

Frida Lund

Riktigheten av bromkresolgrønn- metoden for albumin i plasma

Accuracy of the bromcresolgreen- method for plasma albumin

Bacheloroppgave i Bioingeniørfag

Veileder: Kristin Graven, Mari Meslo Lien, Arne Åsberg og Kristin
Gabestad Nørsett

Mai 2020

Frida Lund

Riktigheten av bromkresolgrønn- metoden for albumin i plasma

Accuracy of the bromcresolgreen- method for plasma albumin

Bacheloroppgave i Bioingeniørfag

Veileder: Kristin Graven, Mari Meslo Lien, Arne Åsberg og Kristin
Gabestad Nørsett

Mai 2020

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet

Fakultet for naturvitenskap

Institutt for bioingeniørfag



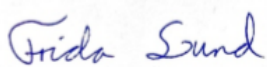
Kunnskap for en bedre verden

FORORD

Oppgaven ble gitt av Avdeling for medisinsk biokjemi (AMB) ved St. Olavs hospital i Trondheim, som en bacheloroppgave for bioingeniørutdanning ved Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet (NTNU). Prosjektet ble gjennomført i perioden mars til mai i 2020.

Takk til bioingeniørutdanningen i Trondheim og avdeling for medisinsk biokjemi ved St. Olavs hospital for god tilrettelegging, slik at bacheloroppgaven kunne gjennomføres i disse spesielle tider. En spesiell takk går til bioingeniørene ved AMB som utførte alle analysene tilhørende oppgaven. En stor takk går også til de faglige veilederne Kristin Graven og Mari Meslo Lien for gode svar på spørsmål rundt den praktiske gjennomføringen, medisinsk veileder Arne Åsberg for god hjelp med de statistiske beregningene og prosessveileder Kristin Gabestad Nørsett for god hjelp og veiledning gjennom skriveprosessen.

Signatur



Frida Lund

Trondheim 19. mai 2020

SAMMENDRAG

På St. Olavs Hospital i Trondheim, benyttes bromkresolgrønn (BCG) metoden til måling av albumin. Denne metoden har i tidligere studier vist en tendens til å overestimere albuminkonsentrasjonen i lave nivåer (<30 g/L) og i henhold til det også kunne føre til feildiagnostikk. Derfor ble en metodesammenligning utført mellom brokresolgrønn metoden og den immundefelometriske (IN) metoden, der IN-metoden ble brukt som referansem metode.

Albumin har to hovedfunksjoner i kroppen, som transportprotein og som opprettholder av det kolloidosmotiske trykket. Måling av albuminkonsentrasjonen i plasma og serum er derfor en mye brukt rutineanalyse. Kjennskap til albuminkonsentrasjonen er viktig for diagnostikk av lever- og nyresykdommer, for bedømming av hydreringsgrad og ødemtilstander, og for vurdering av ernæringsstatus

Metodesammenligningen mellom BCG-metoden og IN metoden viste at det både var en proporsjonal og konstant forskjell mellom metodene. I tillegg hadde BCG-metoden en tendens til å overstimulere albuminkonsentrasjonen i forhold til IN-metoden, ikke bare i det lave området, men over hele måleområdet. I det lave albuminnivået var overestimeringen til BCG-metoden høyere enn i det høye albuminnivået >30 g/L. På grunn av dette øker forskjellen mellom metodene med fallende albuminkonsentrasjon.

Det ble utført en multipl lineær regresjon for å se om faktorer som alder, kjønn, kreatininkonsentrasjon og gjennomsnittsnivå albumin kunne være med å forklare sammenhengen mellom metodene ytterligere. Av disse faktorene var det bare gjennomsnittsnivå albumin som var statistisk signifikant. Siden spredningen rundt regresjonslinjen ikke var konstant ble gjennomsnittsnivå albumin delt i to grupper, en <30 g/L og en >30 g/L. Funksjonen av differansen mellom metodene og gjennomsnittsnivå albumin var statistisk signifikant for albuminnivå >30 g/L.

Det er en usikkerhet rundt kvantiteringen av spredningen mellom metodene, siden spredningen var større ved lavere albuminverdien enn ved høye.

ABSTRACT

At St. Olavs Hospital in Trondheim, the bromocresolgreen (BCG) method is used to measure albumin. In previous studies this method tended to overestimate albumin concentrations at low levels (<30 g/L). According to that, it can also lead to misdiagnosis. Therefore, a method comparison was made between the bromocresolgreen method and the immuno-nephelometric (IN) method with the IN-method as the reference method.

The major functions of albumin in the body is as a transport protein and as a maintainer of the colloidal oncotic pressure. Measurement of the albumin concentration in plasma and serum is therefore widely used in routine analysis. Knowledge of the albumin concentration is important for the diagnosis of liver and kidney diseases, for the assessment of the degree of hydration and edema conditions, and for the assessment of nutritional status.

The method comparison between the BCG- and the IN method, showed that it was both a proportional and a constant difference between the two methods. In addition, the BCG-method tends to overstimulate albumin concentration relative to the IN method. At low albumin ranges <30 g/L, the overstimulation of the BCG method is larger than in the high albumin ranges > 30 g/L. Because of this, the difference between the methods increases with decreasing albumin levels.

Multiple linear regression was applied to see if factors such as age, gender, creatinine concentration and albumin level could further explain the relationship between the methods. Of these factors, only albumin levels were statistically significant. Since the spread around the regression line was not constant, the albumin level was divided into two groups, one of <30 g/L and the second one of > 30 g/L. The function of the difference between the methods and the average albumin level was statistically significant for the group >30 g/L.

There is some uncertainty about the quantitation of the spread between the methods since the spread was greater at the low albumin values than at high albumin values.

INNHALDSFORTEGNELSE

FORORD.....	I
SAMMENDRAG.....	II
ABSTRACT.....	III
FIGURLISTE.....	VI
FORKORTELSER.....	VII
1. INNLEDNING.....	1
1.1 Albumin.....	1
1.1.1 Bromkresolgrønt-metoden.....	2
1.1.2 Den immundefelometriske-metoden.....	3
1.2 Kreatinin.....	3
1.3 Advia Chemistry XPT.....	4
1.3.1 Serumindeksmetoden.....	5
1.4 Atellica NEPH 630.....	5
1.5 Problemstilling/hensikten med studien.....	6
2. MATERIALE OG METODE.....	7
2.1 Prinsipper for måling av albumin og kreatinin på Advia Chemistry XPT.....	7
2.1.1 Prinsipp for måling av albumin.....	7
2.1.2 Prinsipp for måling av kreatinin.....	7
2.2 Prinsipper for måling av albumin på Atellica NEPH 630.....	7
2.3 Materiale.....	8
2.3.1 Prøvemateriale.....	8
2.3.1 Kalibrator, kontroll, reagenser og utstyr.....	8
2.4 Fremgangsmåte for måling av albumin og kreatinin.....	9
2.5 Statistiske beregninger.....	9
3. RESULTATER.....	11
3.1 Spredningsplott (x-y plott).....	11
3.2 Passing & Bablok-regresjon.....	12
3.3 Multipel lineær regresjon.....	13
3.4 Differanse som funksjon av gjennomsnittsnivå albumin.....	15
4. DISKUSJON.....	17
6. REFERANSER.....	20
6. VEDLEGG.....	23
Vedleggsliste:.....	23

Vedlegg 1: Utdrag fra prosedyren; Advia Chemistry XPT-oppstart, bruk og vedlikehold. AMB	24
Vedlegg 2: Prosedyren; Albumin i serum og plasma. Advia Chemistry XPT. AMB	25
Vedlegg 3: Utdrag fra prosedyren; Serumindeks på Advia Chemistry XPT. AMB	30
Vedlegg 4: Utdrag fra prosedyren; Kreatinin i serum og plasma. Advia Chemistry XPT. AMB.....	31
Vedlegg 5: Utdrag fra prosedyren; Atellica NEPH 630, bruk og vedlikehold. AMB.....	36
Vedlegg 6: Prosedyren; Albumin i serum og spinalvæske, BN ProSpec. AMB.....	38
Vedlegg 7: Utdrag fra gjeldene kalibrator- og kontrollverdier under analyseringen, Advia Chemistry XPT	42
Vedlegg 8: Gjeldene kalibreringskurve og kontrollresultater under analyseringen, Atellica NEPH 630.....	45
Vedlegg 9: Rådata fra studien + beregnet gjennomsnittsnivå og differanse	46
Vedlegg 10: Passing & Bablok regresjon.....	51
Vedlegg 11: Multippel lineær regresjon tabeller	52

FIGURLISTE

Figur 1: Figuren viser instrumentet ADVIA Chemistry x (23).....	4
Figur 2: Figuren viser instrument Atellica NEPH 630 (26)	5
Figur 3: Figuren viser et spredningsplott, med BCG-metoden på y-aksen og den immunologiske metoden på x aksen.....	11
Figur 4: Figuren viser et spredningsplott med regresjonslinje, med BCG-metoden på y-aksen og den immunologiske metoden på x-aksen. Regresjonsligningen og antall prøver(n) er vist i tekstboksen nederst i høyre hjørne.	12
Figur 5: Figuren viser spredningsplott med trendlinje (LOESS smoothing) med differanse på y-aksen og variablene; alder(A), kreatinin(B) og gjennomsnittsnivå albumin(C) på x-aksen.....	14
Figur 6: Figuren viser det sentrale 95%-intervallet for differansen som funksjon av gjennomsnittsnivået < 30 g/L. Differansen mellom BCG- og IN-metoden er vist på y-aksen og gjennomsnittsnivå albumin på x-aksen	15
Figur 7: Figuren viser det sentrale 95%-intervallet for differansen som funksjon av gjennomsnittsnivået >30 g/L. Differansen mellom BCG- og IN-metoden er vist på y-aksen og gjennomsnittsnivå albumin på x-aksen.....	16

FORKORTELSER

ADVIA Advia Chemistry XPT

AMB Avdeling for Medisinsk Biokjemi

AMS Analyzer Management System

BCG Bromkresolgrønn

BCP Bromkresollilla

COP Det kolloidosmotiske trykket

CSF cerebrospinalvæske

DMS Data Management Software

IN Immunefelometri

ISE Ioneselektiv elektrode

KI Konfidensintervall

NEPH Atellica NEPH 630

RSD Det residuale standardavvik

1. INNLEDNING

1.1 Albumin

Albumin er et ikke-glykosylert protein som består av 585 aminosyrer med beregnet molekylvekt 66,438 Da (1). Albumin utgjør omkring 60% av proteinet i plasma og produseres i levercellene. Hos friske unge voksne produseres ca 12-25 gram per døgn. Produksjon kan mer enn fordobles ved økt behov. Albumininnholdet i plasma er ca. 140 gram hos voksne personer, i vevsvæsken er albumininnholdet ca. 180 gram. Halveringstiden for albumin i plasma er 15–19 dager og det meste blir nedbrutt av endotelceller (2).

Proteinet har to hovedfunksjoner: Som transportprotein og som opprettholder av det kolloidosmotiske trykket (COP). Albumin fungerer som transportprotein for blant annet fettsyrer og andre lipider, bilirubin, kalsium, magnesium, kobber, sink, tyroksin, trijodtyronin og legemidler. I tillegg bidrar albumin med 80% av COP i plasma, som er en viktig faktor for vannbalansen mellom plasma og vevsvæske. Ødemer sees som regel ikke før albuminkonsentrasjonen i plasma er under 20 g/L. Dette har sammenheng med at når albuminkonsentrasjonen i plasma synker, faller også konsentrasjonen i vevsvæsken (2).

Albumin er den viktigste proteinkomponenten i de fleste ekstravaskulære kroppsvæsker, inkludert cerebrospinalvæske (CSF), den mellomliggende væsken, urin og fostervæske. Omtrent 60% av det totale kroppsalbuminet er i det ekstravaskulære rommet, selv om konsentrasjonen er høyere i det vaskulære rommet (plasmakonsentrasjon). Albumin er svært løselig i vann på grunn av dens høye mengde ladede aminosyrer. Albumins nettoladning er på omtrent -12 ved nøytral pH. Ved normal konsentrasjon bidrar albumin med omtrent 6 til 10 mmol/L til aniongapet. Lav albuminkonsentrasjon bidrar til et redusert aniongap (1).

Referanseområde som benyttes på St. Olavs hospital er for kvinner og menn mellom 18-39 år er 36-48 g/L, mellom 40-69 år er det 36-45 g/L og >70 år er det 34-45 g/L ((3)(vedlegg 2)).

Måling av albuminkonsentrasjonen i plasma og serum er en mye brukt rutineanalyse. Kjennskap til albuminkonsentrasjonen er viktig for diagnostikk av lever- og nyresykdommer, for bedømming av hydreringsgrad og ødemtilstander, og for vurdering av ernæringsstatus (4,5).

Albumin i blod måles med forskjellige metoder, enten kromogene metoder der fargestoffene bromkresol grønn (BCG) eller bromkresol lilla (BCP) benyttes eller immunologiske metoder

der turbidimetri eller nefelometri benyttes (5). Siden denne studien omhandler bruk av BCG- og den immunnefelometriske metoden, er hovedfokuset videre på disse.

1.1.1 Bromkresolgrønt-metoden

I dag finnes det ingen gullstandard for måling av albumin i plasma (6,7), og hver metode har sine begrensninger. Bromkresolgrønt-metoden er rutinemetoden for St. Olavs hospital, avdelingen for medisinsk biokjemi. Metoden går ut på at albumin bindes til fargestoffet bromkresolgrønn (BCG) og danner et albumin-BCG-kompleks. Albumin-BCG komplekset gir en absorpsjonsøkning som er proporsjonal med albuminkonsentrasjonen. Metoden er hurtig, reproducerbar og automatisert (vedlegg 2).

Det er kjent at BCG-metoden kan måle temmelig feil hos enkelte pasienter. Dette er feil som kan ha diagnostiske konsekvenser (4,5). Et eksempel er overestimering av albumin ved bruk av BCG hos pasienter med hypoalbuminemi (5). Ifølge samme artikkel varierte den proporsjonale feilen til BCG-metodene med konsentrasjonen av albumin, og hadde større innvirkning ved lavere konsentrasjoner.

De fargestoffbindende metodene overestimerer albumin i det lave område (<25–35 g/L). Dette skjer på grunn av at pasienter med lave albuminverdier ofte har forhøyede nivåer av andre proteiner. Disse proteinene kan forstyrre de fargestoffbaserte albuminmetodene ved at de binder seg uspesifikt (8–10). BCG-metoden reagerer også med akutfase-proteiner, for eksempel α -globuliner (11–13). Carfray et al. (14) demonstrerte at sammenlignet med enten BCP eller IN, har BCG en positiv bias på opptil 10 g / L hvor avviket økte med hypoalbuminemi. Blant proteinene som reagerer med BCG-reagenset, ser α 2-makroglobuliner (15) og haptoglobin (16) ut til å være de viktigste årsakene til den positive biasen i humant serumalbumin-målinger av BCG. I tillegg har Ueno et al. (15) advart om bruk av BCG-metoden ved kjent nefrotisk syndrom, på grunn av at BCG har høy reaktivitet med α 2-makroglobuliner, og disse makroglobulinene øker hos pasienter med nefrotisk syndrom. (6)

1.1.2 Den immundefelometriske-metoden

Immundefelometri (IN) er vanligvis betraktet som referansemetoden for måling av albumin (7–9,17,18). I 2019 oppførte Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine (JCTLM) den immunologiske metoden (enten turbidimetrisk eller nefelometrisk) som den foretrukne referansemetoden for albumin (5). Det er vanlig å vurdere de immunologiske metodene som overlegne i forhold til de fargestoffbaserte albuminmetodene, spesielt for pasienter med lave albuminverdier (8–10). Derfor anbefales det å bruke immunologiske metoder ved lave albuminkonsentrasjoner, eksempelvis for pasienter med membranøs nefropati (5). Den største fordelen med immundefelometri er fraværet av kryssreaktivitet, altså at IN ikke reagerer med andre lignende molekylære strukturer (19). IN ser heller ikke ut til å bli påvirket av albuminkarbylering, bortsett fra ved høye, ikke-fysiologiske konsentrasjoner av cyanat (7). IN er vanligvis ikke førstelinjemetoden i medisinske testlaboratorier fordi den er teknisk krevende, tidkrevende, dårlig automatisert og kostbar (6).

