

# NGAL – analytické charakteristiky

M. Komínková, K. Szabová,  
Z. Kubíček



Molekula NGAL ([http://en.wikipedia.org/wiki/File:PDB\\_1ngl\\_EBI.jpg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:PDB_1ngl_EBI.jpg))

## ANALYTICKÉ CHARAKTERISTIKY

### 1) ELISA

Mezilehlou preciznost pro tuto analytickou soupravu jsme netestovali vzhledem k režimu použití soupravy.

### 2) CMIA

V tabulce 1 jsou hodnoty mezilehlé preciznosti pro metodu CMIA.

## ÚVOD

NGAL (lipokalin asociovaný s želatinázou neutrofilů, neutrophil gelatinase-associated lipocalin, také známý jako lipokalin-2) je malý protein o velikosti cca 25 kDa. Nachází se nejen v neutrofilech, ale v nízkých koncentracích i v jiných tkáních, včetně ledvin, prostaty a epitelu dýchacího a trávicího traktu. V renálních tubulech je jeho tvorba výrazně zvýšena již v časně fázi ischemického nebo toxického poškození. Považuje se za perspektivní marker akutního poškození ledvin (AKI).

Měli jsme možnost pracovat se třemi soupravami pro stanovení NGAL: CMIA (Abbott Architect), ELISA (BioPorto) a imunoturbidimetrickou (IT) automatizovanou metodu (BioPorto, LabMark). Všechny tyto soupravy stanovují NGAL v moči, ELISA a IT byly validovány také pro stanovení v EDTA plazmě.

Tab. 1 Mezilehlá preciznost

Vzorek	n	Průměrná hodnota (µg/l)	SD (µg/l)	CV (%)
Nízká kontrola	27	20,54	0,71	3,48
Střední kontrola	27	196,4	7,66	3,90
Vysoká kontrola	27	1216	34,33	2,82

### 3) IT

Preciznost metody IT jsme hodnotili pomocí protokolu CLSI EP15. Výsledky (tabulka 2 a 3) byly následující.

Tab. 2 Preciznost na hladině 205 µg/l

Run	Date	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3
1	3.1.2011	199,0	194,0	197,0
2	4.1.2011	194,0	199,0	198,0
3	5.1.2011	200,0	198,0	197,0
4	6.1.2011	197,0	201,0	199,0
5	7.1.2011	202,0	194,0	198,0

Mean	197,80	µg/l	
Number of days	5		
Replicates per day	3		
		CV	
Within-Run Imprecision	2,67	1,4 %	
Total Imprecision	2,38	1,2 %	
Claimed Within-Run Imprecision	2,37	1,20 %	Verification Limit
Claimed Total Imprecision	7,12	3,60 %	3,40 Within claim
			8,93 Within claim

Tab. 3 Preciznost na hladině 491 µg/l

Run	Date	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3
1	3.1.2011	499,0	496,0	502,0
2	4.1.2011	502,0	504,0	500,0
3	5.1.2011	504,0	514,0	505,0
4	6.1.2011	511,0	505,0	502,0
5	7.1.2011	523,0	515,0	509,0

Mean	506,07	µg/l	
Number of days	5		
Replicates per day	3		
		CV	
Within-Run Imprecision	4,77	0,9%	
Total Imprecision	7,45	1,5%	
		Verification Limit	
Claimed Within-Run Imprecision	3,54	0,70%	5,07 Within claim
Claimed Total Imprecision	12,65	2,50%	21,39 Within claim
Levels	2		

#### 4) Srovnání metod

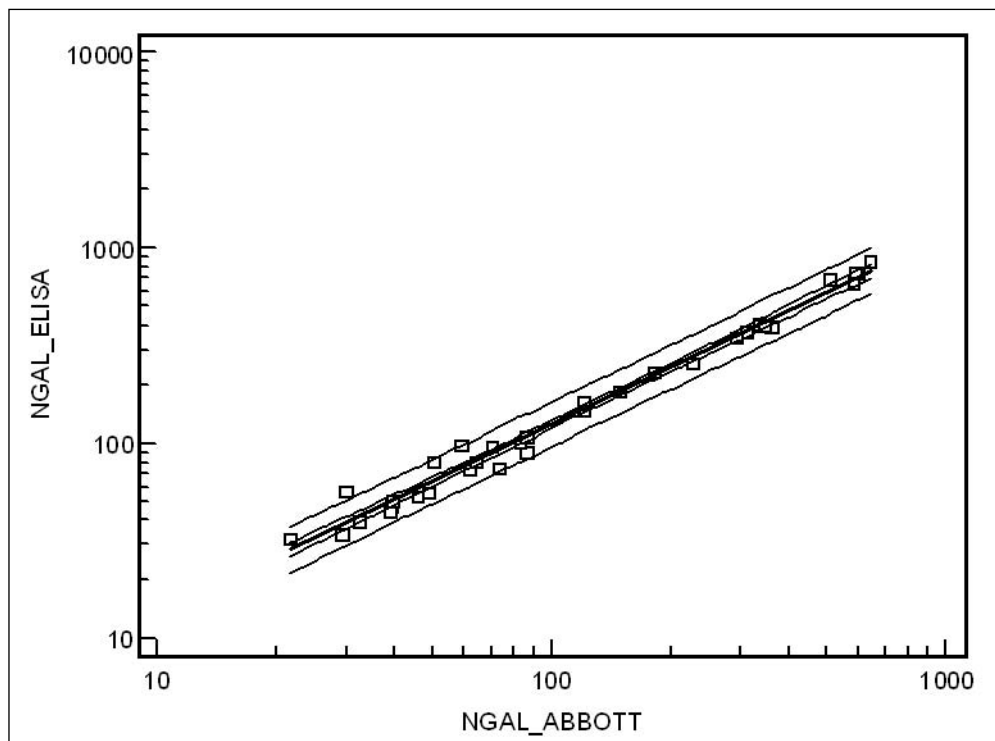
Na vzorcích močí pacientů byly korelační koeficienty (pořadové korelace) mezi metodami následující:

CMIA vs. ELISA:  $r = 0,980$  (viz obrázek 1, logaritmické měřítko na obou osách)

CMIA vs. IT:  $r = 0,985$

IT vs. ELISA:  $r = 0,967$

(ve všech případech se jednalo o 33 hodnot).



