



NÁVOD K POUŽITÍ

CELKOVÁ BÍLKOVINA

600 T

KATALOGOVÉ ČÍSLO 305





SKALAB s.r.o., Slovenská 723/61, 568 02 Svitavy
tel.: +420 461 531 163, +420 777 176 107, +420 777 324 399
fax: +420 461 530 619
<http://www.skalab.cz>, e-mail: skalab@skalab.cz

POUŽITÍ

Souprava Celková bílkovina 600 T se používá ke kvantitativnímu stanovení koncentrace celkové bílkoviny v moči a mozkomíšním moku na automatických analyzátoch.

SOUHRN

Poškození glomerulárního filtru má za následek průnik většího množství bílkovin do primární moči. Tento stav označujeme jako glomerulární proteinurii. Při mírném poškození najdeme v moči bílkoviny s menší molekulovou hmotností, především albumin a transferin. Tento typ označujeme jako glomerulární proteinurii selektivní, která má dobrou prognózu při léčbě. Pokud je poškození glomerulární membrány většího stupně najdeme v moči kromě albuminu i bílkoviny o větší molekulové hmotnosti, např. i imunoglobuliny. Tento typ označujeme jako glomerulární neselektivní proteinurii. Prognóza léčby tohoto onemocnění je malá. Při onemocnění tubulárních buněk nemohou být dostatečně vstřebávány mikroproteiny, které prošly zdravým glomerulem. Tuto poruchu označujeme jako tubulární proteinurii, při které v moči nalézáme bílkoviny o menší molekulové hmotnosti, než má albumin. Proteinurie při normální renální funkci může vzniknout při fyziologicky zvýšeném vylučování nebo při tvorbě velkého množství bílkovin o nízké molekulové hmotnosti. Ke zvýšenému vylučování bílkovin dochází v těhotenství a po namáhavém cvičení¹.

PRINCIP METODY

V prostředí imidazolového pufru je bílkovina denaturována Hyaminem. Interferenci hořečnatých iontů je zabráněno pomocí Chelatonu III. Vzniklý homogenní zákal je vyhodnocen fotometricky² při 505 nm.



SKALAB s.r.o., Slovenská 723/61, 568 02 Svitavy
tel.: +420 461 531 163, +420 777 176 107, +420 777 324 399
fax: +420 461 530 619
<http://www.skalab.cz>, e-mail: skalab@skalab.cz

SLOŽENÍ SOUPRAVY

1 ČINIDLO 5 x 100 ml:	Imidazol	100 mmol/l
	Hydroxyd sodný	500 mmol/l
	Chelaton III	32,2 mmol/l
	Detergenty, stabilizátory	
2 ČINIDLO 1 x 100 ml:	Hyamine	44,6 mmol/l

PŘÍPRAVA ČINIDEL

1 ČINIDLO a 2 ČINIDLO jsou připraveny k přímému použití.

STABILITA SOUPRAVY

1 ČINIDLO a 2 ČINIDLO jsou při teplotě 2 – 25 °C stabilní až do doby expirace.

POUŽITÝ MATERIÁL

Ke stanovení se obvykle sbírá moč 24 h bez přídavku konzervačních látek, ale během sběru se uchovává při 4 – 8 °C. Před analýzou se centrifuguje, mozkomíšni mok je třeba centrifugovat do 1 h po odběru. Stabilita pro moč: 20 – 25 °C 1 den, 4 – 8 °C 2 dny, -20 °C 1 rok. Mozkomíšni mok: 20 – 25 °C 1 den, 4 – 8 °C 1 týden, -20 °C 1 rok³.

POSTUP ANALÝZY

	VZOREK [μl]	STANDARD [μl]	KONTR. VZOREK [μl]
MOČ, MOK	15	–	–
STANDARD	–	15	–
1. ČINIDLO	250	250	250



SKALAB s.r.o., Slovenská 723/61, 568 02 Svitavy
tel.: +420 461 531 163, +420 777 176 107, +420 777 324 399
fax: +420 461 530 619
<http://www.skalab.cz>, e-mail: skalab@skalab.cz

Vše se promíchá a za 5 min. se změří absorbance blanku standardu $A_{B1st1-5}$ a vzorku A_{BIVz} proti kontrolnímu vzorku.