1.2 Kreatinin

Kreatinin er det sykliske anhydridet av kreatin og har en molekylærvekt på 113 Da (20). Kreatin produseres i lever, pancreas og nyrer, deretter blir kreatinin fosforylert i skjelettmuskulaturen hvor det er den viktigste energireserven. Ved muskelkontraksjon omdannes fosfokreatin til fritt kreatin og en mindre mengde spaltes så til kreatinin, fosfat og vann ved en irreversibel ikke-enzymatisk reaksjon (21). Kreatinin skilles ut i urinen; målinger av plasmakreatinin og kreatinin clearance brukes som diagnostiske indikatorer for nyrefunksjon. Mengden kreatinin produsert hver dag er relativt konstant og nært korrelert til individets muskelmasse. Kreatinin er til stede i alle kroppsvæsker og sekreter og filtreres fritt av glomerulus. Selv om kreatinin ikke reabsorberes i stor grad av nyretubuliene, oppstår en liten, men betydelig tubulær sekresjon. Serumkreatininkonsentrasjoner opprettholdes innenfor smale grenser hovedsakelig gjennom glomerulær filtrering. Følgelig er både serumkreatininkonsentrasjon og kreatinin clearance blitt brukt som markører for den glomerulære filtreringshastigheten (GFR). Serumkreatinin måles ofte ved bruk av kjemiske eller enzymatiske metoder og de fleste laboratoriene bruker tilpasninger av den samme analysen for måling av kreatinin både i serum og urin (20).

Referanseområde for kvinner ≥ 15 år er 45-90 $\mu\text{mol/L}$ og referanseområde for menn ≥ 15 år er 60-105 $\mu\text{mol/L}$ ((22)(vedlegg 4)).

1.3 Advia Chemistry XPT

Advia Chemistry XPT er et helautomatisk klinisk kjemi-instrument med et bredt analyserepertoar fra Siemens. Instrumentet betjenes via en datamaskin ved hjelp av enten touchscreen, bruk av mus eller tastatur, som vist i figur 1 (vedlegg 1).



Figur 1: Figuren viser instrumentet ADVIA Chemistry x (23)

Instrumentet kan utføre 115 forskjellige analyser, men bare ha reagenser til 59 analyser stående på instrumentet samtidig, hvorav 3 av dem; Na, K og Cl benytter ione-selektive elektroder (ISE) til målingene. Prøvematerialet kan være både plasma, serum, urin, fullblod og spinalvæske. Instrumentet kan analysere 2400 prøver per time der 1800 analyseres fotometrisk mens de resterende 600 analyseres ved hjelp av ISE. Analyseteknologien instrumentet bruker er fotometrisk, turbidimetrisk og potensiometrisk (23). I tillegg sjekker instrumentet for interferensene; hemolyse, lipemi og ikterus kvalitativt ved hjelp av serumindeksmetoden (Vedlegg 3).

Albuminresultatene fra ADVIA blir korrigert med faktor ($\text{Albkorr} = 0,95 * \text{albumin}$) slik at Nordic Reference Interval Project (NORIP)⁽²⁴⁾ sine referansegrenser kan benyttes. Metoden er nivåjustert ved hjelp av referanseserum X.

Instrumentet er tilkoblet automasjonslinja ved AMB og har toveiskommunikasjon med labdatasystemet etter query-mode pinsippet⁽²⁵⁾.

Datakommunikasjonen fungerer slik: Bestillinger fra RoS (Rekvirering og svar) blir mottatt i Beaker (labdatasystemet til St.Olavs hospital), deretter blir bestillingen lastet ned til Analyzer Management System (AMS) som er en mellomvare fra Abbott. AMS sender bestillingen videre til Data Management Software (DMS) og instrumentet henter bestillingen fra DMS.

Resultatene blir sendt fra instrumentet til DMS og videre til AMS der de blir autovalidert eller validert av operatør, og til slutt overført til Beaker (vedlegg 1).

1.3.1 Serumindeksmetoden

Advia Chemistry XPT kan beregne en serumindeks, dette er en indikasjon på prøvens egenfarge. Analyse av serumindeks er en kvalitativ analyse som kan brukes til å bestemme graden av interferens forårsaket av bilirubin, hemoglobin og turbiditet. Prosedyren sikrer lik behandling av prøver med unormal egenfarge som for prøver med normal egenfarge.

Serumindeks-analysen utføres automatisk på serum/plasma prøver som analyseres på Advia Chemistry XPT. I AMS er grenseverdiene definert for de analysene hvor interferens er vurdert som aktuelt, basert på opplysninger i pakningsvedlegg. Siemens` s definisjon på interferens er: Avvik +/- 10 % fra opprinnelig verdi (vedlegg 3).

1.4 Atellica NEPH 630

Atellica NEPH 630 (NEPH) vist i figur 2, er et helautomatisk instrument fra Siemens som brukes til kvantitering av plasmaproteiner (vedlegg 5). Prøvematerialet er urin, CSF, plasma og serum. Med innovative analyser inkludert frie lette kjeder, karbohydratdefektiv transferrin (CDT) og betasporeprotein (BTP), støtter systemet vurdering og overvåking av hjerte- og karrisiko, nyresykdommer, nevrologiske lidelser, ernæringsstatus og andre sykdommer (26).

Instrumentet har en nefelometriske meny med plasma-proteinanalyser som inneholder mer enn 60 analyseprotokoller. NEPH kan effektivt analysere omtrent 65 tester per time, avhengig av analysesammensetning. Nominelt kan NEPH analysere 100 tester per time.

Analysemetodene instrumentet benytter er fixed-time kinetikk, endepunktsmålinger og VLin integral (26).



Figur 2: Figuren viser instrument Atellica NEPH 630 (26)

Prøvekarusellen til instrumentet har plass til 3 segmenter, der hvert segment har plass til 15 prøveglass, i tillegg er det et eget segment for standarder og et eget segment for prøvekoppper som brukes ved liten mengde prøvemateriale (vedlegg 5).

NEPH er et frittstående instrument og benytter derfor Instrument Manager (IM) for online-oppkobling til Beaker. Prøvens ID-nummer registreres via en barkodeleser i instrumentet. På denne måten får NEPH beskjed om hva den skal analysere. PC-skjermen har touch skjerm (vedlegg 5).

1.5 Problemstilling/hensikten med studien

I dag vet man at rutinemetoden for albuminmåling, basert på bromkresolgrønt-reagenset kan måle temmelig feil hos enkelte pasienter, men man vet ikke hvor mye feil BCG-metoden måler for de ulike pasientgruppene. Dette er interessant og kan hende nyttig å finne ut av med tanke på diagnostikk. Derfor var hensikten med studien å utføre en metode-sammenlikning mellom BCG-metoden og den immunefelometriske metoden (referansemetoden) for måling av albumin i plasma, og se om faktorer som alder, kjønn, kreatininkonsentrasjon og gjennomsnittsnivå albumin kunne forklare sammenhengen mellom metodene. I tidligere studier blant friske personer, er det funnet at plasma albuminverdier minker som en funksjon av alder for begge kjønn. Dermed er det ut fra den studien konkludert med at hos friske personer vil albuminkonsentrasjonen minke med økende alder (27).

Problemstilling: Kan faktorer som alder, kjønn, kreatininkonsentrasjon og gjennomsnittsnivå albumin forklare sammenhengen mellom analysesvar for albumin fra BCG- og IN-metoden?

2. MATERIALE OG METODE

2.1 Prinsipper for måling av albumin og kreatinin på Advia Chemistry XPT

2.1.1 Prinsipp for måling av albumin

Bromkresolgrønt-metoden er en to-punkts kolorimetrisk endepunktsmetode der albumin bindes til fargestoffet bromkresolgrønn (BCG) og danner et albumin-BCG-kompleks ved pH 4,2. Albumin-BCG komplekset som dannes gir en absorpsjonsøkning ved 596 nm som er proporsjonal med albuminkonsentrasjonen. Reaksjonen skjer ved 37 grader celsius. Absorbansen måles, og konsentrasjonen finnes ved hjelp av en to-punkts standardkurve. Se vedlegg 2 for flere detaljer rundt måleområde, analyseområde, tillatt totalfeil osv.

2.1.2 Prinsipp for måling av kreatinin

Kreatinin måles ved en enzymatisk to-punkts endepunkt metode. Kreatinin fra prøven blir hydrolysert til kreatin ved hjelp av kreatininase, deretter hydrolyseres kreatin til sarkosin ved hjelp av kreatinase. I nærvær av oksygen og sarkosinoksidase omdannes sarkosin til glycin, formaldehyd og hydrogenperoksid. Mengde hydrogenperoksid dannet måles ved at peroksidase katalyserer en reaksjon mellom hydrogenperoksid, N-(3-sulfopropyl)-3-metoksy-5-metylanilin (HMMPS) og 4-aminoantipyrin, slik at et blått pigment dannes. Fargeintensiteten av pigmentet måles ved 596 nm og er proporsjonal med kreatininkonsentrasjonen i prøven. Se vedlegg 4 for flere detaljer rundt måleområde, analyseområde, tillatt totalfeil osv.

2.2 Prinsipper for måling av albumin på Atellica NEPH 630

Albumin, danner et uløselig immunkompleks med antistoff mot albumin. Når lys sendes gjennom reaksjonsblandingen, vil antigen-antistoff-kompleksene spre lyset. Lyskilden er en laserdiode (840 nm). Ved neflometrisk proteinbestemmelse er det hovedsakelig «Mie scattering⁽²⁸⁾» som inntreffer. «Mie scattering» skjer når partikkeldiameteren er større enn bølgelengden på det innsendte lyset. Spredt lys i vinkel mellom 13 og 24 grader fra innsendt lysstråle måles ved hjelp av fotodioden. Ved konstant mengde antistoff, beskriver Heidelberg-Kendalls kurve⁽²⁹⁾ forholdet mellom målt lysspredning (målesignal) og mengde protein (antigen). Målt lysspredning er da, under forutsetning at det er overskudd av antistoff, proporsjonal med antigenivået, altså mengde albumin.

Standardkurven framkommer ved en 5.punktskalibrering der en kalibrator med kjent konsentrasjon benyttes. Den nefelometriske målingen gjøres ved bruk av endepunktsanalyse, som er basert på avlesninger etter 7,5 sekunder og etter 6 minutter etter tilsetning av antistoff, det vil si før reaksjonen har startet og når antigen/antistoff reaksjonen har stabilisert seg. Målt lysspredning ved 1. avlesning blir fratrukket målt lysspredning ved 2. avlesning. Dette gjør at en får fratrukket lysabsorberende partikler i prøven som ikke skyldes antigen-antistoff-kompleksene (vedlegg 5 og 6).

2.3 Materiale

2.3.1 Prøvemateriale

Prøvematerialet som ble benyttet var plasma. Det ble valgt ut 204 plasmaprøver til studien. Prøvene ble plukket ut fra plasmaprøver som var analysert på Advia Chemistry, der både albumin og kreatinin var rapportert fra samme prøverør. Disse prøvene ble deretter analysert på NEPH. Prøvene hadde ikke vært fryst og hadde albuminkonsentrasjoner fra 17,2 til 51,4 g/L på ADVIA.

I denne studien er det ikke innhentet spesifikke samtykker, derfor ble det benyttet en anonymisert alikvot og personopplysningene ble utelatt av hensyn til pasientvernet (Informasjon gitt fra faglig veileder Kristin Graven).

2.3.1 Kalibrator, kontroll, reagenser og utstyr

For å måle konsentrasjon av albumin med bromkresolgrønt-metoden og kreatinin ble Advia Chemistry fra Siemens brukt. Kontrollene som ble benyttet på Advia Chemistry XPT var Autonorm Clin Chem Liq L-2 med lotnummer 1711918 (SERO) og Autonorm Clin Chem Liq L-3 med lotnummer 1711919 (SERO). Kalibratoren som ble benyttet var Siemens ADVIA Chemistry Calibrator med lotnummer 298846C. Som reagens ble Reagens-kit (Siemens) benyttet.

For å måle konsentrasjon av albumin med den immunologiske metoden ble Atellica NEPH 630 fra Siemens brukt. Kontrollene som ble benyttet på Atellica NEPH 630 var Autonorm Clin Chem Liq L-1 med lotnummer 1711917 (SERO) og Autonorm Clin Chem Liq L-3 med lotnummer 1711919 (SERO). Kalibratoren som ble benyttet var N Protein Standard SL, REF: OQIM lotnummer 083629. Reagenser benyttet for immunkjemisk bestemmelse med Atellica NEPH 630 og BN II- og BN ProSpec-systemet var: N-Reaction Buffer (Siemens): som

fungerte som reaksjonsmedium og N-Diulent (Siemens) som fungerte som fortynningsløsning.

For ytterligere informasjon angående reagens, prøvemateriale, kalibrator og kontroll, se henholdsvis vedlegg 2, 4 og 6. For gjeldene kalibrator og kontroll-verdier under analyseringen se vedlegg 7 for resultatene fra ADVIA og vedlegg 8 for resultatene fra NEPH.

2.4 Fremgangsmåte for måling av albumin og kreatinin

Alle analysene ble utført av bioingeniører på avdelingen for medisinsk biokjemi. De 204 prøvene ble analysert på både ADVIA og NEPH. På ADVIA ble det analysert for albumin og kreatinin, mens på NEPH ble det bare analysert for albumin. Prøvene var godt fordelt i hele måleområdet for albumin og nivåfordelingen ble estimert ved bruk av skjønn. På ADVIA ble prøvene analysert i 24-timers drift på to instrumenter.

Etter analyse på ADVIA der primærrøret ble benyttet, ble prøvene oppbevart i automasjonsbåndets kjøleskap. Før analysering på NEPH ble 500µL alikvoter pipettert ut. Alikvotene ble oppbevart på kjølerom i påvente av analyseringen på NEPH.

Rådataene for analyseringen er vist i vedlegg 9.

2.5 Statistiske beregninger

Alle statistisk analysene ble utført ved bruk av MedCalc for Windows, versjon 19.2.1 (MedCalc Software, Ostend, Belgium)

Metodesammenligningen ble utført ved bruk av spredningsplott (x-y plott) og Passing-Bablok regresjon. I tillegg ble det utført multippel lineær regresjon, for å se om faktorer som kjønn, alder, kreatininkonsentrasjon og gjennomsnittsnivå albumin kunne forklare sammenhengen mellom metodene. «Effekten» av alder, kjønn, kreatininkonsentrasjon og gjennomsnittsnivå albumin på metodeforskjellen ble modellert som:

Forskjell= $k_0 + k_1 * \text{kjønn} + k_2 * \text{alder} + k_3 * \text{kreatininkonsentrasjon} + k_4 * \text{gjennomsnittsnivå albumin}$

Der $k_0..k_4$ er konstanter som skal estimeres, y-variabel=forskjellen

x-variabler= kjønn, alder, kreatinin og gjennomsnittsnivå-albumin

Gjennomsnittsnivå albumin ble beregnet etter denne formelen:

$$\frac{(\text{BCG-albumin} + \text{immunologisk målt albumin})}{2}$$

Forskjellen ble beregnet som BCG-metoden – IN-metoden, og kalles differanse videre.

