

ABX Pentra Total Protein CP

■ Pentra C400

REF A11A01669

REAGENT 61 mL

IVD CE

HORIBA ABX SAS
Parc Euromédecine
Rue du Caducée
BP 7290
34184 Montpellier Cedex 4
FRANCE



Odczynnik diagnostyczny do oznaczania ilościowego *in vitro* stężenia białka całkowitego w surowicy krwi lub osoczu metodą kolorymetryczną.

Wersja aplikacji

Surowica, osocze: TP_R (do użytku poza Stanami Zjednoczonymi)

1.xx

Zastosowanie

ABX Pentra Total Protein CP jest odczynnikiem diagnostycznym do oznaczania ilościowego *in vitro* stężenia białka całkowitego w surowicy i osoczu krwi metodą kolorymetryczną.

Pomiary wykonane przy użyciu urządzenia wykorzystuje się w diagnostyce i leczeniu różnorodnych chorób, w tym schorzeń wątroby, nerek i szpiku kostnego, jak również innych zaburzeń metabolicznych i żywieniowych.

Aspekty kliniczne (1, 2)

Osocze krwi jest stężonym roztworem białek, spośród których 60% stanowi albumina. Wszystkie białka osocza spełniają różnorodne funkcje od utrzymywania ciśnienia onkotycznego po transport rozmaitych cząstek. Białka biorą udział w złożonych mechanizmach krzepnięcia krwi i reakcjach immunologicznych skierowanych na przeciwciała. Jedną z grup białek stanowią obecne w niskich stężeniach enzymy. Ich nadmierna aktywność jest wiarygodnym wskaźnikiem uszkodzenia komórek.

Oznaczenia wahań w całkowitym stężeniu są zatem dobrym wskaźnikiem diagnostycznym, który jednak należy uzupełniać ścisłym bilansem.

Hipoproteinemia wskazuje na niskie stężenie albuminy, co z kolei wiąże się z nadmiernym wydalaniem białek przez nerki, zaburzeniami w syntezie białek (niewydolność wątroby) lub chorobą związaną z niedoborem.

Hipoproteinemię obserwuje się w związku z objawami odwodnienia, może ona jednak również wynikać z dysglobulinemii lub szpiczaka.

Metoda

Test kolorymetryczny do ilościowego oznaczania stężenia białka całkowitego w surowicy i osoczu. Nieskomplikowana, szybka i precyzyjna metoda punktu końcowego została opracowana i poprawiona przez Gornalla *et al.* (1949) (3) przy zastosowaniu reakcji biuretovej.

Reakcja biuretovej była uprzednio badana i upraszczana przy zastosowaniu pojedynczego odczynnika roboczego (4) oraz ulepszana poprzez zwiększenie stabilności odczynnika biuretovej dzięki dodaniu glikolu etylenowego (5), winianu (6) lub cytrynianu (7).

Metoda ta opiera się na tworzeniu, w roztworze zasadowym, w obecności jonów miedzi, charakterystycznego fioletowego kompleksu biuretu ($\text{NH}_2\text{-CO-NH-CO-NH}_2$) i dwóch kolejnych związków peptydowych.

Powstały kompleks przyjmuje przeważnie błękitne zabarwienie. Intensywność zabarwienia jest wprost proporcjonalna do stężenia białek.

Białka + Cu^{2+} → Komplex barwny

nb.: Winian sodu i potasu nie pozwala na tworzenie się strątu wodorotlenku miedzi, a jodek potasu nie dopuszcza do autoredukcji miedzi.

Odczynniki

ABX Pentra Total Protein CP jest odczynnikiem gotowym do użycia.

ABX Pentra Total Protein CP

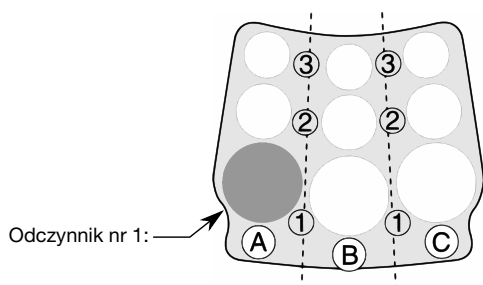
Odczynnik:

Jodek potasu	6 mmol/L
Winian potasowo-sodowy	21 mmol/L
Siarczan miedzi	6 mmol/L
Wodorotlenek sodu	58 mmol/L

ABX Pentra Total Protein CP należy używać zgodnie z niniejszą ulotką. Producent nie może zagwarantować właściwego działania produktu, jeżeli zostanie on użyty w sposób inny od podanego.

