

REF 10213-4 4 x 20 mL / 5 mL

BIAŁKO CAŁKOWITE (TP)

Każdy pojemnik zawiera 20 mL odczynnika R1 oraz 5 mL odczynnika R2.

ZASTOSOWANIE

Odczynnik TP EasyRA służy do ilościowego pomiaru białka całkowitego w ludzkiej surowicy lub w osoczu z użyciem klinicznego analizatora chemicznego MEDICA EasyRA®.

Do diagnostycznego stosowania *in vitro*. Wyłącznie do użytku przez profesjonalistów.

OPIS I OBJAŚNIENIE^{1, 2, 3}

W osoczu ludzkim białko składa się głównie z albuminy, która stanowi 50 do 60% białka całkowitego, podczas gdy resztę stanowią α 1-, α 2-, β - oraz γ -globuliny. Stężenie białka całkowitego (TP) jest istotne w celu zachowania normalnej równowagi i wymiany wody pomiędzy krwią i tkankami. Niskie stężenie białka w surowicy może być wynikiem nieprawidłowego wchłaniania, upośledzonej syntezy lub utraty białka na skutek krwawień lub nadmiernego katabolizmu, np. w przypadku zaburzeń funkcji nerek i wątrobowych, co może prowadzić do hipoproteinemii. W przypadku hiperimmunoglobulinemii (np. szpiczak mnogi i infekcja) lub odwodnienia może dojść do hiperproteinemii.

ZASADY PROCEDURY

Metoda pomiaru stężenia białka opiera się o odczyn biuretowy, w którym jony miedzi w roztworze zasadowym wchodzą w reakcję ze związkami (zawierającymi dwa lub więcej wiązań amidowych lub peptydowych z atomem węgla), tworząc związek barwnika.⁴

Białka w surowicy + Cu^{++} $\xrightarrow{\text{pH alkaliczne}}$ związek fioletowego barwnika

Fioletowy związek jest mierzony spektrofotometrycznie przy 550 nm z falą wygaszającą 700 nm. Intensywność zabarwienia jest wprost proporcjonalna do stężenia białek w próbce.⁵

ODCZYNNIKI

Odczynnik TP (R1):

Wodorotlenek sodu	0,4 g/dL
Winian sodowo-potasowy	17 mmol/L

Odczynnik TP (R2):

Wodorotlenek sodu	500 mmol/L
Winian sodowo-potasowy	80 mmol/L
Jodek potasu	75 mmol/L
Siarczan miedzi	0,5 g/dL

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Podczas używania dowolnego odczynnika laboratoryjnego należy przestrzegać dobrych praktyk bezpieczeństwa. (CLSI, GP17-A3).
- Wodorotlenek sodu ma działanie żrące i powoduje poparzenia. Trzymać z dala od ust. W przypadku połknięcia natychmiast skonsultować się z lekarzem. Unikać kontaktu z oczami i skórą. W przypadku kontaktu z oczami natychmiast przemyć dużą ilością wody i zasięgnąć porady lekarza. W przypadku kontaktu ze skórą przemywać skórę przez co najmniej 15 minut.
- Tak jak w przypadku wszystkich procedur diagnostycznych, wyniki powinny zostać zinterpretowane z uwzględnieniem wyników wszelkich innych badań i statusu klinicznego pacjenta.
- Nie używać mytych kuwet.

INSTRUKCJE DOTYCZĄCE UŻYCIA, PRZECHOWYWANIA I STABILNOŚCI ODCZYNNIKA

Odczynnik jest gotowy do użycia w dostarczonej postaci. Nieotwarty odczynnik pozostaje stabilny, aż do upłynięcia daty ważności (na etykiecie), jeśli jest przechowywany w temp. 4 - 25°C. Odczynnik pozostaje stabilny w komorze klinicznego analizatora chemicznego Medica EasyRA (Medica EasyRA Chemistry Analyzer) przez ilość dni zaprogramowaną w module RFID na pojemniku odczynnika, jeśli odczynnik jest usuwany pod koniec dnia, a w nocy przechowywany w temperaturze 18 - 25°C. Nie używać odczynnika, jeśli jest mętny lub zanieczyszczony, lub jeśli wskazuje błędny wartości podczas porównania ze znanymi wartościami kontrolnymi. Chronić przed światłem.

POBIERANIE I PRZECHOWYWANIE/STABILNOŚĆ PRÓBEK^{2, 6}

Należy używać czystej, niezhemolizowanej surowicy lub osocza. Do pobierania osocza można używać próbek pokrytych heparyną litową. TP w surowicy lub osoczu zachowuje stabilność przez 7 dni w temperaturze 2 - 8°C i przez 2 miesiące w temperaturze -20°C.⁷

PROCEDURA

Dostarczone materiały

Pojemnik odczynnika białka całkowitego Medica (Medica TP Reagent Wedge), NR REF. 10213-4

Wymagane materiały dodatkowe

Medica EasyCal® Chemistry, NR REF. 10651

Medica EasyQC® Chemistry/Electrolytes – Poziom A, NR REF 10793

Medica EasyQC® Chemistry/Electrolytes – Poziom B, NR REF 10794

Pojemnik z barwnikiem do testu precyzji Medica (Medica Precision Test Dye Wedge), NR REF. 10764