I tillegg ble Excel benyttet til beregning av gjennomsnittsnivå og differanse, og til oppbevaring av rådata.

3. RESULTATER

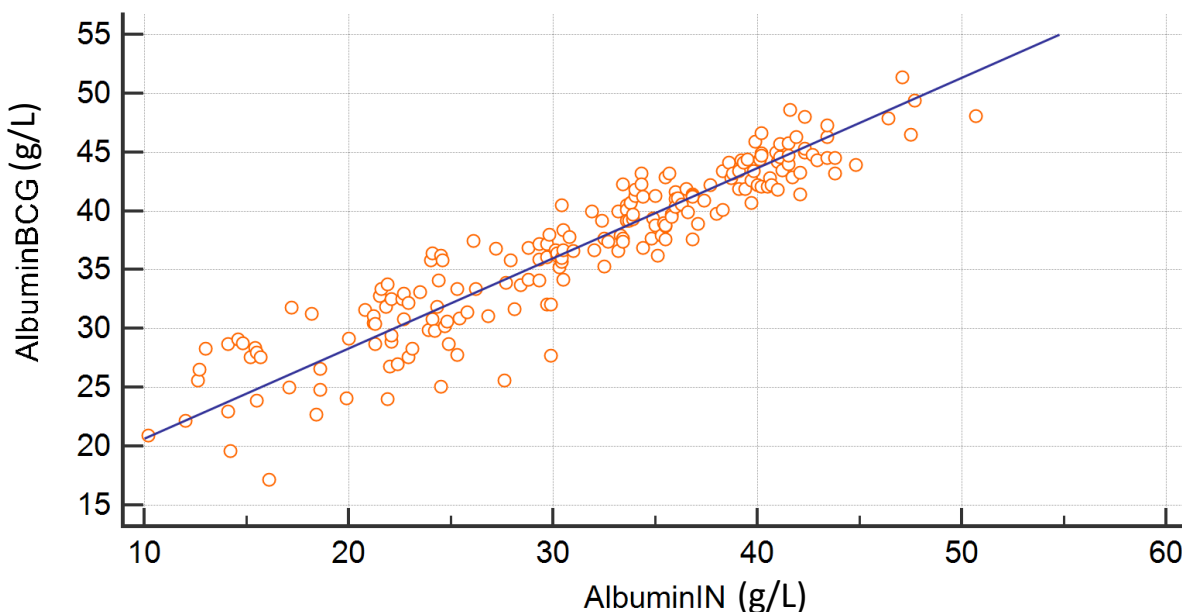
AMB ved St. Olavs hospital benytter BCG-metoden for å kvantifisere/analysere albumin. Hensikten med denne studien var å undersøke hvor mye feil denne metoden måler i forhold til «referansemetoden» IN. Derfor ble det utført en metodesammenligning mellom BCG-metoden og IN-metoden og en multippel lineær regresjon for å se om faktorer som alder, kjønn, kreatininkonsentrasjon og gjennomsnittsnivå albumin kunne forklare sammenhengen mellom disse metodene.

Fra før er det kjent at BCG-metoden har en tendens til å overestimere albuminverdier i lave nivåer (5,6,8–10). Ut fra resultatene i denne studien ser BCG-metoden ut til å overestimere albuminverdier i alle nivåer i forhold til IN-metoden. Av 204 prøver måler IN-metoden kun høyere verdier enn BCG-metoden 7 ganger.

Kalibratorene og kontrollene for hver analyse ble godkjent (vedlegg 7 og 8). Det ble funnet at det er en sammenheng mellom metodene der metodeforskjellen øker med fallende albuminkonsentrasjon. Spredningen i fordelingen av forskjellene i enkeltprøver øker også med fallende albuminkonsentrasjon. Av de fire faktorene som ble testet, var det kun gjennomsnittsnivå albumin som kunne hjelpe til å forklare sammenhengen mellom metodene.

3.1 Spredningsplott (x-y plott)

For å få en oversikt over sammenhengen mellom metodene ble det laget et spredningsplott som vist i figur 3.

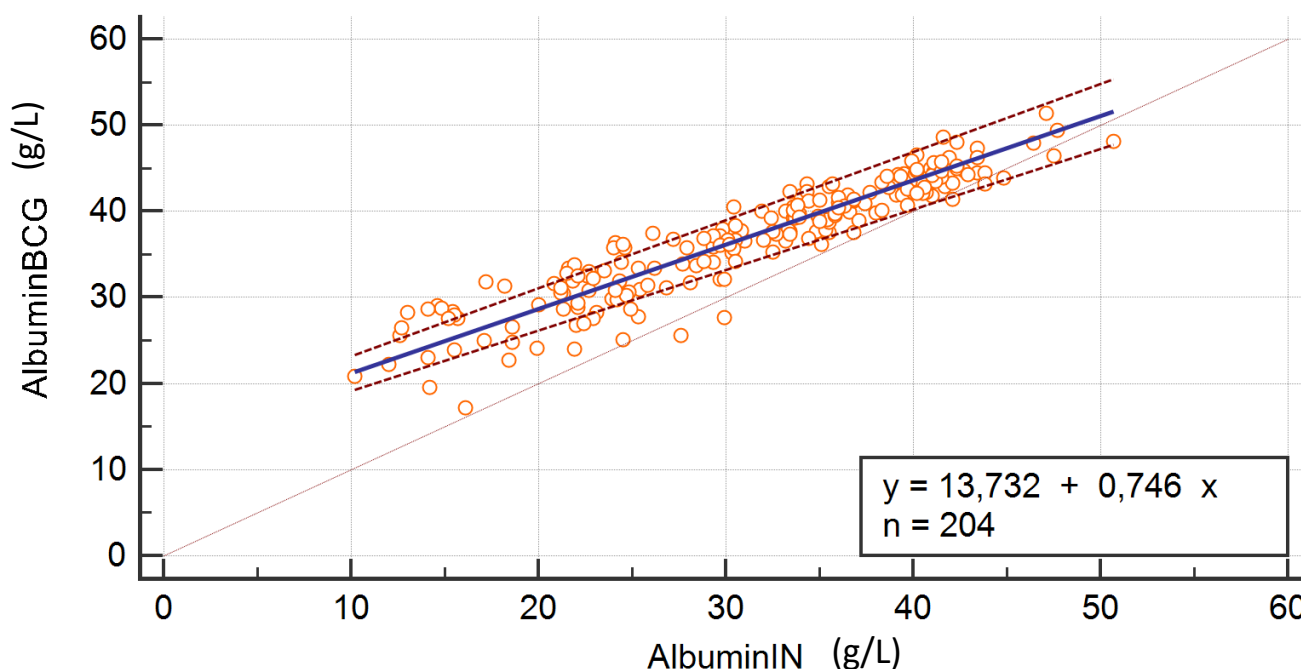


Figur 3: Figuren viser et spredningsplott, med BCG-metoden på y-aksen og den immunologiske metoden på x-aksen. trendlinjen er den blå linja.

Plottet viser at det er en tydelig sammenheng mellom metodene, og at metodeforskjellen øker med fallende albuminkonsentrasjon. Det samme gjør spredningen i fordelingen av forskjellene i enkeltprøver.

3.2 Passing & Bablok-regresjon

For å se om sammenhengen mellom metodene kunne modelleres som en rett linje ble det utført Passing & Bablok regresjon. Resultatene er vist i figur 4 og vedlegg 10.



Figur 4: Figuren viser et spredningsplott med regresjonslinje, med BCG-metoden på y-aksen og den immunologiske metoden på x-aksen. Regresjonslinjen er den hele linjen, konfidensintervall (KI) for regresjonslinjen den stiplet linje og identifikasjonslinje ($x=y$) den oransje linjen. Regresjonsligningen og antall prøver(n) er vist i tekstboksen nederst i høyre hjørne.

Skjæringspunktet(A)= 13,7 indikerer at A er signifikant forskjellig fra 0. Dette blir bekreftet ved at 0 ikke ligger i 95% KI for skjæringspunktet [12,1-15,2]. Stigningstallet (B)= 0,70 er signifikant forskjellig fra 1, da 1 ikke ligger i 95% KI til B [0,70-0,79].

Det residuale standardavvik (RSD) er et mål på det tilfeldige avviket mellom metodene. 95% KI av det tilfeldige avviket er forventet å ligge innenfor intervallet -1,95 RSD til + 1,95 RSD, som vanligvis tilsvarer et 95% KI. I dette tilfellet er intervallet -3,93 til +3,93 som er høyere enn det forventede intervallet, men de sentrale 95% av differansen ligger innenfor den tillatte totalfeilen til albumin på $\pm 4,1\%$ (30). Spredningen er større i lavt enn høyt albuminnivå, derfor gir ikke ± 1.96 ganger standardavviket til residualene et fullgodt mål for spredningen.

Cusum test der $P < 0,05$ indikerer at det ikke er noen rettlinjert sammenheng mellom metodene. Her er P -verdien $> 0,05$ som indikerer at det er en rettlinjert sammenheng mellom metodene. Residualplottet viser et tilfeldig mønster rundt den horisontale akse. Dette viser at en lineær regresjonsmodell er passende, og at metodene trolig har en rettlinjert sammenheng.

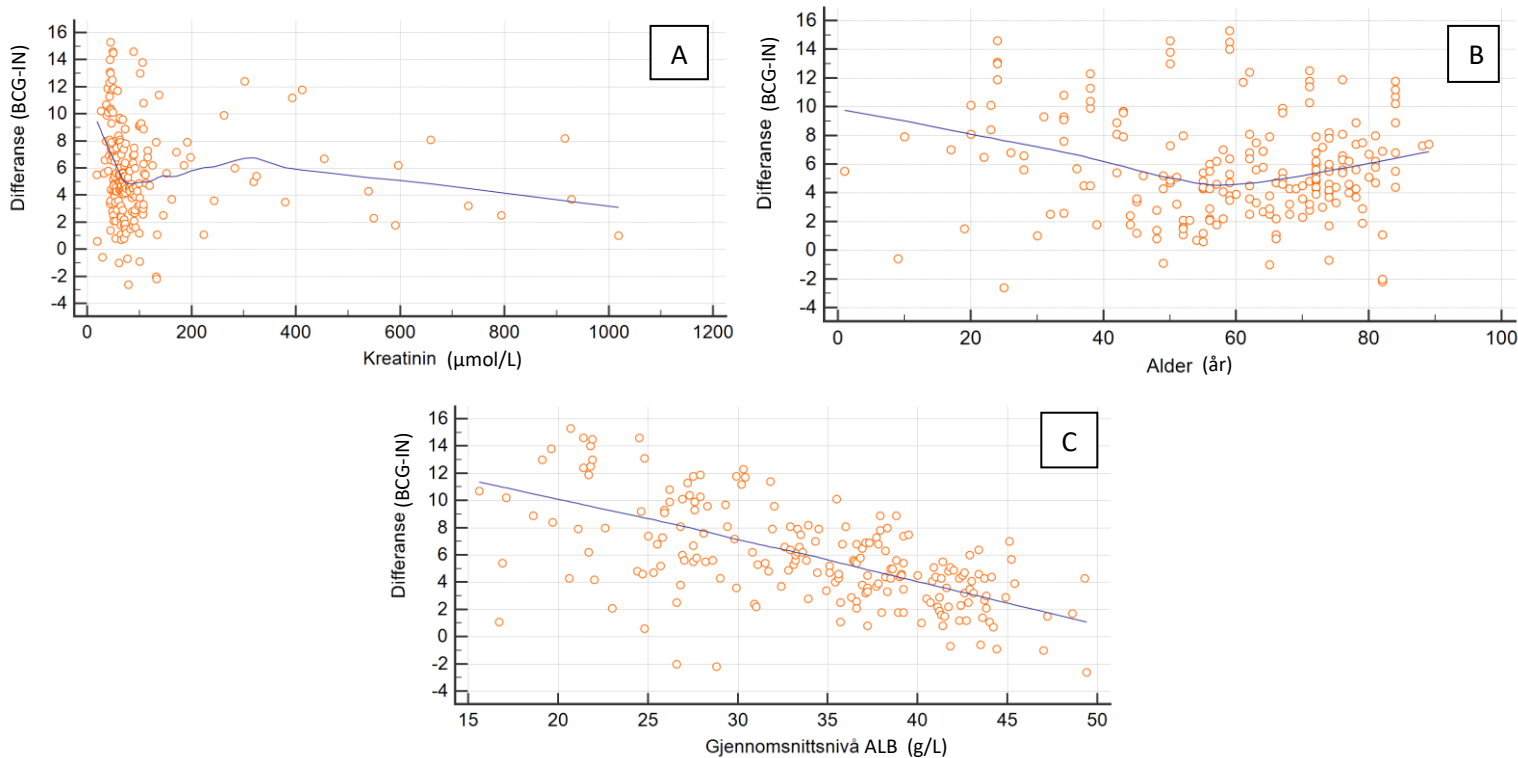
Se vedlegg 10 for RSD, cusum test og residualplott

3.3 Multipel lineær regresjon

Multipel lineær regresjon ble utført for å se om faktorer som kjønn, alder, kreatininkonsentrasjon og gjennomsnittsnivå albumin kunne forklare sammenhengen mellom metodene.

Differansen mellom metodene utgjør den avhengige variabelen. Alder, kreatininkonsentrasjon og gjennomsnittsnivå albumin er uavhengige variabler, mens kjønn er dikotom (todelt) variabel.

Innledningsvis ble det utført korrelasjonsanalyser (spredningsplott) mellom den avhengige variabelen og de enkelte uavhengige variablene, figur 5. Spredningsplottene viste at sammenhengen mellom differansen og gjennomsnittsnivå albumin er temmelig rettlinjert, mens sammenhengen mellom differansen og alder var mer ujevn. Sammenhengen mellom differansen og kreatininkonsentrasjonen var også ujevn. Siden kjønn er en dikotom variabel, kunne ikke sammenhengen mellom differansen og kjønn bedømmes slik. Siden alle variablene er sentrale i problemstillingen, ble de likevel tatt med i den første multiple lineære analysen.



Figur 5: Figuren viser spredningsplott med trendlinje (LOESS smoothing) med differanse på y-aksen og variablene; alder (A), kreatininkonsentrasjon (B) og gjennomsnittsnivå albumin (C) på x-aksen. Trendlinjen LOESS smoothing krummer hvis sammenhengen tilsier det.