Postępowanie ze statywem

1. Przenieś wymaganą do całodzienniej pracy objętość odczynnika do fiolki odczynnikowej o pojemności 15, 10 lub 4 mL.
2. Umieść fiolkę na pozycji 1 w jednym z dostępnych obszarów roboczych.
Używaj następującego sprzętu:
 - fiolka odczynnikowa o poj. 15 mL
 - fiolka odczynnikowa 10 mL + pasujący adapter
 - fiolka odczynnikowa 4 mL + pasujący adapter



3. Jeżeli odczynnik zawiera pianę, usuń ją za pomocą plastikowej pipety.
4. Umieść statyw odczynnikowy w chłodzonej komorze na odczynnikach analizatora Pentra C400.

Ważne: Odczynnik pozostały w pojemniku pod koniec dnia należy usunąć.

Kalibrator

Do celów kalibracji należy używać:

ABX Pentra Multical (A11A01652) (do oddzielnego zakupu)
10 x 3 mL (лиофилizat)

Kontrola ^a

Do wewnętrznej kontroli jakości należy używać:

- **ABX Pentra N Control / ABX Pentra N MultiControl** (A11A01653 / 1300054414) (do oddzielnego zakupu)
10 x 5 mL (лиофилizat)
- **ABX Pentra P Control / ABX Pentra P MultiControl** (A11A01654 / 1300054415) (do oddzielnego zakupu)
10 x 5 mL (лиофилizat)

Oznaczenie kontroli powinno być przeprowadzane raz dziennie i/lub po wykonaniu kalibracji.

Częstość przeprowadzania kontroli oraz przedziały ufnosci powinny być ustalone w oparciu o wytyczne laboratoryjne oraz przepisy obowiązujące w danym kraju. Należy przestrzegać krajowych, regionalnych i lokalnych wytycznych dotyczących materiałów do kontroli jakości. Wynik kontroli musi zawierać się w zdefiniowanych przedziałach ufnosci. Każde laboratorium powinno wypracować sposób postępowania w przypadku, gdy wyniki wykracza poza wyznaczone przedziały.

Wymagane wyposażenie niewchodzące w skład produktu ^a

- Zautomatyzowany kliniczny analizator biochemiczny: Pentra C400
- Kalibrator: **ABX Pentra Multical** (A11A01652)
- Kontrole:
 - ABX Pentra N Control / ABX Pentra N MultiControl** (A11A01653 / 1300054414)
 - ABX Pentra P Control / ABX Pentra P MultiControl** (A11A01654 / 1300054415)
- Standardowy sprzęt laboratoryjny.

Próbka

- Surowica niehemolizowana.
- Osocze pobrane z heparyną litową.

Firma HORIBA Medical nie prowadziła testów dla antykoagulantów innych niż wymienione na liście i w związku z tym nie zaleca ich używania dla potrzeb tego oznaczenia.

Uwaga: Wybrany zakres odniesienia zależy od wybranej przez użytkownika matrycy.

Dodatkowe informacje znajdują się w rozdziale nt. zakresu odniesienia.

^aModyfikacja: nowa kontrola.

ABX Pentra Total Protein CP

Stabilność (1):

- W zamkniętej probówce w temperaturze pokojowej: do 1 tygodnia
- W temperaturze 4-8°C: do 1 miesiąca
- W stanie głębokiego zamrożenia: > 1 rok

Zakres norm

Każde laboratorium powinno wypracować swoje własne zakresy odniesienia. Wartości podane w niniejszej ulotce mają wyłącznie charakter orientacyjny.

Wartości dla próbek surowicy (2):

Pacjenci ambulatoryjni:	64 - 83 g/L
	6,4 - 8,3 g/dL
Pacjenci leżący:	60 - 78 g/L
	6,0 - 7,8 g/dL

Zarówno surowicy jak i osocza można używać w oznaczeniach białka całkowitego. Z uwagi na czynnik krzepnięcia (fibrinogen) średnie stężenie białka całkowitego w osoczu jest wyższe niż w surowicy, szczegółowe dane zebrano poniżej (1):

Pochodzenie krwi	Wzrost stężenia białka w osoczu w porównaniu z surowicą
Krwiodawcy:	+ 2,5 g/L
Pacjenci niehospitalizowani:	+ 3,6 g/L
Pacjenci hospitalizowani:	+ 4,6 g/L
Pacjenci hospitalizowani, u których CRP >50 mg/dL:	+ 6,6 g/L

Przechowywanie i stabilność

Stabilność przed otwarciem:

Zachowuje stabilność do daty ważności podanej na etykiecie pod warunkiem przechowywania w temperaturze 2-8°C.

