (CSF). Filter or centrifuge turbid samples to remove cells. Urine samples may be random or 24 hour collections. Do not use preservatives.

SAMPLE STORAGE

Samples of urine and CSF should be assayed promptly. Samples may be stored frozen for several weeks if further testing is necessary.

ANALYTICAL SPECIFICITY

Cross contamination studies have not been performed on automated instruments. Certain reagent/ instrument combinations used in sequence with this assay may interfere with reagent performance and test results. The existence of, or effects of, any potential cross contamination issues are unknown.

The presence of hemoglobin in urine and CSF will falsely elevate results. Urine colored as a result of drugs and xanthochromic CSF require the use of a sample blank. A blank may be prepared using 20 µL of sample and 2.0 mL of deionized water and should be read at 600 nm.

A summary of the influence of drugs on clinical laboratory tests may be found by consulting Young, D.S.⁽³⁾

ANALYTICAL PROCEDURE

MATERIALS PROVIDED

Genzyme Diagnostics' total protein (micro) reagent and calibration material.

MATERIALS REQUIRED (BUT NOT PROVIDED)

- 1) Automated analyzer capable of accurately measuring absorbance at appropriate wavelength as per instrument application.
- 2) Quality Control materials.

TEST CONDITION

For the data presented in this insert, studies using this reagent were performed using an endpoint test mode, with a sample to reagent ratio of 1:100, and a wavelength reading of 600 nm. For assistance with applications on automated analyzers within Canada and the U.S, please contact Genzyme Diagnostics Technical Services at (800)565-0265. Outside Canada and the U.S., please contact your local distributor.

CALIBRATION

Calibration material should be used to calibrate the procedure. The frequency of calibration using an automated system is dependant on the system and parameters used.

QUALITY CONTROL

A normal and abnormal concentration control should be analyzed as required in accordance with local, state, and federal regulations. The results should fall within the acceptable range as established by the laboratory.

CALCULATIONS

The analyzer automatically calculates the total protein (micro) concentration of each sample.

TEST LIMITATIONS

A sample with a total protein (micro) concentration exceeding the linearity limit should be diluted with 0.9% saline and reassayed incorporating the dilution factor in the calculation of the value.

REFERENCE INTERVALS

EXPECTED VALUES

Urine:	28-141 mg/day ⁽²⁾
CSF Adults:	15-40 mg/dL (0.15-0.40 g/L) ⁽⁴⁾
CSF Newborn, < 1 month:	20-120 mg/dL (0.20-1.20 g/L) ⁽⁴⁾

These values are suggested guidelines. It is recommended that each laboratory establish its own expected range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

RESULTS

Total protein (micro) concentration is reported as mg/dL (g/L).

REPORTABLE RANGE

The linearity of the procedure described is 200 mg/dL (2 g/L). Linearity will depend on the sample/ reagent ratio used.

PRECISION STUDIES

Within day precision data was collected on two concentrations of urine controls. Nineteen replicates of level 1 and thirty replicates of level 2 were assayed.

Total Protein (Micro)	Concentration		Standard Deviation		Coefficient of Variation %
	mg/dL	g/L	mg/dL	g/L	
Level 1	16.0	0.16	0.90	0.009	5.5
Level 2	40.0	0.40	1.40	0.014	3.6

Day to day precision data was collected on two concentrations of CSF controls assayed ten times over ten days.

Total Protein (Micro)	Concentration		Standard Deviation		Coefficient of Variation %
	mg/dL	g/L	mg/dL	g/L	
Level 1	34.0	0.34	2.30	0.023	6.9
Level 2	65.0	0.65	3.20	0.032	4.9

Run to run precision data was collected on two concentrations of urine controls assayed 15 times over five runs.

Total Protein (Micro)	Concentration		Standard Deviation		Coefficient of Variation %
	mg/dL	g/L	mg/dL	g/L	
Level 1	17.0	0.17	2.30	0.023	13.5
Level 2	56.0	0.56	3.30	0.033	5.9

Run to run precision data was collected on two concentrations of CSF assayed 14 times over seven runs.