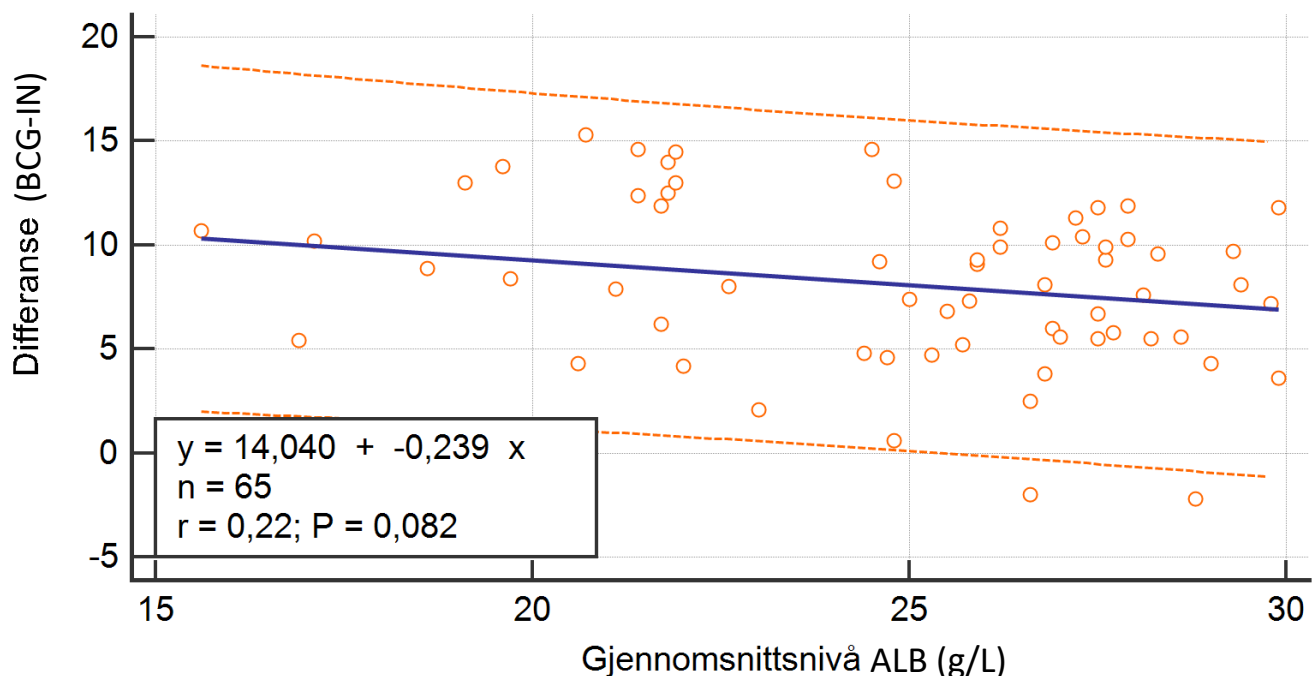
Det ble også utført korrelasjonsanalyser mellom de uavhengige variablene for å unngå multikolaritet. Multikolaritet beskriver en situasjon der to eller flere av forklaringsvariablene har en sterk innbyrdes korrelasjon (31). Spredningsplottene viste ingen multikolaritet mellom de uavhengige variablene. Resultatene er ikke vedlagt.

I den første multiple lineære analysen er alle variablene tatt med. For at en variabel skal være statistisk signifikant må P-verdien være $<0,05$. Det er bare gjennomsnittsnivå albumin som ser ut til å ha en selvstendig signifikant assosiasjon. Derfor tas kreatininkonsentrasjon, kjønn og alder stegvis ut etter størrelse på P-verdien (vedlegg 11).

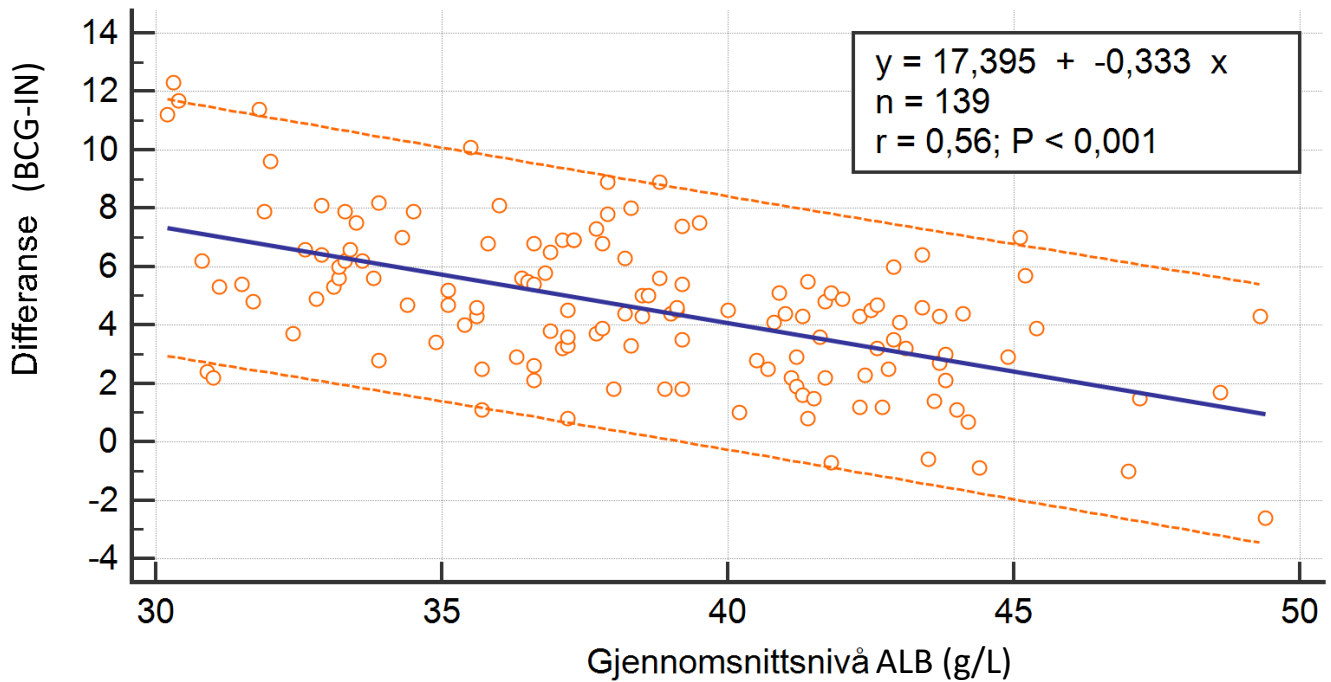
På den siste multiple regresjonen var det kun gjennomsnittsnivå albumin igjen, den ble derfor utført med kun én x-variabel. Gjennomsnittsnivå albumin hadde en P-verdi på $<0,0001$. Siden signifikansnivået for F-testen er lavere enn 0,05, kan hypotesen om at det ikke er noe lineær sammenheng forkastes og det konkluderes med at den multiple korrelasjonskoeffisienten til gjennomsnittsnivå albumin er statistisk signifikant.

3.4 Differanse som funksjon av gjennomsnittsnivå albumin

For å uttrykke differansen som funksjon av gjennomsnittsnivå albumin ble materialet delt i to gjennomsnittsnivåer, et under 30 g/L og et over 30 g/L. Dette ble gjort på grunn av at spredningen varierer med albuminkonsentrasjon. Dette bryter med en forutsetning for lineær regresjon, om at spredningen rundt regresjonslinjen skal være konstant. Spredningen er større ved lave albuminkonsentrasjoner, mens den er mer konstant ved høyere albuminkonsentrasjoner. Figur 6 viser det sentrale 95%-intervallet for differansen som funksjon av gjennomsnittsnivået < 30 g/L. Figur 7 viser det sentrale 95%-intervallet for differansen som funksjon av gjennomsnittsnivået > 30 g/L.



Figur 6: Figuren viser det sentrale 95%-intervallet for differansen som funksjon av gjennomsnittsnivået <30 g/L. Differansen mellom BCG- og IN-metoden er vist på y-aksen og gjennomsnittsnivå albumin på x-aksen. Nederst i venstre hjørne er det en tekstboks som inneholder regresjonsligningen, antall prøver (n), korrelasjonskoeffisienten (r) og P-verdien.



Figur 7: Figuren viser det sentrale 95%-intervallet for differansen som funksjon av gjennomsnittsnivået >30 g/L. Differansen mellom BCG- og IN-metoden er vist på y-aksen og gjennomsnittsnivå albumin på x-aksen. Øverst i høyre hjørne er det en tekstboks som inneholder regresjonsligningen, antall prøver (n), korrelasjonskoeffisienten (r) og P-verdien.

Ut fra figur 6 og 7 ser en at korrelasjonskoeffisienten (r) er betydelig høyere ved albuminverdier >30 g/L (0,56) enn ved albuminverdier <30 g/L (0,22)

Korrelasjonskoeffisienten for albuminverdier >30 g/L har en P-verdi under 0,05 og er derfor statistisk signifikant, det er ikke korrelasjonskoeffisienten for albuminverdier < 30 g/L fordi den har en P-verdi på 0,082.

4. DISKUSJON

Advia Chemistry XPT og Atellica NEPH 630 benytter forskjellige prinsipper for å måle albumin. ADVIA bruker BCG-metoden og NEPH nefelometri. Ut fra tidligere studier er det funnet at BCG-metoden har en tendens til å overestimere albuminverdier i lavt nivå (5,6,8–10), mens IN-metoden måler mer korrekt i de lave nivåene på grunn av immunnepelometriens fravær av kryssreaktivitet (19). Ut fra denne studien ser en at BCG-metoden i hovedsak overestimerer albuminverdiene over hele måleområdet, men overestimeringen er større i lave nivåer (<30 g/L). I tillegg justeres albuminverdiene til BCG-metoden med serum X, for å passe inn i referansegrensene til NORIP, mens IN-verdiene rapporteres direkte.

Ut fra resultatene av spredningsplottet (x-y plottet) ser en at BCG-metoden og IN-metoden har en tydelig sammenheng og at metodeforskjellen øker med fallende albuminkonsentrasjon. Spredningen i fordelingen av forskjellene i enkeltprøver øker også med fallende albuminkonsentrasjon. Siden forskjellen mellom metodene varierer med analyttens konsentrasjon, tyder dette på en proporsjonal forskjell mellom metodene.

Denne påstanden styrkes av Passing & Bablok resultatet. Der stigningstallet(B)= 0,70 ikke innehar 1 i sitt 95% KI [0,70-0,79]. Dette viser at B er signifikant forskjellig fra 1 og at det derfor er en proporsjonal systematisk forskjell mellom metodene. Skjæringspunktet(A)= 13,7 indikerer en konstant systematisk forskjell. 95% KI for skjæringspunktet bekrefter dette ved at 0 ikke ligger i 95% KI for A [12,1-15,2]. Dette viser at A er signifikant forskjellig fra 0. Dermed er det både en konstant- og en proporsjonal systematisk forskjell mellom metodene. Resultatene viser også at den gjennomsnittlige sammenhengen mellom metodene kan modelleres som en rett linje, siden residualplottet viser et tilfeldig mønster rundt den horisontale akselen og P-verdien til Cusum testen er >0,05. Dette indikerer at det er en rettlinjett sammenheng mellom metodene.

Det residuale standardavviket ligger innenfor den tillatte totalfeilen til albumin, men i og med at spredningen er større i lavt enn høyt albuminnivå, gir ikke +/- 1.96 ganger standardavviket til residualene et fullgodt mål for spredningen. Dette på grunn av at spredningen rundt regresjonslinjen skal være konstant ved lineær regresjon.

Ut fra den multiple lineære regresjonen er det kun gjennomsnittsnivå albumin som er statistisk signifikant og dermed kan være med å beskrive den gjennomsnittlige sammenhengen mellom metodene. Selv om det er funnet at albuminkonsentrasjonen minker med økende alder for

begge kjønn (27), er ikke alder funnet egnet til å forklare sammenhengen mellom de to albuminmetodene i denne studien.

Siden spredningen i fordelingen av forskjellene i enkeltprøver øker med fallende albuminkonsentrasjon, ble materialet delt i to nivåer for å opprettholde forutsetningene for lineær regresjon. Den gjennomsnittlige metodeforskjellen øker med fallende albuminkonsentrasjon, derfor er sammenhengen kun statistisk signifikant for albuminverdier >30 g/L.

Disse resultatene stemmer overens med at fargestoffbindende metoder overestimerer albumin i det lave område (<25–35 g / L) (6,8–10). Ut fra dette stemmer det godt at gjennomsnittsnivå albumin spiller en rolle for sammenhengen mellom metodene.

Måleområdene til instrumentene angir det intervallet der målingen kan gjøres og bli nøyaktige nok til at de kan brukes videre (32). Måleområdet til albumin ved bruk av BCG-metoden ligger mellom 10-114 g/L, mens måleområdet til IN-metoden ligger mellom 5-70 g/L. Alle de målte prøvene lå innenfor måleområdet for tilhørende analyse. Dette vitner om lite usikkerhet rundt svarene. De målte verdiene viser i tillegg at det er god spredning av albuminverdiene (vedlegg 9), da de både befinner seg over, under og i referanseområdet for albumin ((3) (vedlegg 2)). Måleområdet til kreatinin som ligger mellom 9-2652 $\mu\text{mol/L}$ (vedlegg 4) ble også overholdt.

BCG-metoden benytter serumindeks (vedlegg 2 og 3) til å se om graden av eventuell interferens vil påvirke den målte albuminkonsentrasjonen. IN-metoden har ingen metode for å se om graden av interferens vil påvirke den målte albuminkonsentrasjonen, den interfererer med tyreoglobulin (TG) >20,0 g/L, bilirubin >0,6 g/L og fritt hemoglobin >10 g/L. I tillegg er blodlegemer og andre partikler i analysematerialet en feilkilde ved bruk av nefelometri (vedlegg 6).

Det konkluderes med at gjennomsnittsnivå albumin kan være med å forklare den gjennomsnittlige sammenhengen mellom BCG- og IN-metoden og at sammenhengen er statistisk signifikant for albuminverdier >30 g/L. Det er en usikkerhet rundt kvantiteringen av spredningen mellom metodene, siden spredningen er større ved lavere albuminverdier enn ved høye. Denne usikkerheten kunne blitt mindre om en for eksempel hadde gått over til kvantilregresjon og modellert eksempelvis 2,5 % og 97,3% persentilene til differansen som funksjon av albumin-gjennomsnittet.

For å se nærmere på hvor mye feil BCG-metoden måler i forhold til de ulike pasientgruppene, kunne denne studien blitt videreført til å ta for seg en og en pasientgruppe om gangen. Siden kjennskap til albuminkonsentrasjon er viktig for diagnostikk av lever- og nyresykdommer, bedømming av hydreringsgrad og ødemtilstander, og vurdering av ernæringsstatus (4,5), er alle disse gruppene aktuelle pasientgrupper å undersøke nærmere. BCG-metoden har vist seg å overestimere mer i de lave nivåene av albumin, derfor er trolig pasienter med hypoalbuminemi pasientgruppen hvor bruk av BCG-metoden i høyest grad kan bidra til feil diagnostikk.

I tillegg finnes det ingen gullstandard for måling av albumin i plasma per i dag (6,7). Dette har gjort det mer utfordrende med tanke på standardisering av albuminmetoden.