	VZOREK [μ l]	STANDARD [μ l]	KONTR. VZOREK [μ l]
2. ČINIDLO	50	50	50

Promíchá se a za dalších 5 minut se změří absorbance standardu A_{St} a vzorku A_{Vz} . Měření se provádí při 505 nm (eventuálně 495 – 520 nm) v 10 mm skleněných kyvetách. V případě bichromatického měření se vedlejší vlnová délka nastaví na hodnotu 660 nm.

VÝPOČET

Pro každý standard vypočteme rozdíl absorbancí $\Delta A_{St,1-5} = A_{St,1-5} - A_{B1st,1-5}$. Sestrojíme vícebodovou kalibrační křivku vynesím $\Delta A_{St,1-5}$ proti koncentracím bílkoviny v kalibrátoru. Pro každý vzorek vypočteme rozdíl absorbancí $\Delta A_{Vz} = A_{Vz} - A_{BIVz}$. Koncentraci bílkovin ve vzorcích určíme interpolací z kalibrační křivky. Doporučujeme počítačové zpracování kalibrační závislosti. Pokud pracujeme na analyzátoru, vybereme na vyhodnocení kalibrační křivky vhodnou interpolaci.

KALIBRACE A KONTROLA

Ke kalibraci a kontrole použijeme standardy pro stanovení bílkoviny v moči nebo kontrolní moče / RANDOX, BIO-RAD aj. Pokud stanovení provádíme na analyzátoru, je vhodné použít kalibrátor o koncentraci 1,00 g/l a ředění si provede analyzátor sám viz. parametry na Advii 1650 a Hitachi 911.

REFERENČNÍ INTERVAL

Moč⁴ odpad < 0,135 g/d

Mok⁵ 0,200 – 0,500 g/l, hodnoty jsou pouze orientační a nepředstavují referenční interval v pravém slova smyslu.



ZNAKY ANALYTICKÉ METODY

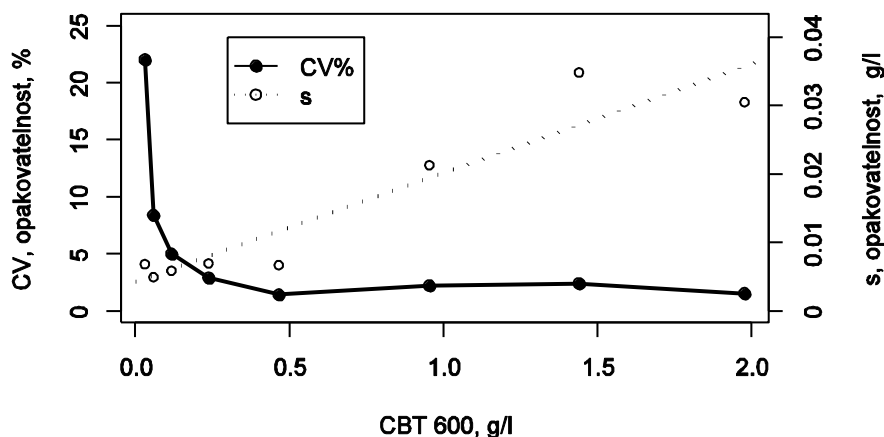
NEPŘESNOST

Odhady nepřesnosti v sérii a celkové nepřesnosti byly získány měřením na základě protokolu EP5-A NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards)⁶. Celkový počet pozorování byl $N = 80$ u každého séra. Výsledky v tabulce jsou platné pro měření na analyzátoru ADVIA 1650, Bayer.

Vzorek	Průměr g/l	Směrodatná odchylka g/l				Celková CV%	N
		uvnitř série	mezi sériemi	mezi dny	Celková		
Nízký močový pool	0,1215	0,0038	0,0060	0,0040	0,0081	6,64	80
Vysoký močov. pool	0,5439	0,0096	0,0073	0,0223	0,0253	4,65	80

PROFIL PŘESNOSTI

Profil přesnosti byl sestaven na základě opakovaného měření vzorků moči patnácti pacientů s koncentrací celkové bílkoviny v rozmezí 0,031 – 2,00 g/l. Zatímco směrodatná odchylka opakovaných stanovení se zvyšuje s rostoucí koncentrací jen velmi mírně (tečkovaná čára), opakovatelnost vyjádřená jako variační koeficient (plná čára) je prakticky konstantní v oblasti 0,1 – 2,0 g/l, pak strmě narůstá u koncentrací nižších než 0,1 g/l. Výsledky dobře korespondují s odhadnutou mezí stanovitelnosti (0,07 g/l) a přesností zjištěnou v experimentu EP5-A.