Total Protein (Micro)	Concentration		Standard Deviation		Coefficient of Variation %
	mg/dL	g/L	mg/dL	g/L	
Level 1	40.0	0.40	2.40	0.024	6.2
Level 2	61.0	0.61	1.40	0.014	2.4

ACCURACY

The performance of this method (y) was compared with the performance of a similar method (x). Forty-three urine samples ranging from 21.0-138.0 mg/dL (0.21-1.38 g/L) gave a correlation coefficient of 0.9826. Linear regression analysis gave the following equation:

$$\text{This method} = 1.12 (\text{reference method}) - 3.0 \text{ mg/dL (0.03 g/L)}.$$

The performance of this method (y) was compared with the performance of a similar method (x). Forty CSF samples ranging from 18.0-168.0 mg/dL (0.18-1.68 g/L) gave a correlation coefficient of 0.9879. Linear regression analysis gave the following equation:

$$\text{This method} = 1.078 (\text{reference method}) - 1.9 \text{ mg/dL (0.019 g/L)}.$$

All trademarks, brands, product names and trade names are the property of their respective companies.

Manufactured by:



The Americas
Genzyme Diagnostics P.E.I. Inc.
70 Watts Avenue
Charlottetown, PE C1E 2B9
Canada

Phone: 800-565-0265
Fax: 902-628-6504
Email: customerservice@genzyme.com
peidiagnosticttechnical@genzyme.com

International
Genzyme Diagnostics
50 Gibson Drive
Kings Hill, West Malling
KENT, ME19 4AF, UK

Email: ukdiagcustomerservice@genzyme.com

www.genzymediagnosics.com

ES

ANÁLISIS DE PROTEÍNA (MICRO) TOTAL

NÚMERO DE CATALOGO: 450-50 TAMAÑO: 2 x 250 ml + 15 ml de calibrador

USO PARA EL QUE FUE DISEÑADO

Para el análisis cuantitativo IN VITRO de la concentración de proteína total en la orina y el líquido cefalorraquídeo (LCR).

RESUMEN DEL ANÁLISIS

La detección de proteína en la orina es información útil para la evaluación de los trastornos renales. El nivel de proteinuria varía según el tipo y la gravedad de la enfermedad; la evaluación de la proteína excretada es útil para el diagnóstico y para decidir el tipo de terapia. El exceso de proteína en el LCR es indicativo de infección y el análisis cuantitativo es útil para el diagnóstico de la enfermedad.

Este método para determinar la presencia de proteína en la orina se funda en el procedimiento desarrollado por Fujita⁽¹⁾ y Watanabe⁽²⁾. Es un método colorimétrico sensible de enlace con el colorante. El rojo pirogalol se combina con ácido de molibdeno. A niveles bajos de pH, el colorante es rojo; este cambia a color azul cuando, en condiciones de análisis, forma un complejo con las proteínas. Este método reduce el manchado de las cubetas y se adapta fácilmente para aplicarlo en los analizadores automatizados.

PRINCIPIO DEL ANÁLISIS

Proteína + Complejo de rojo pirogalol-molibdeno → Proteína de complejo de rojo pirogalol-molibdeno

El aumento en la absorbencia a 600 nm debido a la formación del complejo coloreado es directamente proporcional a la concentración de proteína en la reacción.

AGENTES REACTIVOS

Agente reactivo de proteína total (micro): Una solución acuosa que contiene un tampón, 0.067 mmol/l de rojo pirogalol, al menos 1 mmol/l de molibdeno, un agente estabilizador, un agente tensioactivo y un agente conservante.

Calibrador de proteína (micro) total: Una solución acuosa que contiene 100 mg/dL (1 g/l) de albúmina de suero humano y un agente conservante.

ADVERTENCIAS Y MEDIDAS DE PRECAUCIÓN PARA SU USO

S24/25: Evite el contacto con la piel y los ojos.

El agente reactivo que se suministra es para emplearlo en el diagnóstico IN VITRO. No pipetee el contenido del agente reactivo con la boca y evite que entre en contacto con los ojos.

Toda unidad de los donantes que se emplea en la preparación de este producto se somete a pruebas para verificar que no sea reactivo al antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) y a los anticuerpos anti-VIH. Ningún método de pruebas puede ofrecer absoluta certeza de que los productos derivados de la sangre humana no transmitirán agentes infecciosos. Es por esto que los productos de sangre provenientes de seres humanos y de muestras de pacientes se consideran potencialmente peligrosos y deben ser tratados de conformidad con las prácticas de laboratorio recomendadas.

Para obtener mayor información, lea la hoja de datos de seguridad de materiales.

PREPARACIÓN, ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DEL AGENTE REACTIVO

Los agentes reactivos vienen listos para su uso.

Los agentes reactivos que se suministran son estables hasta la fecha de caducidad, a una temperatura de entre 2° y 8° C.