6. REFERANSER

1. Burtis CA, Bruns DE. Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics. Seventh edition. Sawyer BG, redaktør. St. Louis, Missouri: Elsevier/Saunders; 2015. Side 301/1075.
2. Nasjonal brukerhåndbok i Medisinsk Biokjemi [Internett]. Albumin, P. 2018. Tilgjengelig på:
<https://brukerhandboken.no/index.php?action=showtopic&topic=e1391e7659a13fc6502a&highlight=true>
3. Analyser medisinsk biokjemi og immunologi, St. Olavs Hospital, Trondheim [Internett]. Albumin, P og S. [sitert 1. april 2020]. Tilgjengelig på:
https://data.stolav.no/labhandboker/Medisinsk_biokjemi/ask/TestFinder.html
4. Bachmann LM, Yu M, Boyd JC, Bruns DE, Miller WG. State of Harmonization of 24 Serum Albumin Measurement Procedures and Implications for Medical Decisions. Clin Chem. 2017;63(3):770–9.
5. van de Logt A-E, Rijpma SR, Vink CH, Prudon-Rosmulder E, Wetzels JF, van Berkel M. The bias between different albumin assays may affect clinical decision-making. Kidney Int. juni 2019;95(6):1514–7.
6. Padelli M, Leven C, Le Reun E, Labouret T, Galakhoff N, Labarre M, mfl. Is capillary zone electrophoresis a suitable method for estimating serum albumin: A comparison of four methods. Clin Chim Acta. 1. desember 2018;487:250–5.
7. Kok MB, Tegelaers FPW, van Dam B, van Rijn JLML, van Pelt J. Carbamylation of albumin is a cause for discrepancies between albumin assays. Clin Chim Acta. 1. juli 2014;434:6–10.
8. Leerink CB, Winckers EK. Multilayer-film bromocresol green method for albumin measurement significantly inaccurate when albumin/globulin ratio is less than 0.8. Clin Chem. 1. mai 1991;37(5):766–7.
9. Webster D, Bignell AHC, Attwood EC. An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta. 31. mai 1974;53(1):101–8.
10. Helmersson-Karlqvist J, Flodin M, Havelka AM, Xu XY, Larsson A. The Roche Immunoturbidimetric Albumin Method on Cobas c 501 Gives Higher Values Than the Abbott and Roche BCP Methods When Analyzing Patient Plasma Samples. J Clin Lab Anal. 2016;30(5):677–81.
11. Doumas BT, Ard Watson W, Biggs HG. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. Clin Chim Acta. 1. januar 1971;31(1):87–96.
12. Albumin concentration determined by the modified bromocresol purple method is superior to that by the bromocresol green method for assessing nutritional status in malnourished patients with inflammation - Tsuyoshi Ueno, Satoshi Hirayama, Masayuki Ito, Emiko Nishioka, Yoshifumi Fukushima, Tomoaki Satoh, Mayumi Idei, Yuki

- Horiuchi, Hiromichi Shoji, Hirotoshi Ohmura, Toshiaki Shimizu, Takashi Miida, 2013 [Internett]. [sitert 8. april 2020]. Tilgjengelig på:
https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/0004563213480137?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%3dpubmed
13. Gustafsson JE. Improved specificity of serum albumin determination and estimation of «acute phase reactants» by use of the bromocresol green reaction. *Clin Chem*. 1. mai 1976;22(5):616–22.
 14. Carfray A, Patel K, Whitaker P, Garrick P, Griffiths GJ, Warwick GL. Albumin as an outcome measure in haemodialysis in patients: the effect of variation in assay method. *Nephrol Dial Transplant*. 1. november 2000;15(11):1819–22.
 15. The bromocresol green assay, but not the modified bromocresol purple assay, overestimates the serum albumin concentration in nephrotic syndrome through reaction with α 2-macroglobulin - Tsuyoshi Ueno, Satoshi Hirayama, Masami Sugihara, Takashi Miida, 2016 [Internett]. [sitert 8. april 2020]. Tilgjengelig på:
https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/0004563215574350?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%3dpubmed
 16. Pinnell AE, Northam BE. New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromocresol purple. *Clin Chem*. 1. januar 1978;24(1):80–6.
 17. Watanabe A, Matsuzaki S, Moriwaki H, Suzuki K, Nishiguchi S. Problems in serum albumin measurement and clinical significance of albumin microheterogeneity in cirrhotics. *Nutrition*. 1. april 2004;20(4):351–7.
 18. Quick CM, Klipp A, Woods GL, Theus JW, Bornhorst JA. Comparison of Bromocresol Purple and Capillary Protein Electrophoresis for Quantification of Serum Albumin in Multiple Myeloma. *Clin Chem*. 1. mars 2009;55(3):594–6.
 19. Ito S, Yamamoto D. Identification of two bromocresol purple binding sites on human serum albumin. *Clin Chim Acta*. 9. oktober 2010;411(19):1536–8.
 20. Burtis CA, Bruns DE. *Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics*. Seventh edition. Sawyer BG, redaktør. St. Louis, Missouri: Elsevier/Saunders; 2015. Side 365/1075.
 21. Nasjonal brukerhåndbok i Medisinsk Biokjemi [Internett]. Kreatinin, P. 2019. Tilgjengelig på:
<https://brukerhandboken.no/index.php?action=showtopic&topic=3a8ea3b21c9df1acf399>
 22. Analyser medisinsk biokjemi og immunologi, St. Olavs Hospital, Trondheim [Internett]. Kreatinin, P og S. [sitert 1. april 2020]. Tilgjengelig på:
https://data.stolav.no/labhandboker/Medisinsk_biokjemi/ask/TestFinder.html
 23. ADVIA Chemistry XPT System [Internett]. [sitert 24. mars 2020]. Tilgjengelig på:
<https://www.siemens-healthineers.com/no/laboratory-diagnostics/clinical-chemistry/systems/advia-chemistry-xpt-system>

24. Rustad P, Felding P, Franzson L, Kairisto V, Lahti A, Mårtensson A, mfl. The Nordic Reference Interval Project 2000: recommended reference intervals for 25 common biochemical properties. *Scand J Clin Lab Invest.* juni 2004;64(4):271–84.
25. Lin S, Huang X. *Advanced Research on Computer Education, Simulation and Modeling: International Conference, CESM 2011, Wuhan, China, June 18-19, 2011. Proceedings.* Springer Science & Business Media; 2011. Side 342/480.
26. Atellica NEPH 630 System [Internett]. [sitert 25. mars 2020]. Tilgjengelig på: <https://www.siemens-healthineers.com/plasma-protein/systems/atellica-neph-630-system>
27. Veering BT, Burm AG, Souverijn JH, Serree JM, Spierdijk J. The effect of age on serum concentrations of albumin and alpha 1-acid glycoprotein. *Br J Clin Pharmacol.* februar 1990;29(2):201–6.
28. GmbH L. Mie Scattering [Internett]. [sitert 5. mai 2020]. Tilgjengelig på: <https://www.lavision.de/en/techniques/mie-rayleigh-raman/>
29. Hall A, Yates C. *Immunology.* OUP Oxford; 2010. Side 15/288.
30. Desirable Biological Variation Database specifications - Westgard [Internett]. [sitert 24. april 2020]. Tilgjengelig på: <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm#albumin>
31. Løvås GG. *Statistikk for universiteter og høyskoler.* Oslo: Universitetsforl.; 2013. Side 302/542.
32. Bolann BJ, Sandberg S. Evaluering av nye laboratorieanalyser. *Tidsskr Den Nor Legeforening* [Internett]. 6. februar 2003 [sitert 3. mai 2020]; Tilgjengelig på: <https://tidsskriftet.no/2003/02/tema-fra-forskning-til-hverdagsmedisin/evaluering-av-nye-laboratorieanalyser>

6. VEDLEGG

Vedleggsliste:

1. Utdrag fra prosedyren; Advia Chemistry XPT-oppstart, bruk og vedlikehold. AMB.....	24
2. Prosedyren; Albumin i serum og plasma. Advia Chemistry XPT. AMB.....	25
3. Utdrag fra prosedyren; Serumindeks på Advia Chemistry XPT. AMB.....	30
4. Utdrag fra prosedyren; Kreatinin i serum og plasma. Advia Chemistry XPT. AMB.....	31
5. Utdrag fra prosedyren; Atellica NEPH 630, bruk og vedlikehold. AMB.....	36
6. Prosedyren; Albumin i serum og spinalvæske, BN ProSpec. AMB.....	38
7. Utdrag fra gjeldene kalibrator- og kontrollverdier under analyseringen, Advia Chemistry XPT.....	42
8. Gjeldene kalibreringskurve og kontrollresultater under analyseringen, Atellica NEPH 630.....	45
9. Rådata fra studien + beregnet gjennomsnittsnivå og differanse.....	46
10. Passing & Bablok regresjon resultater.....	51
11. Multippel lineær regresjon tabeller.....	52

Vedlegg 1: Utdrag fra prosedyren; Advia Chemistry XPT-oppstart, bruk og vedlikehold. AMB

Dokument «Advia Chemistry XPT- Oppstart, bruk og vedlikehold. AMB», ID 33639 - EQS Page 1 of 23

Advia Chemistry XPT- Oppstart, bruk og vedlikehold. AMB

Forfatter: Randi Nersund (Fagansvarlig bioingeniør)
Kristin Graven (Fagansvarlig bioingeniør)
Randi Nersund (Fagansvarlig bioingeniør)

Dokument-administrator: Randi Nersund (Fagansvarlig bioingeniør)

Godkjent av: Kristine Ingeborg Bodal Solem

Gyldig fra: 10.01.2020

Revisjonsfrist: 09.01.2022

Revisjon: 1.26

ID: 33639

Revisjonskommentar: * Daglig vedlikehold: Fjernet tidspunkter for Shutdown Wash
* Nozzle Wash: Beskrevet utfordringer og tiltak
* Beskrevet utvendig rengjøring av nozzler
* Uttak av statistikk: Endret beskrivelse
* Skifte av tonerkasset: Oppgitt ny type og lagerplassering

Yrkesgrupper: Bioingeniør.

Dokumenttype: Prosedyre

Gjelder for enhetene: St. Olavs hospital/Laboratoriemedisinsk klinikk/Avdeling for medisinsk biokjemi, AMB (med underliggende enheter)

Dokumentkategori: Pasientbehandling/Laboratorietjenester/Laboratoriestyr



Hensikt og omfang

Prosedyren skal være en hjelp til daglig oppstart, bruk og vedlikehold av ADVIA Chemistry XPT. Prosedyren skal sikre at instrumentet blir brukt på riktig måte og at vedlikehold blir gjort etter fastsatte prosedyrer.

Prosedyren omfatter:

Grunnlagsinformasjon, med kort beskrivelse av instrumentet og datakommunikasjon

Arbeidsbeskrivelse

Slå av/på instrument

Kalibreringer

Kontroller

Daglig oppstart og vedlikehold

Kalibrering

Kontroller

Analyse av pasientprøver

Periodisk vedlikehold

Vedlikehold ved behov

Reagenser

Systemløsninger

Prøverør og prøvekoppper

Feilmeldinger på Advia Chemistry XPT

Feilsøking og problemløsning

Litteratur

Grunnlagsinformasjon

Instrument:	ADVIA Chemistry XPT
Produsent:	Siemens
Leverandør:	Siemens
Eier:	Siemens
Brukermanual:	Ved instrumentet
Logg-bok:	Ved instrumentet
Servicerapporter	Hylle i kontorareale

Kort beskrivelse av instrumentet

<http://eqs stolav/cgi-bin/document.pl?pid=stolav&DocumentID=33639&UnitID=9>

10.03.2020

ADVIA Chemistry XPT er et helautomatisk klinisk kjemi-instrument med et bredt analyserepertoar. Instrumentet betjenes via en PC ved hjelp av touchscreen, bruk av mus eller tastatur. Instrumentet har toveis kommunikasjon med labdatasystemet etter query-mode prinsippet.

Vedlegg 2: Prosedyren; Albumin i serum og plasma. Advia Chemistry XPT. AMB

Dokument «Albumin i serum og plasma, Advia Chemistry XPT. AMB», ID 2007 - EQS

Page 1 of 6

Albumin i serum og plasma, Advia Chemistry XPT. AMB

Forfatter: Kristin Graven (Fagansvarlig bioingeniør)
Dokumentadministrator: Kristin Graven (Fagansvarlig bioingeniør)
Godkjent av: Kristine Ingeborg Bodal Solem
Gyldig fra: 11.02.2019
Revisjonsfrist: 10.02.2021
Revisjon: 4.3
ID: 2007
Revisjonskommentar: Måleområde: Fra 11.01.19 må resultater <15 g/L valideres manuelt i AMS.
Yrkesgrupper: Bioingeniør, Lege.
Dokumenttype: Prosedyre
Gjelder for enhetene: St. Olavs hospital/Laboratoriemedisinsk klinikk/Avdeling for medisinsk biokjemi, AMB
Dokumentkategori: Pasientbehandling/Laboratorietjenester/Analyser generell biokjemi



Klinisk nytte og betydning

Albumin utgjør omkring 60% av proteinet i plasma. Det produseres i levercellene, ca. 12-25 g pr døgn hos friske unge voksne. Ved økte behov kan produksjonen minst fordobles. Voksne personer har ca. 140 g albumin i plasma, og ca. 180 g i vevsvæske. Halveringstiden for albumin i plasma er 15-19 dager; det meste blir nedbrutt av endotelceller. Proteinet har to hovedfunksjoner: Det er et transportprotein for bl.a. fettsyrer, bilirubin, kalsium, magnesium, kobber, sink, tyroksin, trijodtyronin og legemidler, og det står for 80% av det kolloidosmotiske trykk i plasma som er en viktig faktor for vannbalansen mellom plasma og vevsvæske. Når albuminkonsentrasjonen i plasma synker faller også konsentrasjonen i vevsvæsken. Derfor sees som regel ikke ødemer før albuminkonsentrasjonen i plasma er under 20 g/L.²⁾

Indikasjoner

Utredning og kontroll av tilstander med forstyrret proteinsyntese eller unormale proteintap. Vurdering av væskebalansen. Utredning ved ødem av ukjent årsak. Tilleggsundersøkelse ved analyse av albuminbundne komponenter, for eksempel s-kalsium.²⁾

Tolkning

Høye verdier sees ved akutt dehydrering.

Lave verdier forekommer ved en rekke tilstander:

- Redusert syntese: Levercelleskade, malnutrisjon, malabsorpsjon og akutfase respons.
- Økt nedbrytning: Inflammasjoner.
- Lekkasje til ekstravaskulært rom: Brannskader, sjokk og ascites.
- Økt tap: Glomerulonefritt, preeklampsi, proteintapende tarmsykdommer og brannskade.
- Overhydrering: Overbehandling med intravenøse væsker.

Uttalt reduserte verdier, under 25 g/L, sees i første rekke ved indre eller ytre tap. Moderat reduserte verdier, ned mot 25 g/L, er typisk ved inflammasjon, dårlig ernæringsstilstand og væskeretensjon.

Metastaserende kreftsykdommer gir redusert albumin. Ved konstruktiv perikarditt kan man se uttalt hypoalbuminemi.²⁾

Referanseområdet

	<u>Kvinner</u>	<u>Menn</u>
0 – 14 dager	33 – 45 g/L ⁶⁾	33 – 45 g/L ⁶⁾
15 dager – 1 år:	31 – 50 g/L ⁶⁾	31 – 50 g/L ⁶⁾
1 – 8 år:	40 – 49 g/L ⁶⁾	40 – 49 g/L ⁶⁾
8 – 15 år:	42 – 51 g/L ⁶⁾	42 – 51 g/L ⁶⁾
15 – 18 år:	40 – 53 g/L ⁶⁾	43 – 53 g/L ⁶⁾
18 – 39 år:	36 – 48 g/L ⁵⁾	36 – 48 g/L ⁵⁾

40 – 69 år:	36 – 45 g/L ⁵⁾	36 – 45 g/L ⁵⁾
> 70 år:	34 – 45 g/L ⁵⁾	34 – 45 g/L ⁵⁾

Aksjonsgrenser

Ingen.

Oppstartdato

Albumin er blitt analysert ved Laboratorium for medisinsk biokjemi siden 1981.

Metode :	Analyseinstrument og tidsrom :
Bromkresolpurpur metoden (BCP)	1981 – nov. 1996
Bromkresol- grønn- metoden, (BCG)	Hitachi 917 nov. 1996 – 8.okt 2005 Modular P Jan.2005 – 29.08.2016 Cobas 6000-c 501: 21/3-2013 – 27.06.2016
Bromkresol- grønn- metoden, (BCG)	Advia Chemistry XPT: 30.08.2016 - dd

Analyseprinsipp

BCG, 2-punkt kolorimetrisk endepunkt metode.

Albumin bindes til fargestoffet bromkresolgrønn, BCG, og danner et albumin-BCG-kompleks ved pH 4,2. Albumin-BCG-komplekset som dannes gir en absorbansøkning ved 596 nm som er proporsjonal med albuminkonsentrasjonen.