LINEARITA

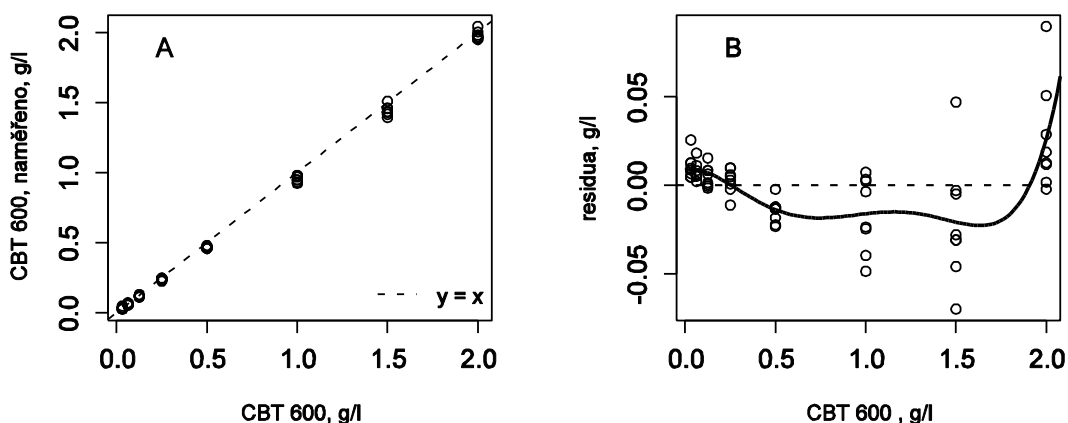
Linearita stanovení proteinů v moči byla testována ve fyziologicky důležitém rozpětí koncentrací 0,03 – 2,0 g/l. V tomto intervalu korelační koeficient dosahuje hodnoty 0,9993, přímka prochází počátkem. To svědčí o uspokojivém proložení přímky měřenými body⁷. Rovněž přímka proložená residui má oba koeficienty lineární regrese statisticky nevýznamné od nuly na hladině významnosti $\alpha = 0,001$. Odchyly od linearity nejsou ani při hodnocení linearity F-testem rozptýlů na základě vážené lineární regrese ($F_{(6,48)} = 0,54, p = 0,89$).

MEZ DETEKCE A MEZ STANOVITELNOSTI

Mez detekce a mez stanovitelnosti byly vypočteny na základě analýzy slepého vzorku (mez detekce = $0 + 3,3 * S_{\text{blanku}}$, mez stanovitelnosti $0 + 10 * S_{\text{blanku}}$, $n = 40$). Mez detekce je 0,03 g/l, mez stanovitelnosti 0,063 g/l.

INTERFERENCE

Seznam látek, které mohou při stanovení celkové bílkoviny v moči interferovat publikoval Young DS⁸. Bilirubin ve vysokých koncentracích interferuje, stejně tak jako řada léčiv a některé typy paraproteinů. Interference obvykle vedou k nálezu falešně zvýšených hodnot.



Linearita stanovení proteinu.

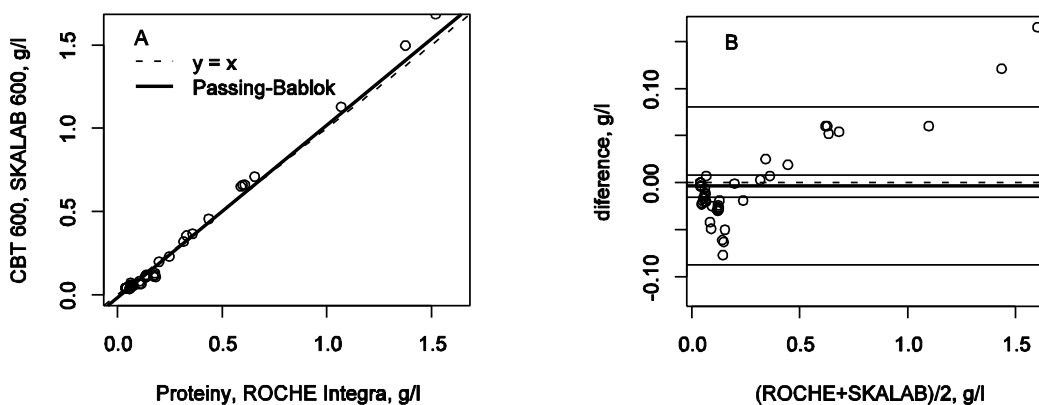
A. Regresní přímka $y = 0,981x - 0,001$, $r = 0,9994$, $s_{y/x} = 0,0234$ g/l, $n = 64$.