Stabilność po otwarciu:

Produkt stabilny przez 1 miesiąc w temperaturze 2-8°C, o ile jest zamykany niezwłocznie po użyciu i chroniony przed zanieczyszczeniem.

Postępowanie z odpadami

Należy postępować zgodnie z lokalnie obowiązującymi przepisami.

Ogólne środki ostrożności

- Niniejszy odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do profesjonalnej diagnostyki *in vitro*.
- Wyłącznie do stosowania z przepisu lekarza.
- Ten odczynnik został sklasyfikowany jako szkodliwy w rozumieniu rozporządzenia (WE) nr 1272/2008.
- **Ostrzeżenie**
 - H290:** Może powodować korozję metali.
 - H412:** Działa szkodliwie na organizmy wodne, powoduje długotrwałe skutki.
 - P234:** Przechowywać wyłącznie w oryginalnym pojemniku.
 - P273:** Unikać uwolnienia do środowiska.
 - P390:** Usunąć wyciek, aby zapobiec szkodom materialnym.
 - P406:** Przechowywać w pojemniku odpornym na korozję o odpornej powłoce wewnętrznej.
- Kasety odczynnikowe są kasetami jednorazowego użytku, należy je utylizować zgodnie z lokalnymi przepisami.
- Należy uważnie zapoznać się z kartą charakterystyki (MSDS) dołączoną do odczynnika.
- Nie używać produktu, jeżeli można zaobserwować zmianę jego cech biologicznych, chemicznych lub fizycznych, co wskazuje na jego nieprzydatność do użytku.
- Użytkownik ma obowiązek sprawdzić, czy niniejszy dokument dotyczy używanego w danym przypadku odczynnika.

Wydajność w analizatorze Pentra C400

Surowica, osocze

Dane przedstawione poniżej to wartości uzyskiwane na analizatorach HORIBA Medical.

Liczba oznaczeń: ok. 300 oznaczeń^b

Stabilność robocza odczynników^c

Codziennie należy używać świeżego odczynnika. Odczynnik pozostały w pojemniku po użyciu należy poddać utylizacji.

^bModyfikacja: nowe zalecenie.

^cModyfikacja: dodano stabilność roboczą odczynników.

ABX Pentra Total Protein CP

Objętość próbek: 2,0 µL/oznaczenie

Wykrywalność

Granice wykrywalności określa się zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS), procedura EP17-A (8) i wynosi ona 1,4 g/L (0,14 g/dL).

Granica oznaczalności

Granice oznaczalności określa się zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS), procedura EP17-A (8) i wynosi ona 6,0 g/L (0,60 g/dL).

Trafność i precyzja

Powtarzalność (precyzja oznaczenia)

Powtarzalność wg zaleceń procedury Valtec (9) z próbkami poddanymi 20 oznaczeniom:

- 2 kontrole
- 3 próbki (poziomy niskie / średnie / wysokie)

	Wartość średnia g/L	Wartość średnia g/dL	CV %
Próbka kontrolna 1	51,6	5,16	1,01
Próbka kontrolna 2	51,7	5,17	1,24
Próbka 1	42,3	4,23	1,12
Próbka 2	60,6	6,06	0,87
Próbka 3	79,3	7,93	0,69

Odtwarzalność (precyzja wewnątrzlaboratoryjna)

Odtwarzalność wg zaleceń CLSI (NCCLS), procedura EP5-A (10) z próbkami poddawany podwójnym oznaczeniom przez 20 dni (2 serie dzienne):

- 2 kontrole
- 2 próbki (poziomy niskie / wysokie)

	Wartość średnia g/L	Wartość średnia g/dL	CV %
Próbka kontrolna 1	52,50	5,25	2,51
Próbka kontrolna 2	51,88	5,19	2,37
Próbka 1	44,95	4,50	2,82
Próbka 2	66,69	6,67	2,19

Zakres pomiaru

Analiza potwierdziła zakres pomiaru od 6,0 g/L (0,60 g/dL) do 100,0 g/L (10,00 g/dL).