Analysemateriale

Serum eller Li-heparinplasma¹⁾

Pipetteringsvolum: 30 µL

Dødvolum: 50 µL



Holdbarhet:

Romtemperatur, 20–25 °C	Serum/Plasma avpipettert:	2,5 måneder ⁴⁾
Kjøleskap, 4–8 °C	Serum/Plasma avpipettert:	5 måneder ⁴⁾
Romtemperatur	Usentrifugert:	2-6 døgn ⁴⁾
Fryser, -20 °C	Serum/Plasma:	4 måneder ⁴⁾

Analyseinstrument

Advia Chemistry XPT	
Produsent:	JEOL Ltd., Japan
Leverandør:	Siemens Healthineers

Utstyr

Standard utstyr til Advia Chemistry XPT; Se EQS-dokument :  Advia Chemistry XPT- Oppstart, bruk og vedlikehold. AMB (Gyldig)  Advia Chemistry XPT- Oppstart, bruk og vedlikehold. AMB (Under utforming)

Reagenser

Produsent	Siemens Healthineers, UK
Leverandør	Siemens Healthineers, Norge
Leverandørnr	50116

Produktnavn	ADVIA Chemistry Albumin-reagens
Leverandørens art.nr.:	REF 07622536

St. Olavs Hospital SAP.nr.:	Ikke etablert; PPT-avtale
Oppbevaring:	Romtemperatur, 15-25°C.
Holdbarhet:	Uåpnet. Til angitt utløpsdato
Holdbarhet på instrumentet:	60 dager, 6-13°C
Reagenskit inneholder:	4 x 555 tester R1-reagens: Bromocresol Grønn: 0.2 mmol/L NaN ₃ : 0.02% Ferdig til bruk.
Avfallshåndtering:	Kastes i avfallsbeholder til intern forbrenning (gul dunk). Kan kastes i restavfall. NB! Natriumazid kan reagere med bly og kobber i avløpsrør og danne høyeksplosive metall-azider. Ved tømning i avløp: skyll etter med store mengder vann.

Systemreagenser: Se EQS-dokument [Advia Chemistry XPT- Oppstart, bruk og vedlikehold. AMB \(Gyldig\)](#) [Advia Chemistry XPT- Oppstart, bruk og vedlikehold. AMB \(Under utforming\)](#).

Kalibratører

Siemens Chemistry Calibrator, Siemens

Dokumentasjon/rutiner for kalibrering: Se EQS-dokument [Advia Chemistry XPT; Kalibratører og kalibreringsrutiner.AMB \(Gyldig\)](#).

Standardkurve/ kurvemodell: Lineær, 2-punkt standardkurve

Sporbarhet

BCG Reference Method, NIST SRM 927c . Se EQS-dokument [Sporbarhetsdokument; Assigned Calibrator and Control Values for ADVIA Chemistry Assays Run on ADVIA Chemistry Systems \(Gyldig\)](#)

Korreksjonsfaktor Advia Chemistry:

Periode 11.05.17 – 15.11.18: $\text{Albumin}_{\text{korr}} = 0,972 \times \text{Albumin}^{\text{8)}$.

Periode 15.11.18 – dd : $\text{Albumin}_{\text{korr}} = 0,95 \times \text{Albumin}^{\text{9)}$.

Kontrollmateriale

Dokumentasjon: Se EQS-dokument [Kontrollmaterialer \(prosesskontroller\) tillaging og bruk; Advia Chemistry XPT, Advia Centaur XPT, cobas 8000, Immulite 2000.AMB \(Gyldig\)](#)



Utførelse

Se EQS-dokument [Advia Chemistry XPT- Oppstart, bruk og vedlikehold. AMB \(Gyldig\)](#) [Advia Chemistry XPT- Oppstart, bruk og vedlikehold. AMB \(Under utforming\)](#).

Testkode	ALB
Reagenskode	74011
Metode	EPA (End Point Assay)
Analysetid	10 min
Bølgelengder (primær/ sekundær)	596/694 nm
Prøvevolum	Probe DPP lager en 1:5-fortynning, 30 µL prøve + 120 µL NaCl i fortynningskuvette. Probe SPP pipetterer 2 µL av fortynningen i reaksjonskuvette.
R1 - volum	80 µL

Fortynning ved resultat > 60 g/L (D1)	Probe DPP lager en 1:2-fortynning av forfortynningen, 30 µL forfortynning + 30 µL NaCl, i ny fortynningskuvette. Probe SPP pipetterer 2 µL av fortynningen i reaksjonskuvette.
Kalibreringsintervall	Analysen kalibreres ved nytt reagenslotnummer. Ellers ved behov, etter vurdering av trender på kontroller. Intervall anbefalt av Siemens: 60 dager. Ved flaskeskifte utføres automatisk RBL-kalibrering med vann og analyse av kontroller.

Reaksjonen skjer ved 37°C. Absorbansen måles, og konsentrasjonen finnes vha 2 punkts standardkurve.

Feilmeldinger: Se EQS-dokument  Advia Chemistry XPT- Oppstart, bruk og vedlikehold. AMB (Gyldig)  Advia Chemistry XPT- Oppstart, bruk og vedlikehold. AMB (Under utforming) eller brukermanual ⁷⁾

Måleområde

Avlesningsområde

10 – 57 g/L.

Resultater < 10 g/L utgis som < 10 g/L; Resultater < 15 g/L må valideres manuelt.

Resultat > 57 g/L: Prøven reanalyseres automatisk med 1:2-fortynning (D1).

Lineært til 114 g/L.

Resultat > 114 g/L utgis som > 114 g/L; Resultatet autovalideres

Måleområde

10 – 114 g/L

Behandling av prøver utenfor måleområdet, se under avlesningsområdet.

Akkreditert analyse.

Analytisk kvalitet

Tillatt totalfeil

6,1 % (Biologisk variasjon)

Kontrollregel

1_{3s} , N = 1. 1 kontroll i 2 nivå.

Analytisk cv i nivå 1 (26 g/L) = 1,07 %, nivå 2 (44 g/L) = 0,88 %.

Analytisk presisjon

Repeterbarhet

	Nivå, g/L	CV, %	N	Periode
Advia Chemistry XPT 1	25,6	0,71	40	I valideringsperioden 2015
	43,9	0,66	40	I valideringsperioden 2015
	9,0	0,99	20	Juli-2016
Advia Chemistry XPT 2	25,0	0,44	40	I valideringsperioden 2015


	43,0	0,39	40	I valideringsperioden 2015
	15,1	0,52	20	Juli-2016

Reproduserbarhet

	Nivå, g/L	CV, %	N	Periode
Advia Chemistry XPT 1	34,2	0,9	722	17.01.18 – 31.08.18
	54,0	0,8	723	17.01.18 – 31.08.18
Advia Chemistry XPT 2	34,2	0,9	725	17.01.18 – 31.08.18
	54,3	0,9	714	17.01.18 – 31.08.18

Feilkilder


Interferens ¹⁾:

Graden av hemolyse, lipemi og icterus kan bestemmes vha.  Serumindeks på Advia Chemistry XPT. AMB (Gyldig).


Litteratur


1. Pakningsvedlegg Albumin (ALB), ADVIA Chemistry XPT Systems, 10493936_EN Rev. E, 2016-06
2. Nasjonal brukerhåndbok i medisinsk biokjemi (<http://www.brukerhandboken.no>) (12.09.2018).
3. Egne data; I:\STOLAV - Laboratoriemedisin\Medisinsk biokjemi\Generell biokjemi\Arkiv Generell biokjemi\Analyser\Albumin\Valideringer\2016 BCG, Endepkt-metode på Advia Chemistry XPT
4. Guder WG, da Fonesca-Wollheim F, Heil W, Schmitt Y, Töpfer G, Wisser H, Zawta B. Quality of diagnostic samples. 3rd edition. German society for clinical chemistry and laboratory medicine, 2010.
5. Rustad P, Felding P, Franzson L, Kairisto V, Lahti A, Mårtensson A, Hyltoft Petersen P, Simonsson P, Steensland H, Uldall A. The Nordic Reference Interval Project 2000: recommended reference intervals for 25 common biochemical properties. Scand J Clin Lab Invest 2004;64(4):271-84. PubMed PMID: 15223694.
6. Canadian Laboratory Initiative on Paediatric Reference Intervals. <https://app3.ccb.sickkids.ca/caliper/caliperlogin> (06.11.2018), Higgins V, Chan MK, Nieuwesteeg M, Hoffman BR, Bromberg IL, Gornall D, Randell E, Adeli K. Transference of CALIPER pediatric reference intervals to biochemical assays on the Roche cobas 6000 and the Roche Modular P. Clinical Biochemistry 2016 Jan 1;49(1-2):139-49; doi: 10.1016/j.clinbiochem.2015.08.018.
7. ADVIA Chemistry XPT, Operator's Guide, Rev. B, 2014-10.
8. 170511 Nivåøkning albumin- kalibrator lot 807936A.
I:\STOLAV - Laboratoriemedisin\Medisinsk biokjemi\Generell biokjemi\Arkiv Generell biokjemi\Analyser\Albumin\Faktor og Lotvariasjoner
9. 181113 Albumin i serum og plasma - endring av faktorisering og nytt ref.omr. for barn
I:\STOLAV - Laboratoriemedisin\Medisinsk biokjemi\Generell biokjemi\Arkiv Generell biokjemi\Analyser\Albumin\Faktor og Lotvariasjoner

Relaterte lenker

 Brukerhåndbok; Avdeling for medisinsk biokjemi, St.Olavs Hospital

Følgende andre dokumenter henviser til dette dokumentet

 Albumin i serum og plasma, Cobas c111. AMB

 Albumin i serum og plasma. Cobas 6000. ORK (Avhengig)

Vedlegg 3: Utdrag fra prosedyren; Serumindeks på Advia Chemistry XPT. AMB

Dokument «Serumindeks på Advia Chemistry XPT. AMB», ID 4635 - EQS

Page 1 of 7

Serumindeks på Advia Chemistry XPT. AMB

Forfatter: Randi Nersund (Fagansvarlig bioingeniør)
Dokument-administrator: Randi Nersund (Fagansvarlig bioingeniør)
Godkjent av: Kristine Ingeborg Bodal Solem
Gyldig fra: 28.04.2020
Revisjonsfrist: 28.04.2022
Revisjon: 4.7
ID: 4635
Revisjonskommentar: * Kontrollmateriale: Oppgitt bruk av kontrollmateriale
* Aksjonsformer:
Ved for høy H-indeks: Endret beskrivelse for rapportering når analyse ikke kan utføres pga. hemolyse. Resultat for jernbelastninger skal kommenteres av lege ved hemolyse +/+/+/+.
Ved for høy L-indeks: Ved L-indeks +++ eller ++++: Legg inn rekvisisjonskommentar «Lipemisk prøvemateriale».
Yrkesgrupper: Bioingeniør, Lege.
Dokumenttype: Prosedyre
Gjelder for enhetene: St. Olavs hospital/Laboratoriemedisinsk klinikk/Avdeling for medisinsk biokjemi, AMB
St. Olavs hospital/Laboratoriemedisinsk klinikk/Avdeling for medisinsk biokjemi, AMB/Seksjon generell biokjemi
Dokumentkategori: Pasientbehandling/Laboratorietjenester/Analyser generell biokjemi



Hensikt og omfang

Advia Chemistry XPT kan beregne en serumindeks som er en indikasjon på prøvens egenfarge. Analyse av serumindeks er en kvalitativ analyse som kan brukes til å bestemme graden av interferens forårsaket av bilirubin, hemoglobin og turbiditet. Prosedyren skal sikre lik behandling av prøver med unormal egenfarge.

Serumindeks-analysen utføres automatisk på aktuelle prøver (serum/plasma) som analyseres på Advia Chemistry XPT, Advia Centaur XPT og cobas 8000.

Prosedyren beskriver hvordan serumindeks måles og beregnes, aksjonsformer og tabell med grenseverdier.

Grunnlagsinformasjon

Analyse av serumindeks utføres i serum og plasma.

Grenseverdier er definert i AMS for de analysene hvor interferens er vurdert som aktuelt, basert på opplysninger fra leverandører eller egne forsøk. Siemens` definisjon på interferens: Avvik +/- 10 % fra opprinnelig verdi.

Hemolyse kan komme av prøvetaking/oppbevaring/prøvebehandling eller pga intravaskulær hemolyse. Dersom hemolyse kommer av problematisk prøvetaking vurderer rekvirert hvorvidt ny prøve må taes / rekvireres.

Ansvar

Bioingeniør

Oppstartdato

Analyseinstrument	Periode
Hitachi 917	Januar 1998 – oktober 2005
Modular P 800	Oktober 2005 – 22.09.16
cobas 6000-c 501	21/3-2013 – 24.06.16
Advia Chemistry XPT	23.05.16 – dd.

Analyseprinsipp

Prøven tilsettes saltvann som reagens, og absorbansen avleses deretter ved 6 forskjellige bølgelengder, fordelt på 3 par (hovedbølgelengde/bibølglengde):

Turbiditet (lipemi) ved 658/694 nm

Vedlegg 4: Utdrag fra prosedyren; Kreatinin i serum og plasma. Advia Chemistry XPT. AMB

Dokument «Kreatinin i serum og plasma. Advia Chemistry XPT. AMB», ID 4632 - EQS

Page 2 of 2

Referanseområdet

Jenter og gutter ⁹⁾


Navlestrengsblod	46 - 86	µmol/L
0 - 14 dager	27 - 81	µmol/L
15 - 60 dager	21 - 58	µmol/L
2 - 12 mnd	14 - 34	µmol/L
1 - 2 år	15 - 31	µmol/L
3 - 4 år	23 - 37	µmol/L
5 - 6 år	25 - 42	µmol/L
7 - 8 år	30 - 48	µmol/L
9 - 10 år	28 - 57	µmol/L
11 - 12 år	37 - 63	µmol/L
13 - 14	40 - 72	µmol/L

Kvinner ≥ 15 år 45 - 90 µmol/L ^{4,10)}

Menn ≥ 15 år 60 - 105 µmol/L ^{4,10)}

Aksjonsgrenser

Prøver med kreatinin konsentrasjon > 450 µmol/L ringes rekvirenten etter vurdering av bioingeniør eller lege.

Se også prosedyre  Telefonisk rapportering av ekstremt patologiske analyseresultat. AMB.

Oppstartdato

Kreatinin i serum er blitt analysert ved Avdeling for medisinsk biokjemi siden før 1970 vha. Jaffé reaksjon

Metode	Instrument	Periode
Jaffé reaksjon	SMA II	1977 -1987
	Hitachi 705	aug.1982 – juni 1987
	ASTRA 8	1985 – 1996
	Greiner 450	1987 – nov 1996
	Hitachi 917	nov 1996 – 25.april 2004
Enzymatisk metode:	Hitachi 917, Roche	26.04.04 – 08.10.06
	Modular P 800, Roche	Jan 2005 – 23.05.16
	cobas 6000-c 501, Roche	21.03.13 – 23.05.16
Enzymatisk metode	Advia Chemistry XPT, Siemens	23.05.16 – dd.

Analyseprinsipp

Enzymatisk 2-punkt endepunkt metode. Kreatinin fra prøven blir hydrolysert til kreatin ved hjelp av kreatininase, hvorpå kreatin ved hjelp av kreatinase hydrolyseres til sarkosin. I nærvær av oksygen og sarkosinoksidase omdannes sarkosin til glycin, formaldehyd og hydrogenperoksid. Dannet hydrogenperoksid måles ved at peroksidase katalyserer en reaksjon mellom hydrogenperoksid, N-(3-sulfopropyl)-3-metoksy-5-metylanilin (HMMPS) og 4-aminoantipyrin, slik at et blått pigment dannes. Fargeintensiteten måles ved 596 nm og er proporsjonal med kreatininkonsentrasjonen i prøven.

Analysemateriale

Serum eller Li-heparinplasma ²⁾.