B. Graf residuí.

F-test rozptýlů na základě vážené lineární regrese nevykazuje odchylky od linearitu ($F_{(6,48)} = 0,54$, $p = 0,89$), program⁸. Vážená regrese a odpovídající residua nejsou zobrazeny.

SROVNÁNÍ S COBAS INTEGROU 400 PLUS

Bylo analyzováno 50 vybraných močí pacientů na analyzátoru firmy *ROCHE Cobas Integra 400 Plus* s použitím diagnostické soupravy *Total Protein Urine/CFS Gen. 3* od stejné firmy. Shodné vzorky byly analyzovány soupravou SKALAB CBT 600 T na analyzátoru HITACHI 911. Výsledky srovnání byly statisticky vyhodnoceny neparametrickou metodou podle Passinga-Babloka⁷ a diferenčním grafem. K výpočtu byl použitý program⁹.



Srovnání metody CBT 600 T s metodou stanovení celkové bílkoviny ROCHE na INTEGRA 400.

A. Regrese podle Passinga-Babloka. Výsledky výpočtu v následující tabulce.

B. Diferenční graf.

95% interval spolehlivosti směrnice zahrnuje hodnotu 1,00, úsek na ose y(-0,016 g/l) je však na dané hladině významnosti signifikantní. Rozdíly mezi metodami nabývají praktického významu u vyšších koncentrací (nad 1,3 g/l).

Srovnání metody CBT 600 T s metodou stanovení celkové bílkoviny v moči na analyzátoru INTEGRA 400, Roche.

Passingova-Bablokova regrese	n	Směrnice (95% CI)	Intercept (95% CI)	r *
	50	1,036	-0,016	0,971
		(0,878 až - 1,095)	(-0,025 až -0,003)	

* pořadový korelační koeficient



SKALAB s.r.o., Slovenská 723/61, 568 02 Svitavy
tel.: +420 461 531 163, +420 777 176 107, +420 777 324 399
fax: +420 461 530 619
<http://www.skalab.cz>, e-mail: skalab@skalab.cz

LITERATURA

1. Racek J. et al.: *Klinická biochemie*, Galen, Praha, 1999, s. 54-55. ISBN 80-7262-023-1.
2. Škavrada J., Škavrada M.: *Diagnostický prostředek pro stanovení celkové bílkoviny*, užitný vzor CZ 8888 U1, 9498-99, 13. 7. 1999.
3. Jabor A., Zámečník M.: *Preanalytická fáze 2005, Encyklopedie laboratorní medicíny pro klinickou praxi*. ČLS JEP a SEKK, Praha 2005, s. 113. ISBN 80-239-5198-X.
4. Thomas L. (ed.): *Clinical laboratory diagnostics: use and assesment of clinical laboratory results*. (English). TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt am Main, 1998, s.386, ISBN 3-9805215-4-0.
5. Thomas L. (ed.): *Clinical laboratory diagnostics: use and assesment of clinical laboratory results*. (English). TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt am Main, 1998, s. 1312, ISBN 3-9805215-4-0.
6. National Comitée for Clinical Chemistry Laboratory Standards. Evaluation of Precision Performance of Clinical Laboratory Device; Aprovede Guidline. NCCLS document EP5-A, 1997.
7. Passing H., Bablok W.: *A New Biometrical Procedures for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods*. J.Clin.Chem.Clin.Biochem. 1983;21:709-720.
8. Young DS: *Effect of Drug on Clinical Laboratory Tests*. Third Edition 1990, 3:296-300
9. *A Program for Statistical Analysis in Clinical Biochemistry*. Version 4.2.0. Kristian Linnet, Vibevej 3, DK-8240 Risskov, Denmark, 1997-2001.

Datum poslední revize: 14. 4. 2015

Výrobce:



SKALAB s.r.o., Slovenská 723/61, 568 02 Svitavy
Tel.: +420 461 531 163
Mobil: +420 777 176 107, +420 777 324 399
Fax: +420 461 530 619
<http://www.skalab.cz>, e-mail: skalab@skalab.cz

