

LCELKOVÁ BÍLKOVINA (biuret)

Diagnostická reagentie pro kvantitativní in vitro stanovení celkové bílkoviny v séru nebo plazmě fotometricky.

Katalogové číslo:

12751

500 ml

(5 x 80 ml + 1 x 100 ml)

Shrnutí^{1,2}:

Měření celkové bílkoviny je užitečné pro celou řadu onemocnění. Klesající koncentrace celkové bílkoviny může ukazovat na nedokonalou syntézu bílkovin v játrech, ztrátu bílkovin v důsledku poškození funkce ledvin, střevní malabsorbci nebo nutriční nedostatečnost. Zvýšené hladiny bílkovin jsou způsobeny chronickým zánětlivým onemocněním, cirhózou jater a dehydratací.

Metoda:

Fotometrické stanovení pomocí biuretové metody.

Princip:

Celková bílkovina tvoří v alkalickém prostředí s ionty mědi fialově-modrý barevný komplex. Intenzita zabarvení je přímo úměrná množství celkové bílkoviny ve vzorku.

Reagentie:

Diagnostické použití in vitro.

Reagentie, skladovaná při teplotě 2 – 25 °C, je stabilní dle deklarovaného data na balení. Zabraňte kontaminaci. Roztoky nesmí být zmrazeny. Nutno chránit před světlem.

Reagentie:

Složení a koncentrace:

R1:

hydroxid sodný 100 mmol/l
vínan sodno - draselný 17 mmol/l

R2:

hydroxid sodný 500 mmol/l
síran měďnatý 30 mmol/l
vínan sodno - draselný 80 mmol/l
jodid draselný 75 mmol/l

Příprava reagenčních roztoků:

1. Start substrátem: Činidla R1 a R2 jsou připravena k přímému použití. Skladována při teplotě 2–25°C jsou stabilní dle deklarovaného data na balení. Reagentie nezamrazujte.

2. Start vzorkem: Činidla smíchat v poměru 4 + 1 (např. 20 ml R1 + 5 ml R2), směsné činidlo je stabilní 1 rok při 2-25°C.

Další potřebné materiály:

NaCl roztok 9 g/l

Obecné laboratorní vybavení.

Vzorek:

Sérum, plazma.

Stabilita vzorku³:

6 dní při 20–25°C

4 týdny při 4–8°C

aspoň 1 rok při -20°C

Nutno zabránit kontaminaci vzorku. Vzorky lze zamrazit pouze jednou.

Pracovní postup:

Aplikace pro automatické analyzátory je dostupná na vyžádání.

Vlnová délka: 540 nm, Hg 546 nm

Kyveta: 1 cm

Teplota: 20–25°C / 37°C

Měření: proti reagenčnímu blanku

1. Start substrátem:

	Vzorek/ml	Standard/ml	Blank/ml
Vzorek	0,02	-	-
Dest. voda	-	-	0,02
Standard	-	0,02	-
R1	1,00	1,00	1,00

Promíchat a inkubovat po dobu 1-5 minut. Změřit počáteční absorbanci vzorku (A_s), standardu (A_{st}) a blanku (A_{bl}). Přidat:

R2	0,25	0,25	0,25
----	------	------	------

Promíchat a inkubovat po dobu 5 minut. Změřit konečnou absorbanci vzorku (A_s), standardu (A_{st}) a blanku (A_{bl}) a vypočítat ΔA . Zbarvení je stabilní 60 min.

2. Start vzorkem:

	Vzorek/ml	Standard/ml	Blank/ml
Vzorek	0,02	-	-
Dest. voda	-	-	0,02
Standard	-	0,02	-
R	1,00	1,00	1,00

Promíchat a inkubovat po dobu 5 minut. Změřit absorbanci vzorku (A_s), standardu (A_{st}) a blanku (A_{bl}). Zbarvení je stabilní 60 min.

Výpočet:

$$C_{\text{celk. bílkoviny}} = c_{st} \cdot (\Delta A_s - \Delta A_{bl}) / (\Delta A_{st} - \Delta A_{bl}) \quad [\text{g/l}]$$

c_{st} koncentrace standardu uvedená v atestu [g/l]

A_s absorbance vzorku

A_{st} absorbance standardu

A_{bl} absorbance blanku

Výsledek se vydá v g/l na 1 platné desetinné místo.

Kalibrace:

Ke kalibraci je doporučen kalibrátor Biocal (k.č. C00.003). Přímá návaznost tohoto kalibrátoru je na biuretovou metodu, koncentrace byla stanovena s celkovou nejistotou $U_{cal} = 0,99\%$.

Řízení kvality:

Pro vnitřní kontrolu kvality platí doporučení ČSKB SIKK, které je dostupné na webové stránce <http://www.cskb.cz> a pro externí hodnocení kvality je třeba využít některý komerčně dostupný systém, jehož výsledky jsou v ČR akceptovány. Bližší informace na <http://www.sekk.cz>.

