

Návrh referenční metody stanovení albuminu v moči

B. Friedecký

Stanovení albuminu v moči je významným nástrojem diagnostiky renálního poškození a kardiovaskulárních chorob u diabetiků. Tradičně používané imunochemické metody byly v několika posledních letech srovnávány s metodou HPLC. Metoda HPLC poskytuje významně vyšší výsledky stanovení. Tento rozpor byl vysvětlován dvěma diametrálně odlišnými způsoby. První v nich předpokládal existenci nějaké formy imunochemicky nereaktivního albuminu v moči a považoval výsledky imunochemických měření za nesprávně nízké. Druhý naopak vysvětloval nesrovnatelnost výsledků nespecifickou koelucí jiných proteinů, než albuminu z kolony v průběhu separačního děje a považoval výsledky HPLC za falešně zvýšené. Kolektiv autorů z Mayo Clinic použil k stanovení tří principiálně odlišných metod- imunochemické, HPLC a LC-MS.

Imunochemická metoda byla provedena na principu imunoturbidimetrie s použitím reagensí Diasorin a přístroje Hitachi 902. HPLC metoda byla prove-

dena na systému Beckman Gold HPLC s pomocí kitu výrobce Accunim, určeného přímo k stanovení albuminu v moči. Metoda LC-MS použila kombinace chromatografického systému Thermo TLX 2 s tandemovým hmotnostním spektrometrem Applied Biosystems s třemi kvadrupoly. Fragmentace molekul albuminu byla prováděna pomocí ESI (electrospray ionizace).

Nejlepší přesnosti bylo dosaženo u měření HPLC (CV% pod 1,0). Přesnost imunochemického stanovení se pohybovala podle koncentrace analytu v rozmezí CV%=1,8-3,6, přesnost měření LC-MS byla nejnižší- CV% =4,0-6,0. Metoda LC-MS vykázala hodnotu meze stanovitelnosti cca 20 mg/l, obě další metody byly podstatně citlivější s mezí stanovitelnosti hluboko pod 10 mg/l. Vzhledem k její vysoké analytické specifičnosti považovali autoři metodu LC-MS za míru pravdivosti obou dalších.

Výsledky ukazují, že metoda HPLC, srovnaná s LC-MS nadhodnocuje výsledky měření. Imunochemická metoda naopak výsledky měření podhodnocovala, avšak po záměně pracovního kalibrátoru kitu Diasorin vysoce purifikovaným lidským sérovým albuminem (HSA) poskytovala prakticky shodné výsledky s metodou LC-MS. Hodnoty bias jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1. Bias imunochemické a HPLC metody stanovení albuminu v moči proti metodě LC-MS

Metoda	Bias %
Imunochemie s kalibrátorem Diasorin	-37,8
Imunochemie s kalibrátorem HSA	2,2
HPLC	34,4

Závěry

- metoda LC-MS byla autory navržena jako referenční
- imunochemická metoda je ve shodě s předpokládanou referenční metodou LC-MS, pokud se použije HSA jako kalibrátor
- metoda HPLC poskytuje výsledky s významným pozitivním bias při srovnání s LC-MS