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica (Medica Cleaner Wedge – Chemistry & ISE Wedge), NR REF. 10660 *lub*

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica (Medica Cleaner Wedge – Chemistry), NR REF. 10661

Sposób użycia

Odczynnik jest gotowy do użycia w dostarczonej postaci. Zdjąć korek i umieścić odczynnik na tacy odczynników klinicznego analizatora chemicznego EasyRA znajdującej się na obszarze odczynników. Otwarty odczynnik pozostaje stabilny, jeśli jest przechowywany wewnątrz komory klinicznego analizatora chemicznego EasyRA przez liczbę dni zaprogramowanych w układzie RFID na pojemniku odczynnika (maksymalnie przez 60 dni), jeśli pod koniec dnia zostanie wyciągnięty i przechowywany w temp. 18–25°C (ponownie zamknięty).

Uwaga: Przed umieszczeniem pojemnika w analizatorze sprawdzić, czy po zdjęciu korka wewnątrz szyjki pojemnika nie wytworzyła się piana. Jeśli pojawiła się piana, usunąć ją wacikiem lub jednorazową pipetką przed przeprowadzeniem badania.

Kalibracja

Kalibrację badania zaleca się przeprowadzać z użyciem kalibratora Medica EasyCal Chemistry (NR REF. 10651). Odstęp między kalibracjami (maksymalnie 60 dni) programowany jest w układzie RFID na pojemniku odczynnika. Rekalibracja jest wymagana po każdorazowej zmianie partii odczynnika lub wystąpieniu zmian w wartościach kontroli jakości.

Kontrola jakości

Zaleca się przeprowadzanie kontroli jakości badania surowicy ludzkiej na dwóch poziomach (normalnym i abnormálním) codziennie przy przeprowadzaniu badań pacjentów oraz po każdorazowej zmianie partii odczynników. Problemy z uzyskaniem odpowiedniego zakresu wartości podczas oznaczania materiału kontrolnego mogą wskazywać na degradację odczynnika, usterkę instrumentu lub błędy proceduralne. Podczas korzystania z materiałów kontroli jakości w laboratorium należy stosować lokalne, stanowe i federalne wytyczne kontroli jakości.

Wyniki

Po zakończeniu badania kliniczny analizator chemiczny EasyRA oblicza stężenie białka całkowitego (TP) na podstawie stosunku absorbancji próbki badanej do absorbancji kalibratora pomnożonej przez wartość kalibracyjną.

$$TP \text{ (g/dL)} = \frac{[(A_U - A_{BIK})_{550} - (A_U - A_{BIK})_{700}]}{[(A_C - A_{BIK})_{550} - (A_C - A_{BIK})_{700}]} \times CalValue$$

Gdzie A_U i A_C to kolejno wartości absorbancji próbki badanej i kalibratora; A_{BIK} to absorbancja odczynnika ślepego; natomiast „Cal Value” to stężenie białka całkowitego (TP) w kalibratorze (g/dL).

PRZEWIDYWANE WARTOŚCI⁸

Zakres referencyjny dla TP w surowicy jest następujący:

Zakres normalny: 6,3 – 8,3 g/dL

Wartości te stanowią wytyczne. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własny zakres wartości standardowych, gdyż istnieją różnice pomiędzy instrumentami, laboratoriami oraz mieszkańcami różnych regionów.

Ograniczenia proceduralne (np. w przypadku wykroczenia próbki poza zakres oznaczania)

Kliniczny analizator chemiczny EasyRA sygnalizuje każdy wynik powyżej 10 g/dL, jako wysoką liniowość „LH”. W przypadku wybrania ikony „Re-run” (Uruchom ponownie), próbka może zostać ponownie zbadana przy użyciu połowy (1/2) objętości próbki. Wyniki ponownej analizy zostają obliczone z uwzględnieniem zmniejszonej objętości próbki. Spowoduje to rozszerzenie raportowanego zakresu oznaczania TP do 20 g/dL.

CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCI⁹

Zakres raportowany

Zakres raportowany wynosi od 0,1 do 10 mg/dL. Rozszerzony zakres wynosi od 0,1 do 20 g/dL przy użyciu połowy próbki (roztwór 1:1).

Niedokładność/korelacja (CLSI, EP09-A2)

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania odczynnika TP Medica (y) w klinicznym analizatorze chemicznym EasyRA z porównywalnym odczynnikiem TP (x) w analizatorze Roche COBAS MIRA*. Przedstawione dane to wyniki dla pojedynczych oznaczeń na klinicznym analizatorze chemicznym EasyRA w porównaniu z przeciętnie dwiema powielanymi wartościami uzyskanymi na analizatorze COBAS MIRA.

Ilość próbek	46	Zakres próbek	0,5 - 8,4 g/dL
Nachylenie	1,04	Wychwytywanie y	-0,02
Współczynnik korelacji	0,9925	Równanie regresji	$Y = 1,04 * X - 0,02$

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania odpowiadających sobie próbek surowicy (x) oraz Li-heparynizowanego osocza (y) z użyciem odczynnika białka całkowitego Medica w klinicznym analizatorze chemicznym EasyRA. Poniższe dane odpowiadają pojedynczemu oznaczeniu dla osocza i średniej z dwóch powielanych wartości dla surowicy.