Las afirmaciones acerca de la estabilidad se fundan en estudios realizados en tiempo real.

DETERIORO DEL AGENTE REACTIVO

El agente reactivo debe ser transparente. La turbidez podría ser una indicación de deterioro.

ELIMINACIÓN

Los agentes reactivos se deben eliminar de acuerdo con las estipulaciones de las normas federales, provinciales, estatales y locales.

MUESTRA

La muestra debe ser orina o líquido cefalorraquídeo (LCR) recién recolectado, transparente, sin hemolizar. Filtre o depure la muestra con un centrifugador para eliminar las células. Las muestras de orina pueden ser recogidas de manera aleatoria o en períodos de veinticuatro horas. No emplee agentes conservantes.

(IN45050-13) 2

ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Las muestras de orina y de LCR deben analizarse sin demora. Si es necesario realizar análisis adicionales, las muestras se pueden guardar congeladas durante varias semanas.

ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

No se ha realizado estudios de contaminación cruzada en instrumentos automatizados. Ciertas combinaciones de agentes reactivos / instrumentos empleados en secuencia en este análisis pueden interferir con las características del agente reactivo y los resultados del análisis. Se desconoce si existen problemas de posible contaminación cruzada, o de sus efectos.

La presencia de hemoglobina en la orina y el LCR da resultados elevados falsos. La orina coloreada como resultado de los medicamentos y el LCR xantocrónico requiere del empleo de una muestra blanqueada. Se puede preparar una muestra en blanco empleando 20 µl de muestra y 2.0 ml de agua desionizada; la lectura de la muestra debe hacerse a 600 nm.

Se puede obtener un resumen de la influencia de los medicamentos en estudios clínicos de laboratorio consultando a Young, D.S.⁽³⁾

PROCEDIMIENTO ANALÍTICO

MATERIALES SUMINISTRADOS

Agente reactivo de proteína (micro) total y material de calibración de Genzyme Diagnostics.

MATERIALES NECESARIOS (PERO NO SUMINISTRADOS)

- 1) Analizador capaz de medir con precisión la absorbencia a una longitud de onda adecuada según la aplicación por instrumento.
- 2) Materiales de control de calidad.

CONDICIÓN DEL ANÁLISIS

Para la obtención de los datos que se presentan en este encarte, se realizaron estudios con este agente reactivo en un analizador automatizado en modo de análisis de punto final, con una proporción de 1:100 entre la muestra y el agente reactivo, y una lectura de longitud de onda de 600 nm. Si desea ayuda para aplicaciones en analizadores automatizados en Canadá o EE UU, comuníquese con Genzyme Diagnostics Technical Services llamando al teléfono (800) 565-0265. En otros países, llame al distribuidor de su localidad.

CALIBRACIÓN

Para calibrar el procedimiento, debe emplearse el material de calibración. La frecuencia de la calibración utilizando un sistema automatizado depende del sistema y de los parámetros aplicados.

CONTROL DE CALIDAD

Deben analizarse los controles de concentración normal y anormal, según sea necesario, de conformidad con los reglamentos locales, estatales y federales. Los resultados deben estar dentro de los límites aceptables establecidos por el laboratorio.

CÁLCULOS

El analizador calcula automáticamente la concentración total de proteínas (micro) de cada muestra.

LIMITACIONES DEL ANÁLISIS

Debe diluirse con una solución salina al 0.9% y volver a analizarse las muestras con una concentración total de proteína (micro) que supere el límite de linealidad, teniendo en cuenta el factor de dilución en el cálculo del valor.

INTERVALOS DE REFERENCIA

VALORES ESPERADOS

Orina: 28-141 mg/día⁽²⁾
LCR de adultos: 15-40 mg/dl (0.15-0.40 g/l)⁽⁴⁾
LCR de recién nacidos menores de 1 mes: 20-120 mg/dl (0.20-1.20 g/l)⁽⁴⁾

Estos valores se sugieren como pauta. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios límites estimados.

CARACTERÍSTICAS DE LOS RESULTADOS

RESULTADOS

Los valores de concentración de proteína (micro) total se expresan en mg/dl (g/l).

LÍMITES SIGNIFICATIVOS

La linealidad del procedimiento descrito es de 200 mg/dl (2 g/l). La linealidad depende de la relación muestra/agente reactivo empleada.

ESTUDIOS DE PRECISIÓN

En el día en que fueron recogidos los datos de precisión total, en dos concentraciones de orina de control. Se analizaron diecinueve réplicas de nivel 1 y treinta réplicas de nivel 2.