Zakres pomiaru jest rozszerzony do 200,0 g/L (20,00 g/dL) z automatycznym rozcieńczeniem następczym. Liniowość odczynnika ustalono na wartość do 100,0 g/L (10,00 g/dL), zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS), procedura EP6-A (11).

Korelacja

Próbki surowicy:

Próbki pobrane od pacjenta: Surowica
Liczba próbek pobranych od pacjenta: 115
Próbki koreluje się z komercyjnie dostępnym odczynnikiem, używanym jako wzorzec, zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS), procedura EP9-A2 (12).
Wartości zawierały się w przedziale od 7,3 g/L (0,73 g/dL) do 96,6 g/L (9,66 g/dL).
 $Y = 1,02 X + 0,6$ (g/L)
 $Y = 1,02 X + 0,06$ (g/dL)
przy współczynniku korelacji $r^2 = 0,9845$.

Próbki osocza:

Próbki pobrane od pacjenta: Osocze z heparyną litową
Liczba próbek pobranych od pacjenta: 131
Próbki koreluje się z komercyjnie dostępnym odczynnikiem, używanym jako wzorzec, zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS), procedura EP9-A2 (12).
Wartości zawierały się w przedziale od 7,0 g/L (0,70 g/dL) do 96,9 g/L (9,69 g/dL).
 $Y = 0,97 X - 0,2$ (g/L)
 $Y = 0,97 X - 0,02$ (g/dL)
przy współczynniku korelacji $r^2 = 0,9798$.

Czynniki zakłócające

Hemoglobina: Nie obserwuje się znaczącego wpływu do 72,5 µmol/L (125 mg/dL).

Hemoglobina: Nie używać próbek hemolizowanych.

Triglicerydy: Nie obserwuje się znaczącego wpływu do stężenia triglicerydów 4,1 mmol/L (355 mg/dL).

Bilirubina całkowita: Nie obserwuje się znaczącego wpływu do 616 µmol/L (36 mg/dL).

Bilirubina bezpośrednia: Nie obserwuje się znaczącego wpływu do 616 µmol/L (36 mg/dL).

Young podaje także inne ograniczenia, a w szczególności listę leków oraz zmiennych przedanalitycznych, które według obecnego stanu wiedzy wpływają na wyniki tej metody (13, 14).

Stabilność kalibracji

Odczynnik jest kalibrowany w dniu 0. Stabilność kalibracji jest kontrolowana przez wykonanie testów na 2 próbkach kontrolnych.

Stabilność kalibracji wynosi 1 dzień.

ABX Pentra Total Protein CP

Uwaga: Ponowną kalibrację odczynnika zaleca się w przypadku zmiany jego serii oraz w przypadku, gdy wyniki kontroli jakości wykroczą poza założony zakres.

Współczynnik konwersji

$\text{g/L} \times 0,1 = \text{g/dL}$

Bibliografia

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: THBooks Verlagsgesellschaft (1998): 644-647.
2. Roberts WL, McMillin GA, Burtis CA, Bruns DE. Reference Information for the Clinical Laboratory. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th Ed., Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. (Elsevier Saunders eds. St Louis USA), (2006): 2293.
3. Gornall AG, Bardawill CJ, David MM. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction, J. Biol. Chem. (1949) **177** (2): 751-766.
4. Kingsley GR. J. Lab. and Clin. Med. (1942) **27**: 840.
5. Mehl JW. J. Biol Chem. (1945) **157**: 173.
6. Weichselbaum TE. Am. J. Clin. Path. (1946) **10**(Tech. Suppl.): 40.
7. Zecca AM. Semana Med. Buenos Aires, 2, 709 (1947); Chem. Abstr. (1948) **42**: 1621.
8. Protocols for determination of limits of detection and limits of quantitation. Approved Guideline, CLSI (NCCLS) document EP17-A (2004) **24** (34).
9. Vassault A, Grafmeyer D, Naudin C et al. Protocole de validation de techniques (document B). Ann. Biol. Clin. (1986) **44**: 686-745.
10. Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. Approved Guideline, CLSI (NCCLS) document EP5-A (1999) **19** (2).
11. Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods. Approved Guideline, CLSI (NCCLS) document EP6-A (2003) **23** (16).
12. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. Approved Guideline, 2nd ed., CLSI (NCCLS) document EP9-A2 (2002) **22** (19).
13. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4th Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 143-163.
14. Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 2nd Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 120-132.