Alternativt materiale: K₂-EDTA-plasma ²⁾.

Pipetteringsvolum: 30 µL

Dødvolum: 50 µL i Siemens analysekopp

Holdbarhet

Romtemperatur 20-25°C	serum og plasma avpip	7 døgn ⁶⁾
-----------------------	-----------------------	----------------------

<http://eqs stolav/cgi-bin/document.pl?pid=stolav&DocumentID=4632&UnitID=9>

10.03.2020

Kjøleskap 4-8°C	serum og plasma avpip	7 døgn ⁶⁾
Romtemp og kjøleskap	serum gelrør	5 døgn ¹¹⁾
Romtemp og kjøleskap	plasma gelrør	3 døgn ⁵⁾
Romtemperatur	usentrifugert	2 døgn ⁷⁾
Fryser, - 20 °C	serum, plasma	3 mnd ⁶⁾

Analyseinstrument

Advia Chemistry XPT	
Produsent:	JEOL Ltd., Japan
Leverandør:	Siemens Healthineers


Utstyr

Se prosedyre  Advia Chemistry XPT- Oppstart, bruk og vedlikehold. AMB

Reagenser

Produsent	Siemens Healthineers, UK
Leverandør	Siemens Healthineers, Norge
Leverandørnr	50116

Produktnavn	Enzymatic Creatinine_2 (ECRE_2)
Leverandørens art.nr.:	REF 4992596
St. Olavs hospital SAP.nr.:	Ikke etablert; PPT-avtale
Oppbevaring:	Kjølerom, 2-8°C.
Holdbarhet:	Uåpnet til oppgitt dato, 2-8°C.
Holdbarhet på instrumentet:	60 dager, 6-13°C.
Reagenskit inneholder: 1400 tester (4 X 350)	R1-reagens: 38 mL i 40 mL beholder. Kreatinase: 75 U/mL Sarcosin oksidase: 20 U/mL N-(3-sulfopropyl)-3-methoxy-5-methylanilin: 0,9 mmol/L Klart til bruk. R2-reagens: 15,4 mL i 20 mL beholder. Kreatininase: 400 U/mL 4-aminoantipyrin: 6,1 mmol/L Peroxidase: 50 U/mL NaN ₃ : 0,095 % Klart til bruk
Avfallshåndtering:	Kan kastes i restavfall.


Systemreagenser: Se  Advia Chemistry XPT- Oppstart, bruk og vedlikehold. AMB.

Kalibratører

Siemens Chemistry-kalibrator.

Metoden er sporbar til IDMS referansemetode. Referansematerialer fra NIST, SRM 914a og SRM 967. Se  Sporbarhetsdokument; Assigned Calibrator and Control Values for ADVIA Chemistry Assays Run on ADVIA Chemistry Systems.

Standardkurve/ kurvemodell: Lineær, 2-punkt standardkurve.

Se også prosedyre  Advia Chemistry XPT; Kalibratører og kalibreringsrutiner.AMB.

Korreksjonsfaktor Advia Chemistry:

Fra 26.11.19: Faktorisert verdi = 1,05 * Advia Chemistry, målt verdi¹³⁾.

Kontrollmateriale


Se prosedyre  Kontrollmaterialer (prosesskontroller) tillaging og bruk; Advia Chemistry XPT, Advia Centaur XPT, cobas 8000, Immulite 2000.AMB.

Utførelse

Se prosedyre  Advia Chemistry XPT- Oppstart, bruk og vedlikehold. AMB.

Testkode:	ECRE_2
Metode	EPA (endepunktsanalyse)
Analysetid	10 min
Bølgelengder (primær/ sekundær)	596/694 nm
Prøvevolum	Probe DPP lager en 1:5-fortynning, 30 µL prøve + 120 µL NaCl i fortynningskuvette. Probe SPP pipetterer 13 µL av fortynningen i reaksjonskuvette
R1 - volum	80 µL
R2 - volum	27 µL
Fortynning ved resultat > 2652 µmol/L (D1)	Probe DPP lager en ny fortynning 1:5 (D1) av den opprinnelige fortynningen: 30 µL fortynnet prøve + 120 µL NaCl. Probe SPP pipetterer 13 µL av den nye fortynningen i reaksjonskuvette.
Fortynning ved resultat > 13260 µmol/L (D2)	Probe DPP lager en 1:5-fortynning fra primærrøret: 30 µL prøve + 120 µL NaCl, og deretter en 1:10-fortynning (D2) i fortynningskuvette (15 µL prøve + 135 µL NaCl). Probe SPP pipetterer 13 µL av den siste fortynningen i reaksjonskuvette.
Kalibreringsintervall	Analysen kalibreres ved nytt reagenslotnummer. Ellers ved behov, etter vurdering av trender på kontroller. Intervall anbefalt av Siemens: 60 dager. Ved flaskeskifte utføres automatisk RBL-kalibrering med vann og analyse av kontroller.

Reaksjonen skjer ved 37°C. Absorbansen måles, og konsentrasjonen finnes vha 2 punkts standardkurve.

Limitmeldinger og andre feilmeldinger: Se prosedyre  Advia Chemistry XPT- Oppstart, bruk og vedlikehold. AMB eller brukermanual ¹⁾.

Måleområde

Avlesningsområde

9,0 – 2652 µmol/L ²⁾.

Resultat < 9,0 µmol/L rapporteres som < 9 µmol/L.

Resultat > 2652 µmol/L: Prøven reanalyseres automatisk med 1:5-fortynning (D1).

Resultat > 13260 µmol/L: Prøven reanalyseres med 1:10-fortynning (D2).

Bestill fortynning av prøven manuelt på instrumentet, og analyser primærrøret på nytt. Lineært opp til 26520 µmol/L.

Måleområde

9 - 2652 µmol/L

Behandling av prøver utenfor måleområde, se under avlesningsområde.

Akkreditert analyse.

Analytisk kvalitet

Tillatt bias

6,6 %, basert på data om normal biologisk variasjon ¹²⁾.

Kontrollregel

1_{3s}, N= 1. 1 kontroll i 2 nivå. Analytisk cv i nivå 1 (81 µmol/L) = 1,8 %, nivå 2 (337 µmol/L) = 1,2 %.

Analytisk presisjon:

Repeterbarhet

	Materiale	Nivå, µmol/L	CV, %	N
Instrument 1	Multiqua 1	47	0,9	40
	Multiqua 3	598	0,5	40
Instrument 2	Multiqua 1	46	0,9	40
	Multiqua 3	600	0,2	40


Analysert i valideringsperioden, 2015

Reproduserbarhet

Materiale	Instrument	Middelverdi, µmol/L	CV, %	Periode	N
Autonorm CC2	1	90	1,4	110319-251119	1091
Autonorm CC2	2	90	1,2	110319-251119	969
Autonorm CC3	1	325	0,8	150519-251119	815
Autonorm CC3	2	326	0,7	150519-251119	739

Data er hentet fra AMS LabOnline

Feilkilder

- o Graden av hemolyse, lipemi og icterus kan bestemmes vha. serumindeksmetoden. Se prosedyre  Serumindeks på Advia Chemistry XPT. AMB.
- o Prøver tatt etter inntak av N-Acetyl Cystein (NAC) eller Metamizole (Sulpyrine) kan gi falskt for lave resultat ²⁾.
- o Monoklonale gammopatier, for eksempel Waldenstrøms makroglobulinemi, kan gi falskt for høye resultater ²⁾.
- o Flere medikamenter kan interferere med metoden. Siemens har testet følgende medikamenter ²⁾.

Medikament	Medisineringsnivå (µg/ml)	Interferens
Acetaminofen	200	NSI *
Cefoxitin	2230	-11%
Cephalexin	200	NSI
Dipyron	200	-13%
Dobesilat	400	-79%
Dobutamin	20	-10%
Dopamin	20	-15%
Etylglysin	6	13%
Fluorocytosin	200	NSI
L-dopa	20	NSI
Metyldopa	7	NSI
Fenylbutazon	200	NSI
Prolin	20	NSI
Salicylat	200	NSI

*NSI (No Significant Interference) = Ingen signifikant interferens. En prosentvis effekt på $\geq 10\%$ anses som en signifikant interferens.

- o Noen analysemetoder gir falskt høye verdier ved hyperketonemi (acetoacetat) og ved bruk av noen cefalosporiner, og falskt lave verdier ved hyperbilirubinemi ³⁾.
- o Medikamentene cimetidin, trimetoprim og probenecid hemmer den tubulære sekresjon av kreatinin og kan øke s-kreatinin uten at GFR er redusert (falskt positivt funn) ³⁾.
- o For informasjon om evt. andre kjente potensielt interfererende stoffer, se referanse ⁸⁾.

Litteratur

1. ADVIA Chemistry XPT, Operator's Guide, Rev. B, 2014-10.
2. Enzymatic Creatinine_2 (ECRE_2) pakningsvedlegg. Siemens ADVIA Chemistry XPT Systems, EN Rev. H, 2016-07.
3. Nasjonal brukerhåndbok i medisinsk biokjemi, www.brugerhandboken.no (11.03.19)
4. Rustad P, Felding P, Franzson L, Kairisto V, Lahti A, Mårtensson A, Hyltoft Petersen P, Simonsson P, Steensland H, Uldall A. The Nordic Reference Interval Project 2000: recommended reference intervals for 25 common biochemical properties. Scand J Clin Lab Invest 2004;64(4):271-84. PubMed PMID: 15223694
Referanseverdier for kvinner og menn mellom 15 og 18 år er funnet ved ekstrapolering av data fra NORIP.
5. Holdbarhetsforsøk ved Enhet for generell kjemi, 1998 Holdbarhet Li-heparin. I:\Medisinsk biokjemi\Generell biokjemi\Arkiv_Generell biokjemi\Holdbarhetsstudier.
6. W.G. Guder, G.M. Fiedler, F.Da Fonseca-Wollheim, Y. Schmitt, G.Töpfer, H. Wisser, B.Zawta: Quality of Diagnostic Samples, Recommendations of the Working Group on Extraanalytical Quality Assurance of the German United Society for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 4. utgave 2015.
7. H18-A4_ procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests, Vol 30 No 10.
8. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Washington, DC: AACC Press;2000.
9. Ceriotti, F., et al., Reference intervals for serum creatinine concentrations : assessment of available data for global application. Clin Chem 2008; 54: 559-66.
Referanseverdier for barn mellom 15 og 60 dager er funnet ved ekstrapolering av data fra Ceriotti, F et al.
10. Mårtensson A, Rustad P, Lund H, Ossowicki H. Creatininium reference intervals for corrected methods. Scand J Clin Lab Invest 2004; 439-442.
11. Vurdering av holdbarhet av prøvematerialet. Se under I:\STOLAV - Laboratoriemedisin\Medisinsk biokjemi\Generell biokjemi\Arkiv Generell biokjemi\Holdbarhetsstudier.
12. Carobene A. et al. The EuBIVAS Project: Within- and Between-Subject Biological Variation Data for Serum Creatinine Using Enzymatic and Alkaline Picrate Methods and Implications for Monitoring. Clin Chem 2017;63(9):1527-36.
13. 191125 Internt notat_ Beslutning ved AMB om faktorisering av kreatinin, I:\STOLAV - Laboratoriemedisin\Medisinsk biokjemi\Generell biokjemi\Arkiv Generell biokjemi\Analyser\Kreatinin\Faktorisering

Relaterte lenker

- [Brukerhåndbok, Fagområdet medisinsk biokjemi, St.Olavs Hospital](#)

Vedlegg 5: Utdrag fra prosedyren; Atellica NEPH 630, bruk og vedlikehold. AMB

Atellica NEPH 630, bruk og vedlikehold. AMB

Forfatter: Mari Meslo Lien (Fagansvarlig bioingeniør)
Dokument-administratør: Mari Meslo Lien (Fagansvarlig bioingeniør)
Godkjent av: Kristine Ingeborg Bodal Solem
Gyldig fra: 07.03.2020
Revisjonsfrist: 07.03.2022
Revisjon: 2.1
ID: 10241
Revisjonskommentar: *Nytt labsystem, Beaker, f.o.m. 08.03.2020.
*Fjernet det som angår NSL og ANP.
* Fra og med 07.03.2020 blir analysen CDT % avsluttet . Info i LABNYTT nr. 1 2020. Rekvirentene anbefales å rekvirere PETH som analyseres på Farmakologen i stedet.
Yrkesgrupper: Bioingeniør.
Dokumenttype: Prosedyre
Gjelder for enhetene: St. Olavs hospital/Laboratoriemedisinsk klinikk/Avdeling for medisinsk biokjemi, AMB
St. Olavs hospital/Laboratoriemedisinsk klinikk/Avdeling for medisinsk biokjemi, AMB/Seksjon spesiell biokjemi
Dokumentkategori: Pasientbehandling/Laboratorietjenester/Laboratorieutstyr



Hensikt og omfang

Prosedyren skal være en hjelp til daglig bruk og vedlikehold av Atellica NEPH 630, slik at operatør kan jobbe selvstendig rundt analyseinstrumentet.

Grunnlagsinformasjon

Analyseinstrument:	Atellica NEPH 630 SN: 291277/ MTA nr. 75434
Produsent:	Siemens Healthineers, Marburg, Tyskland
Leverandør:	Siemens Norge Helse, tlf.:07432
Vårt kundennummer:	317024
Service:	Siemens, Norge, e-post: ccc.no@siemens.com, hc.order.no@siemens.com
Eier:	Avd. medisinsk biokjemi, installert august 2019
Loggbok:	Finnes ved instrumentet
Brukermanual:	I:/Felles/AMB/Spesiell biokjemi/Arkiv/Instrumenter/Atellica NEPH 630
Service dokumenter:	MEDUSA.
Serviceavtale:	Avtale, se MEDUSA
MTA	Tlf. 76353, e-post: mta-lab@stolav.no

Kort beskrivelse av instrumentet

Atellica NEPH 630 (NEPH) er et helautomatisk instrument som brukes til kvantitering av plasmaproteiner. NEPH kommuniserer med laboratoriets datasystem LIMS. Prøvens ID-nummer registreres via en barkodeleser i instrumentet. På denne måten får NEPH beskjed om hva den skal analysere. PC-skjerm har «Touch screen».

Kort beskrivelse software: Brukersoftwaren er laget grafisk og består hovedsaklig av en rekke ikoner som man trykker på for å bevege seg i softwarene, og for å utføre bestemte handlinger. Disse ikonene kan i skjermbildet deles inn i sju hovedgrupper, se figur.

Reagensrotoren: Reagensene og kontrollene står ved 8-10 °C i reagensrotoren. Det er plass til 15 segment i rotoren. 12 segment er merket med hvitt og har plass til to reagensflasker i hvert segment. 3 segment er merket med gult og har plass til 3 kontrollflasker i hvert segment. Hver gang en har åpnet dekslet på reagens rotoren vil reagensene og kontrollene bli registrert på ny. Hvilke reagens, lotnummer, og mengde av reagens og kontroller vil en finne på skjermen til en hver tid.

Reagensene og kontrollene skal ha spesielle lokk som hindrer fordampning når de står i rotoren. Hvite for reagenser og gule for kontroller.

Fortynningsstasjonen: Fortynning av prøver, kontroller og standarder foregår i egne forfortynningsbrønner. Det er plass til 16 strips å 6 brønner.

Kyvetterrotoren: I kyvetterrotoren blir prøvene inkubert ved 37 °C. Reaksjonen blir målt med nefelometri. Rotoren har plass til 10 segment å 9 kuvetter.

