

¹²⁵I CELKOVÁ BÍLKOVINA (moč, likvor)

Diagnostická reagencie pro kvantitativní in vitro stanovení celkové bílkoviny v moči nebo likvoru fotometricky.

Katalogové číslo:

12761

600 ml

(6 x 100 ml)

Shrnutí^{1,2}:

Zvýšená koncentrace celkové bílkoviny v moči (proteinurie) může být zjištěna u většiny onemocnění ledvin. Primární a sekundární nefropatie mohou vyvolat zvýšenou glomerulární permeabilitu nebo zvýšenou tubulární reabsorpci. Postrenálními příčinami proteinurie jsou infekce, krvácení nebo maligní choroby močového traktu. Zvýšené hladiny bílkoviny v moči mohou rovněž souviset s jinými akutními poruchami, např. horečkou a rovněž s fyzickým nebo psychickým stresem.

V likvoru (CSF) mohou být zvýšené hladiny bílkoviny naměřeny v případě zvýšeného nitrolebního tlaku (způsobeného mozkovými nádory, nitrolebním krvácením nebo traumatickým zraněním), při zánětech (zejména při bakteriální meningitidě) a rovněž při roztroušené skleróze. Zvýšená permeabilita krevní-CSF bariéry se odráží ve zvýšeném poměru celkové bílkoviny v CSF a séru.

Metoda:

Fotometrické stanovení pomocí pyrogallolové červeně. Určené hodnoty standardu Celkové bílkoviny jsou navázány na standardní referenční materiál NIST SRM®-927.

Princip:

Celková bílkovina společně s pyrogallolovou červení v přítomnosti molybdenanu vytváří červený komplex. Intenzita tohoto zabarvení je přímo úměrná koncentraci celkové bílkoviny ve vzorku.

Reagencie:

Složení a koncentrace:

R:

Pyrogallolová červeně	60 µmol/l
Molybdenan sodný	40 µmol/l
Detergenty	

Skladování a stabilita:

Diagnostické použití in vitro.

Reagencie, skladované při 2–8°C, jsou stabilní do konce měsíce deklarovaného data na balení. Nutno chránit před světlem a zabránit kontaminaci. Reagencie se nesmí zmrazit.

Příprava reagenčních roztoků:

Činidlo R je připraveno k přímému použití.

Stabilita při 2–8°C do konce měsíce deklarovaného data na balení. Chránit před světlem. Reagencie nezamrazovat.

Další potřebné materiály:

NaCl roztok 9 g/l

Obecné laboratorní vybavení.

Vzorek:

Moč nebo likvor.

Stabilita³ v moči:

1 den	při 20-25°C
7 dnů	při 4-8°C
1 měsíc	při -20°C

Stabilita³ v likvoru:

1 den	při 20-25°C
6 dnů	při 4-8°C
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: 600 nm

Kyveta: 1 cm

Teplota: 37°C

Měření: proti reagenčnímu blanku

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

Promíchat, inkubovat přesně 10 minut a změřit absorbanci vzorku (A_s), standardu (A_{st}) a blanku (A_{bl}). Stabilita zabarvení je 30 min.

Výpočet:

$$C_{\text{celkové bílkoviny}} = C_{st} \cdot (A_s - A_{bl}) / (A_{st} - A_{bl}) \quad [\text{mg/l}]$$

C_{st} koncentrace standardu uvedená v atestu [mg/l]

A_s absorbance vzorku

A_{st} absorbance standardu

A_{bl} absorbance blanku

Výsledek se vydá v mg/l, bez desetinných míst.

Kalibrace:

Ke kalibraci je doporučen kalibrátor ¹²⁵I Celková bílkovina (moč, likvor) – kalibrátor (k.č. 12762).

Přímá návaznost kalibrátoru je na NIST SRM®-927.

Koncentrace byla stanovena s celkovou nejistotou $U_{cal} < 4\%$

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 materiály s definovanou hodnotou celkové bílkoviny.

Referenční hodnoty^{2,4}:

Moč 24 – 141 mg/den

Likvor < 500 mg/l*

*Tato hodnota slouží pouze jako orientační.

Měřicí rozsah/linearita:

20 – 3000 mg/l

Funkční senzitivita/mez stanovitelnosti:

20 mg/l

Analytická senzitivita/citlivost:

10 mg/l

Bias:

7,1% (pro 142 mg/l)

Nejistota:

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

$$U_{st} = 2\sqrt{(U_{cal}^2 + U_{method}^2)} = 2\sqrt{(4,0^2 + 2,42^2)} = 9,35\%$$

Analytická selektivita:

Chyby způsobené interferujícími složkami v moči jsou < 2%. Pro další informace ohledně interferujících složek viz literatura Young DS [8].

Přesnost (37°C):

Přesnost v sérii: (n=20)

Vzorek	Průměr mg/l	SD mg/l	CV %
vzorek 1	178	5,23	2,94
vzorek 2	450	5,10	1,14
vzorek 3	1564	27,6	1,77

Přesnost ze dne na den: (n=20)

Vzorek	Průměr mg/l	SD mg/l	CV %
vzorek 1	170	3,94	2,32
vzorek 2	449	9,68	2,16
vzorek 3	1484	42,5	2,86

Srovnání metod:

Srovnání stanovení mezi diagnostickou soupravou BioVendor ^LCelková bílkovina (y) a komerčně dostupnou soupravou (x) bylo provedeno na 69 vzorcích. Rovnice regresní přímky má tvar $y = 1,02x + 2,20$ mg/l; $r = 0,990$.

Upozornění:

1. Jestliže koncentrace celkové bílkoviny přesáhne hodnotu 3000 mg/l je nutné vzorek ředit 0,9% NaCl 1 + 1 a výsledek násobit 2x. Vzorky s nižšími koncentracemi by

měly být stanovovány s většími objemy (např. 50 µl vzorku a 1000 µl reagensie).

2. Kalibrátor není součástí setu. Je možné ho na přání objednat. ^L Celková bílkovina (moč, likvor) kalibrátor (12762) – je připraven k přímému použití a je stabilní dle deklarovaného data na balení při 2–8°C. Koncentrace celkové bílkoviny je uvedena v mg/l na štítku lahvičky.

3. Při práci s touto reagensií dodržujte nutná bezpečnostní opatření. Více informací naleznete v Bezpečnostním listu.

4. Likvidujte v souladu s platnými předpisy.

5. Pro diagnostické použití, výsledky by měly být posuzovány v kontextu historie léčby pacienta, klinickými zkouškami a dalšími nálezy.

5. Ve vzácných případech u pacientů s gamapathií se mohou vyskytnout falešné výsledky [7]

6. Pouze pro použití odborně vyškoleným personálem!

Literatura:

1. Johnson AM, Rohlfs EM, Silverman LM. Proteins. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 477-540.

2. Felgenhauer K. Laboratory diagnosis of neurological diseases. In: Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 1308-26.

3. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 52-3; 54-5.

4. Boege F. Urinary proteins. In: Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 382-400.

5. Orsonneau JL, Douet P, Massoubre C, Lustenberger P, Bernard S. An improved pyrogallol red-molybdate method for determining total urinary protein. Clin Chem 1989; 35: p. 2233-6.

6. Watanabe N, Kamei S, Ohkubo A, Yamanaka M, Ohsawa S, Makino K et al. Urinary protein as measured with a pyrogallol red-molybdate complex. Manually and in a Hitachi 726 automated analyzer. Clin Chem 1986; 32: p. 1551-4.

7. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assay: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.

8. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association of Clinical Chemistry Press 2000.

Vyrobeno:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Karásek 1767/1, 621 00 Brno, Česká republika