Ilość próbek	62	Zakres próbek	0,5 do 8,6 g/dl
Nachylenie	1,0088	Wychwytywanie y	0,0265
Korelacja	0,9883	Równanie regresji	$Y = 1,0088 * X + 0,0265$

*Cobas Mira jest zarejestrowanym znakiem towarowym Roche Diagnostics, INC., Indianapolis, IN.

Niedokładność (CLSI, EP05-A2)

Niedokładność wewnątrz przebiegu: Pięć pomiarów każdego z trzech poziomów materiałów do kontroli jakości testowano codziennie przez 5 dni.

Poz. kontr. jakości g/dL	SD wewn. przebiegu g/dL	CV wewn. przebiegu %
5,9	0,05	0,8
4,6	0,05	1,1
4,3	0,05	1,2

Niedokładność całkowita: Podwójne pomiary każdego z trzech poziomów materiałów do kontroli jakości były testowane dwa razy dziennie przez 20 dni.

Poz. kontr. jakości g/dL	SD niedokł. całkowita g/dL	CV niedokł. całkowita %
6,0	0,09	1,4
4,7	0,07	1,4
4,1	0,18	4,3

Liniowość (CLSI, EP06)

Liniowe od 0,1 do 10 g/dL, na podstawie regresji liniowej $Y = 1,004 * X + 0,025$.

Interferencja (CLSI, EP07)

Interferencja poniżej 10% została sklasyfikowana jako „brak znaczącej interferencji”.

Brak znaczącej interferencji zanotowano dla hemoglobiny na poziomie poniżej 300 mg/dl. Nie używać próbek hemolizowanych.

Brak znaczącej interferencji zanotowano dla bilirubiny całkowitej na poziomie poniżej 20 mg/dL.

Brak znaczącej interferencji zanotowano dla trójglicerydów (z użyciem Intralipid*) na poziomie poniżej 300 mg/dL. Nie używać próbek lipemicznych. Jeśli konieczne jest przeanalizowanie próbek lipemicznych, należy użyć środka usuwającego tłuszcz w połączeniu z wirowaniem, aby oczyścić próbkę z trójglicerydów.

Brak znaczącej interferencji zanotowano dla kwasu askorbinowego na poziomie poniżej 30 mg/dL.

*Intralipid jest zarejestrowanym znakiem towarowym Pharmacia AB, Clayton, NC

Young przedstawia listę leków i innych substancji będących przyczyną interferencji w klinicznych testach chemicznych.^{10, 11}

LITERATURA

- Christensen, S.E., Proteins. *Clinical Chemistry: Concepts and Application*, Anderson, S.C., Cockayne, S., eds (W.B. Saunders and Co., Philadelphia, PA, (1983), 188.
- Tietz NW. Editor, *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd ed. WB Saunders and Co., Philadelphia, PA, (1995), str. 518.
- Kaplan, A., Szabo, J. *Clinical Chemistry: Interpretation and Techniques*, 2nd ed. Philadelphia, PA: Lea and Febiger;(1983), str. 157.
- White, A., Handler, P., Smith, EL. Principles of Biochemistry, 5th ed. New York, NY: McGraw-Hill Book Co., (1973): str. 111-112.
- Doumas, B.T., et.al., *A Candidate Reference Method of Determination of Total Protein in Serum. I. Development and Validation. II. Test for Transferability*. Clin. Chem., (1981), 27: str. 1642.
- Scherwin, J.E., *Liver function. Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation*, 4th ed. Kaplan, LA. Pesce. A.J. Kazmierczak. S.C. (Mosby Inc. eds St. Louis, USA) (2003), str. 492.
- Gunder WG, Zawta B et el. *The Quality of Diagnostic Samples*. 3rd ed: 2010: p 58-9.
- Burtis, C.A., Ashwood, E.R. editors, *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. WB Saunders and Co., Philadelphia, PA, (1994): str. 696, 697.
- Dane własne Medica.
- Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
- Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.

PARAMETRY OZNACZANIA EASYRA (TP)

Podstawowa długość fali (nm)	550
Drugorzędna długość fali (nm)	700
Typ reakcji	Punkt końcowy (2)
Kierunek reakcji	Rosnący
Odczynnik ślepy	Tak (przy każdej kalibracji)
Próba ślepa	Nie
Czas reakcji	5,2 min.
Odstęp między kalibracjami (maksymalny)	60 dni
Stabilność odczynnika w systemie	60 dni

Surowica/Osocze

Obj. próbki (μl)	3,0
Obj. rozcieńczalnika (μl)	20
Obj. odczynnika R1 (μl)	120
Obj. odczynnika R2 (μl)	30
Miejsca po przecinku (domyślnie)	1
Jednostki (wartości domyślne)	g/dL
Współczynnik rozcieńczenia	1:1 (aby zwiększyć zakres pomiaru)
Liniowość	0,1 - 10 g/dL