Obr. 1 Vztah mezi metodou CMIA (Abbott) a ELISA (BioPorto), na obou osách hodnoty v µg/l.

Metody jsme dále porovnali pomocí Passingovy-Bablokovy regrese. Zjištěné údaje jsou v tabulce 4.

**Tab. 4 Analytické charakteristiky zjištěné při hodnocení Passingovou a Bablokovou regresí (n=33).**

	CMIA vs. ELISA	CMIA vs. IT	ELISA vs. IT
Minimum (µg/l)	21,7 / 31,71	21,7 / 25	31,71 / 25
Maximum (µg/l)	1490,0 / 846,70	1490,0 / 1115	846,70 / 1115
Průměr	235,79 / 253,13	235,79 / 282,33	253,13 / 282,33
Slope	1,203	1,396	1,19
Intercept	0,317	-15,6	-15,8
Linearita	ano	ano	ano

## DISKUZE

Profil preciznosti dvou testů měření NGAL uvádí Cavalier: porovnal POCT soupravu Triage Biosite a automatizovanou imunoanalýzu (CMIA) firmy Abbott. Opakované měření kontrolních vzorků metodou CMIA nepřesáhlo v profilu preciznosti nikdy pásmo o šířce 10 %, zatímco metoda Triage vykazovala i hodnoty nad 20 % (Cavalier, 2011). Naše výsledky obou automatizovaných metod (CMIA, IT) jsou ve shodě s touto prací a nepřekračují pásmo preciznosti o šířce 5 %, viz analytické charakteristiky výše.

Nejvyšší hodnoty NGAL v moči, dosahující koncentrace až 5118,2 µg/l jsme zjistili u pacientů po transplantaci srdce pro metodu CMIA. Tyto koncentrace byly dosaženy 3 hodiny po transplantaci, pak se hodnoty snižovaly. Na několika vzorcích jsme ověřili, že zvýšené hodnoty v moči mají i protějšek zvýšení v plazmě. V souladu s literárními údaji i nadále stanovujeme NGAL v moči a výsledky vydáváme nejen jako koncentraci, ale i poměr ke kreatininu, jak doporučuje Delanaye a kolektiv (Delanaye, 2011).

Určitým problémem při interpretaci může být vysoká intraindividuální variabilita, která je nejnižší pro první ranní vzorek moče a při využití poměru NGAL ke kreatininu dosahuje CVi 81 %. Ve druhém ranním vzorku moče má poměr ke kreatininu CVi 88 % (Delanaye, 2011). Obtíže při interpretaci mohou přinášet i rozdílné cut-off hodnoty; výrobce metody CMIA používá cut-off 132 µg/l, pro metodu ELISA byl cut-off pro diagnostiku AKI stanoven na 350 µg/l a výrobce metody IT snížil cut-off na 250 µg/l (z původních 350 µg/l). Optimalizace cut-off bude

jistě pokračovat i s ohledem na nové diagnostické oblasti použití NGAL. Hodnoty NGAL u 20 zdravých osob naměřené v práci Delanaye mají medián první ranní moče 29,2 µg/l (interkvartilové rozpětí 15,4 – 52,8 µg/l), v druhé ranní moči medián 38,5 µg/l (interkvartilové rozpětí 20,6 – 70,9 µg/l). V námi naměřeném souboru vzorků první ranní moče 20 jedinců s fyziologickými hodnotami ukazatelů funkce ledvin metodou CMIA jsme dosáhli mediánu 7,2 µg/l (interkvartilové rozpětí 2,95 – 11,7 µg/l). Druhou testovanou skupinu tvořili pacienti s chronickým selháním ledvin s mediánem hodnot 67,8 µg/l (interkvartilové rozpětí 27,1 – 165,4 µg/l).

## ZÁVĚRY

Pro vyšetření koncentrace NGAL v moči jsou v současné době k dispozici na našem trhu minimálně 3 diagnostické soupravy, které lze mezi sebou porovnat, a mohou poskytnout klinicky spolehlivé údaje. Verifikace analytických metod poskytuje optimistické podklady pro jejich použití v praxi.

## LITERATURA

1. Cavalier, E., Bekaert, A.C., Carlisi, A. et al.: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) determined in urine with the Abbott Architect or in plasma with the Biosite Triage? The laboratory's point of view. Clin. Chem. Lab. Med, 49, 2011.
2. Delanaye, P., Rozet, E., Krzesinski, J.M., Cavalier, E.: Urinary NGAL measurement: biological variation and ratio to creatinine. Clin. Chim. Acta., 412, 2011, č. 3-4, s. 390.
3. Chesher, D.: Evaluating Assay Precision. Clin. Chem. Rev., 29, Suppl(i), 2008, S23-S26.