Pro vnitřní kontrolu kvality použijte kontrolní séra:

Bionorm U	kat.č. C00.001	20 x 5 ml
Biopath U	kat.č. C00.002	20 x 5 ml

Referenční hodnoty¹ (g/l):

Dospělí	66 - 88	
Děti:	dívky	chlapci
1 - 30 dní	42 - 62	41 - 63
1 - 6 měsíců	44 - 66	47 - 67
6 - 12 měsíců	56 - 79	55 - 70
1 - 18 roků	57 - 80	57 - 80

Každá laboratoř by si měla ověřit, jestli jsou tyto referenční hodnoty vhodné i pro jejich populaci pacientů a stanovit svoje vlastní referenční hodnoty pokud je to nutné.

Měřicí rozsah/linearita:

0,5 - 150 g/l

Funkční senzitivita/mez stanovitelnosti:

0,5 g/l

Analytická senzitivita/citlivost:

0,25 g/l

Bias:

0,2% (pro 88,09 g/l)

1,6% (pro 46,67 g/l)

Nejistota:

Byla stanovena z nejistoty kalibračního materiálu a nejistoty měření jako rozšířená standardní nejistota ($k=2$)

$$U_{st} = 2\sqrt{(U_{cal}^2 + U_{method}^2)} = 2\sqrt{(0,99^2 + 1,32^2)} = 3,30\%$$

Analytická selektivita:

Kyselina askorbová do 1,7 mmol/l, bilirubin do 684 μ mol/l, hemoglobin do 5 g/l, dextran do 200 mg/l a lipémie do 11 mmol/l triglyceridů neruší stanovení. Více informací o interferujících látkách naleznete v Young DS⁴.

Přesnost (37 °C):

Přesnost v sérii: (n=20)

Vzorek	Průměr g/l	SD g/l	CV %
vzorek 1	52,7	0,5	0,91
vzorek 2	70,5	0,7	1,01
vzorek 3	104	0,8	0,80

Přesnost den ze dne: (n=20)

Vzorek	Průměr g/l	SD g/l	CV %
vzorek 1	52,4	0,6	1,06
vzorek 2	70,7	1,1	1,53
vzorek 3	104	1,4	1,32

Srovnání metod:

Srovnání stanovení mezi diagnostickou soupravou BioVendor¹ Celková bílkovina (biuret) (y) a komerčně dostupnou soupravou (x) bylo provedeno na 68 vzorcích. Rovnice regresní přímky má tvar: $y = 1,00 x - 0,7$ g/l; $r = 0,997$.

Upozornění:

1. Při koncentraci celkové bílkoviny vyšší než 150 g/l je nutno vzorek ředit 1 + 1 0,9 % NaCl a výsledek násobit 2x.
2. Reagencie 1: Varování . H290 - může být korozivní pro kovy. P234 - Uchovávejte pouze v původním obalu. P390 - Utírejte vylité zbytky aby nedošlo k poškození materiálu.
3. Reagencie 2: Varování. H290 - Může být korozivní pro kovy. H315 - Dráždí kůži. H319 - způsobuje vážné podráždění očí. H412 - Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P234 - Uchovávejte pouze v původním obalu. P264 - Po manipulaci si důkladně umyjte ruce a obličej. P273 - Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P280 - Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle / obličejový štít. P332 + P313 - V případě podráždění pokožky: Vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření. P305 + P351 + P338 - v případě zasažení očí: opatrně proplachujte vodou po dobu několika minut. Pokud máte, odstraňte kontaktní čočky. Pokračujte ve vyplachování. P337 + P313 - pokud přetrvává podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření
4. U vzorků od pacientů, kteří trpí zvýšeným intravenózním množstvím polydextranů, které způsobují zvýšení hodnot koncentrací, je vhodnější použít alternativní metodu (např. Kjeldahl).
5. Činidlo obsahuje NaOH. Nepipetovat ústy. Je nutno zabránit kontaktu s kůží a sliznicemi.
6. Při práci s touto reagentií dodržujte nutná bezpečnostní opatření. Více informací naleznete v Bezpečnostním listu.
7. Likvidujte v souladu s platnými předpisy.
8. Pro diagnostické použití, výsledky by měly být posuzovány v kontextu historie léčby pacienta, klinickými zkouškami a dalšími nálezy.
9. Ve vzácných případech u pacientů s gamapathií se mohou vyskytnout falešné výsledky [5].
10. Pouze pro použití odborně vyškoleným personálem.

Literatura:

1. Thomas L. Clinical laboratory Diagnostic 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998, p. 644-7.
2. Johnson Am, Rohlfs EM, Silverman LM, Protein In: Burtis CA, Ashwood R, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1999 p. 477 - 540.
3. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 42-3.
4. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
5. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assay: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.

Vyrobeno:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.
Karásek 1767/1, 621 00 Brno, Česká republika