Proteína (micro) total	Concentración		Desviación estándar		Coeficiente de variación %
	mg/dl	g/l	mg/dl	g/l	
Nivel 1	16.0	0.16	0.90	0.009	5.5
Nivel 2	40.0	0.40	1.40	0.014	3.6

Los datos de precisión de día a día fueron recogidos analizando dos concentraciones de LCR de control, realizadas quince veces en cinco pruebas.

Proteína (micro) total	Concentración		Desviación estándar		Coeficiente de variación %
	mg/dl	g/l	mg/dl	g/l	
Nivel 1	34.0	0.34	2.30	0.023	6.9
Nivel 2	65.0	0.65	3.20	0.032	4.9

Los datos de precisión entre prueba y prueba fueron recogidos analizando dos concentraciones de orina de control, realizadas quince veces en cinco pruebas.

Proteína (micro) total	Concentración		Desviación estándar		Coeficiente de variación %
	mg/dl	g/l	mg/dl	g/l	
Nivel 1	17.0	0.17	2.30	0.023	13.5
Nivel 2	56.0	0.56	3.30	0.033	5.9

Los datos de precisión entre prueba y prueba fueron recogidos analizando dos concentraciones de LCR, realizadas catorce veces en siete pruebas.

Proteína (micro) total	Concentración		Desviación estándar		Coeficiente de variación %
	mg/dl	g/l	mg/dl	g/l	
Nivel 1	40.0	0.40	2.40	0.024	6.2
Nivel 2	61.0	0.61	1.40	0.014	2.4

PRECISIÓN

Los resultados de este método (y) se compararon con los de un método similar de análisis (x). El análisis de cuarenta y tres muestras de orina, con límites de entre 21.0 y 138.0 mg/dl (0.21 y 1.38 g/l) dio un coeficiente de correlación de 0.9826. El análisis de regresión lineal dio la siguiente ecuación:

$$\text{Este método} = 1.12 (\text{método de referencia}) - 3.0 \text{ mg/dl (0.03 g/l)}.$$

Los resultados de este método (y) se compararon con los de un método similar de análisis (x). El análisis de las muestras de LCR de cuarenta pacientes, con límites de entre 18.0 y 168.0 mg/dl (entre 0.18 y 1.68 µmol/l) dio un coeficiente de correlación de 0.9879. El análisis de regresión lineal dio la siguiente ecuación:

$$\text{Este método} = 1.078 (\text{método de referencia}) - 1.9 \text{ mg/dl (0.019 g/l)}.$$

Todas las marcas de fábrica, marcas, nombres de productos y nombres comerciales son de propiedad de sus respectivas empresas.

Elaborado por:



Diagnostics

Continente americano
Genzyme Diagnostics P.E.I. Inc.
70 Watts Avenue
Charlottetown, PE C1E 2B9
Canada

Internacional
Genzyme Diagnostics
50 Gibson Drive
Kings Hill, West Malling
KENT, ME19 4AF, RU

Teléfono: 800-565-0265
Fax: 902-628-6504
Correo electrónico:
customerservice@genzyme.com
peidiagnosticttechnical@genzyme.com

Correo electrónico:
ukdiagcustomerservice@genzyme.com

www.genzymediagnosics.com

Definitions for Symbols/ Definición de los Símbolos

LOT

Batch Code
Código de lote



Manufacturer
Fabricante



Consult instructions for use
Consulte las instrucciones de uso

IVD

In vitro diagnostic medical device
Dispositivo médico para el diagnóstico in vitro



Use by
YYYY-MM-DD or YYYY-MM
Fecha de caducidad
AAAA-MM-DD o AAAA-MM

REF

Catalog number
Número de catálogo



Temperature limitation
Límites de temperatura

REFERENCES/ REFERENCIAS

1. Fujita, Y., Mori, I., and Kitano, S., *Bunseki Kagaku*, 32, 379 (1983).
2. Watanabe, N., Kamel, S., Ohkubo, A., Tokudo, K., Urinary Protein as Measured with a Pyrogallol Red-Molybdate Complex, manually and in a Hitachi 726 automated analyzer, *Clin. Chem.* 32, 8, 1551 (1986).
3. Young, D.S., *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, AACC Press, Washington, 1990.
4. Tietz, N.W., *Textbook of Clinical Chemistry*, W.B. Saunders Co. 1986, p. 1844.

IN45050-13
September 30, 2009