Proben: Pipetterer og forfortynner prøver, kontroller og standarder. Den transporterer reagens og forfortynnet løsning til kyvettene. Proben forvarmer løsningene mens de blir transportert. Løsningene blir mixet i forfortynningsbrønnene og kyvettene v.h.a. proben. Den sjekker antall forfortynningsbrønner som er satt på og detekterer væsknivå av prøvemateriale, kontroller, reagenser, standarder, SCS Cleaner og reaksjonsbuffer.

Vaskestasjonen: I vaskestasjonen blir proben vasket innvendig med diluent og utvendig med vann. Vaskestasjonen har tre adskilte områder. Helt til venstre er det reservoar for reaksjonsbuffer. I midten blir proben vasket med diluent og overskuddet går til waste. Til høyre er det utvendig vask av proben v.h.a. en "fontene" med rensset vann.

Cleaner SCS stasjon: Til venstre for vaskestasjonen skal det stå en flaske med SCS Cleaner (spesiell vaskeløsning). SCS brukes til å fjerne proteiner fra proben etter den har pipettert enkelte latex-reagens. Flasken inneholder ca. 5,2 mL og har dødvolum på 3,8 mL. Forbruk 30 µL per gang den skal vaske proben **Tips!** Før en tar i bruk ny flaske, merk av væsknivået. Start med ny flaske eller fyll opp til "streken" på en brukt flaske. Fyll opp flasken igjen etter ca 20 tester.

Måleprinsipp

Proteinet en ønsker å kvantitere, danner uløselige komplekser med spesifikt antistoff. Når lys sendes gjennom reaksjonsblandingen, vil antigen-antistoff-kompleksene spre lyset. Lyskilden er en laserdiode (840 nm). Ved nefelometrisk proteinbestemmelse er det hovedsakelig "Mie scattering" som inntre (se Instruction Manual). "Mie scattering" skjer når partikkeldiameter > bølgelengden på innsendt lys. Spredt lys i vinkel mellom 13° og 24° fra innsendt lysstråle måles ved hjelp av fotodioden. Ved konstant mengde antistoff, beskriver Heidelberg-Kendalls kurve (se Instruction Manual) forholdet mellom målt lysspredning (målesignal) og mengde protein (antigen). Målt lysspredning er da proporsjonal med antigennivået, altså mengde protein. Standardkurven fremkommer ved to- eller flere-punktskalibrering med en kalibrator med kjent konsentrasjon. Nefelometriske målinger kan gjøres enten som endepunkts-"fixed-time"-eller VLinIntegral-målinger (se Instruction Manual). "Fixed-time"-målinger er basert på avlesninger etter 7,5 sekunder og etter 6 minutter eller lengre etter tilsetning av antistoff, dvs. før reaksjonen er startet og når antigen/antistoff reaksjonen har stabilisert seg. Målt lysspredning ved 1. avlesning blir fratrukket målt lysspredning ved 2. avlesning. Dette gjør at en får fratrukket lysabsorberende partikler i prøven som ikke skyldes antigen-antistoff-kompleksene. Ved VLinIntegral blir en endring i målt lysspredning beregnet per tidsintervall. Hvor mange målinger som skal medberegnes bestemmes ut ifra kurvens stigning. 13.2. ¹⁾

Illustrasjon på prøvens gang i instrumentet

Vedlegg 6: Prosedyren; Albumin i serum og spinalvæske, BN ProSpec. AMB

Dokument «Albumin i serum og spinalvæske, BN ProSpec. AMB», ID 1027 - EQS

Page 1 of 5

Albumin i serum og spinalvæske, BN ProSpec. AMB

Forfatter: Mari Meslo Lien (Fagansvarlig bioingeniør)
Dokument-administrator: Mari Meslo Lien (Fagansvarlig bioingeniør)
Godkjent av: Kristine Ingeborg Bodal Solem
Gyldig fra: 10.09.2019
Revisjonsfrist: 09.09.2021
Revisjon: 2.8
ID: 1027
Revisjonskommentar: *Bruksområde, analysemetode og referanseområde er vurdert og godkjent 09.09.2019 av Wenche Ø. Irgens.
*Analysekvalitet er oppdatert.
*Litteratur er oppdatert.
Yrkesgrupper: Bioingeniør, Lege.
Dokumenttype: Prosedyre
Gjelder for enhetene: St. Olavs hospital/Laboratoriemedisinsk klinikk/Avdeling for medisinsk biokjemi, AMB (med underliggende enheter)
St. Olavs hospital/Laboratoriemedisinsk klinikk/Avdeling for medisinsk biokjemi, AMB/Seksjon spesiell biokjemi (med underliggende enheter)
Dokumentkategori: Pasientbehandling/Laboratorietjenester/Analyser spesiell biokjemi



Klinisk nytte og betydning

Spinalvæsken produseres vesentlig i plexus choroideus. Hovedandelen av proteinene i spinalvæsken stammer fra plasma. Alt albumin i spinalvæsken er filtrert fra plasma over blod-hjerne-barrieren. Albuminkonsentrasjonen i spinalvæske i stabil fase er dermed avhengig av albuminkonsentrasjonen i plasma og av hvor god (eller intakt) blod-hjerne-barrieren er. Andre forhold som endret spinalvæskesirkulasjon eller -resorpsjon kan også ha innvirkning. Forholdet mellom albuminkonsentrasjonen i spinalvæske (målt i mg/L) og albuminkonsentrasjonen i plasma (målt i g/L) kalles albuminindeks og er altså et uttrykk for hvor intakt blod-hjerne-barrieren er. Spinalvæske og serum må taes samtidig (48 timer +/- kan tillates mellom prøvetakingstidspunkt for spinalvæske og serum).¹⁾

Indikasjon

Vurdere blod-hjerne-barrieresvikt.¹⁾

Tolkning

Albumin analysert på BNProSpec inngår i beregning av IgG-indeks, se prosedyre Oligoklonale IgG-bånd i spinalvæske. HYDRASYS Focusing. AMB

Referanseområdet

Albumin i serum

Barn 0 - 1 år	30 - 46 g/L
Barn 1 - 7 år	35 - 48 g/L
Barn 8 - 14 år	43 - 55 g/L
Menn, kvinner 15 - 50 år	40 - 51 g/L
Menn, kvinner > 50 år	37 - 48 g/L

Albumin i spinalvæske: 0,10 - 0,30 g/L.

Gjeldende referansegrenser er i overenstemmelse med anbefalte grenser fra Behringwerke AG, Tyskland, i forbindelse med overgang til IFCC CRM 470 standard fra og med 09.10.1995, dvs uendret referanseområde fra og med 1985.

I 1985 oppstart med IgG-indeks i spinalvæske. Mindre referansemateriale utprøvd på BNA.

Dokumentasjon er oppbevart ved Avdeling for medisinsk biokjemi, Seksjon spesiell biokjemi.²⁾


Aksjonsgrenser

Ingen.

Oppstartdato

1986: BNA
09.10.1995: BN II
10.10.2005: BN ProSpec® System

Analyseprinsipp

Generelt for nefelometri se prosedyre:  Atellica NEPH 630, bruk og vedlikehold. AMB
Kalibreringskurven til albumin fremkommer ved 5-punktskalibrering nå for både spinalvæske og serum.

Målingen er basert på "fixed-time"-måling med avlesning etter henholdsvis 7,5 sekunder og 6 minutter.

Albumin danner immunkompleks med antistoff mot albumin. Det målte lyset er da, under forutsetning av at det er overskudd av antistoff, proporsjonalt med albuminkonsentrasjonen.

Analysemateriale

0,5 mL serum og 0,5 mL spinalvæske.

Serum og spinalvæske er holdbar 7 dager ved 2-8 °C

Spinalvæsken sentrifugeres før analysering.

Romtemperatur: etter erfaring er serum og spinalvæske holdbar ved normal postgang, men mangler egne data.

Lithiumheparinplasma kan brukes.

Hemolyse og bilirubin virker ikke inn på metoden.


Analyseinstrument

BN ProSpec.

Utstyr

Se i prosedyren  Atellica NEPH 630, bruk og vedlikehold. AMB

Reagenser

Fellesreagenser på BN ProSpec se i prosedyre:  Atellica NEPH 630, bruk og vedlikehold. AMB

N Antistoff mot human Albumin (ALB), flaske à 5 mL, analyse nr. 7 (s) og 67 (spv)

Leverandørens artikkelnummer: OSAL 15

Materialnummer i SAP: 4013742

Ferdig til bruk. Reagentet skal oppbevares ved 2-8 °C. Uåpnet reagens er holdbart til utløpsdato.

Åpnet er reagentet holdbart 6 uker på instrumentet. Må ikke fryses.

Reagentet består av bovint antistoff i løsning produsert ved immunisering av kanin med rensset albumin.

Under lagring kan det bli utfellinger i reagentet. Dette skyldes ikke bakterievekst og innvirker derfor ikke på reaksjonen, men må enten sentrifugeres fra eller filtreres med et filter med porestørrelse 0,45 µm.

Tilsatt natrium azide (<1 g/L) som konserveringsmiddel.

Reagens skrevet med rød skrift: natriumazide er klassifisert som "meget giftig", men i stoffblanding < 0,1% (<1 g/L) er det ikke klassifisert. Det betyr ingen krav til Sikkerhetsdatablad (HMS-datablad).

Kalibratører

N Protein Standard SL, eske à 3 flasker* 1 mL

Produsent: Siemens Helthineers

Leverandør: Siemens Helthineers

Leverandørens artikkelnummer: OQIM 13

Materialnummer i SAP: 4051425

Kalibratoren er kalibrert i henhold til standard ERM®-DA470k/IFCC.


Består av løst stabilisert humant serum.

Ferdig til bruk, blandes forsiktig.

Oppbevares ved 2-8 °C. Holdbar til utløpsdato. Må ikke fryses.

Åpnet standard er holdbar 14 dager hvis oppbevart ved 2-8 °C så snart som mulig etter bruk.

Turbiditet kan oppstå ved lagring, men skyldes ikke bakteriell kontaminasjon og innvirker ikke på reaksjonen.


Se i prosedyren:  Atellica NEPH 630, bruk og vedlikehold. AMB, hvordan og hvor ofte analysene kalibreres.

Kontrollmateriale

Serum:


Se prosedyre  Kontroller for faggruppe Protein, Seksjon spesiell biokjemi. AMB

Spinalvæske:

SPV1 og SPV2, se prosedyre  Immunglobulin G, IgG, i spinalvæske og serum, BN ProSpec. AMB

Se prosedyre  Atellica NEPH 630, bruk og vedlikehold. AMB, hvor ofte kontrollene analyseres.

Utførelse

1. Bruk av BN ProSpec, se i prosedyren:  Atellica NEPH 630, bruk og vedlikehold. AMB.
2. Prøvevolum for serum er 22,5 µL og 90 µL for spinalvæske ved standard fortykning (+ dødvolum: i 10*75 mm i reagensrør ca. 270 µL) og inkubasjonstid er 6 minutter.
3. Arbeidslistens navn er OLIGO.
4. Resultat som blir manuelt lagt inn i NSL blir oppbevart elektronisk i 3 år.

Måleområde

Avlesningsområde:

avhengig av lot nr. på kalibrator:

Serum:

- ved standard fortykning for albumin i serum 1:400 ca. 8 – 121 g/L.
- ved fortykning 1:100 ca 2 – 29 g/L.

Spinalvæske:

- ved standard fortykning for albumin i spv 1:5 ca. 0,08 – 2,56 g/L.
- ved fortykning 1:1 ca. 0,02 – 0,60 g/L.

Instrumentet foretar automatisk lavere fortykning ved resultat under standard avlesningsområde.

Måleområde:

Serum: 5 – 70 g/L.

Spinalvæske: 0,05 – 1,00 g/L

Behandling av prøver utenfor måleområde, se under avlesningsområdet.

Analytisk kvalitet

Tillatt totalfeil

Serum og spinalvæske: 20 %

Kontrollregel for serum: 1_{3s} , N = 2, analytisk cv = 3,0 % for nivå 1 og 3,5 % for nivå 2.

Kontrollregel for spinalvæske: 1_{3s} , N = 2, to kontroller i samme nivå, analytisk cv = 4,0 %

Analytisk presisjon

Repeterbarhet

Serum

Antall	Materiale	Nivå g/L	CV %
20	Seronorm Protein	28	1,8
20	Serumpool M	49	1,4

Spinalvæske

Antall	Materiale	Nivå g/L	CV %
14	Spinalvæske kontroll	0,22	1,4
20	Spinalvæske pool	0,88	1,5

Analysert ved innkjøring av nytt analyseinstrument.

Reproduserbarhet

Serum

Antall	Materiale	Nivå g/L	CV %	Periode
47	Liq Autonorm L-1	23	2,1	24.04. - 21.08.19
40	Liq Autonorm L-3	56	2,6	24.04. - 21.08.19
143	DEKS	48	2,6	01.01-31.12.2017

Spinalvæske

Antall	Materiale	Nivå	CV %	Periode
45	SPV 1	0,22 g/L	2,6	24.04.- 21.08.19
48	SPV 2	0,34	3,8	24.04.- 21.08.19
	IgG-Indeks (beregnet)	0,44	8	

Feilkilder

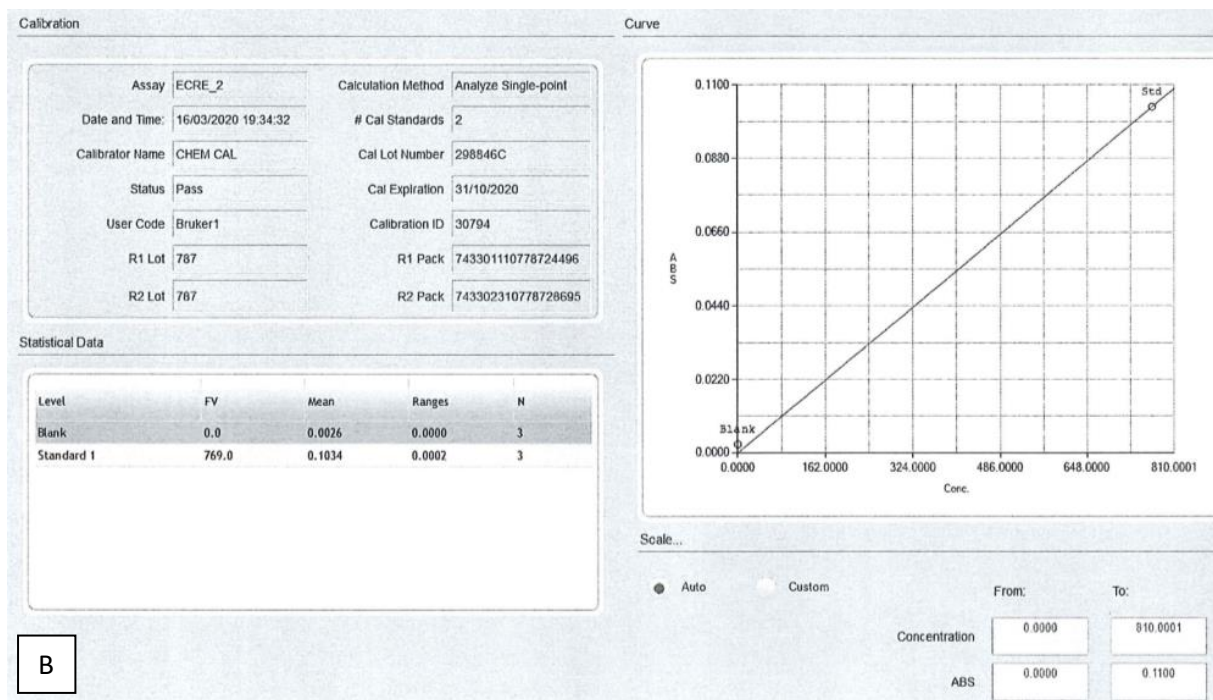
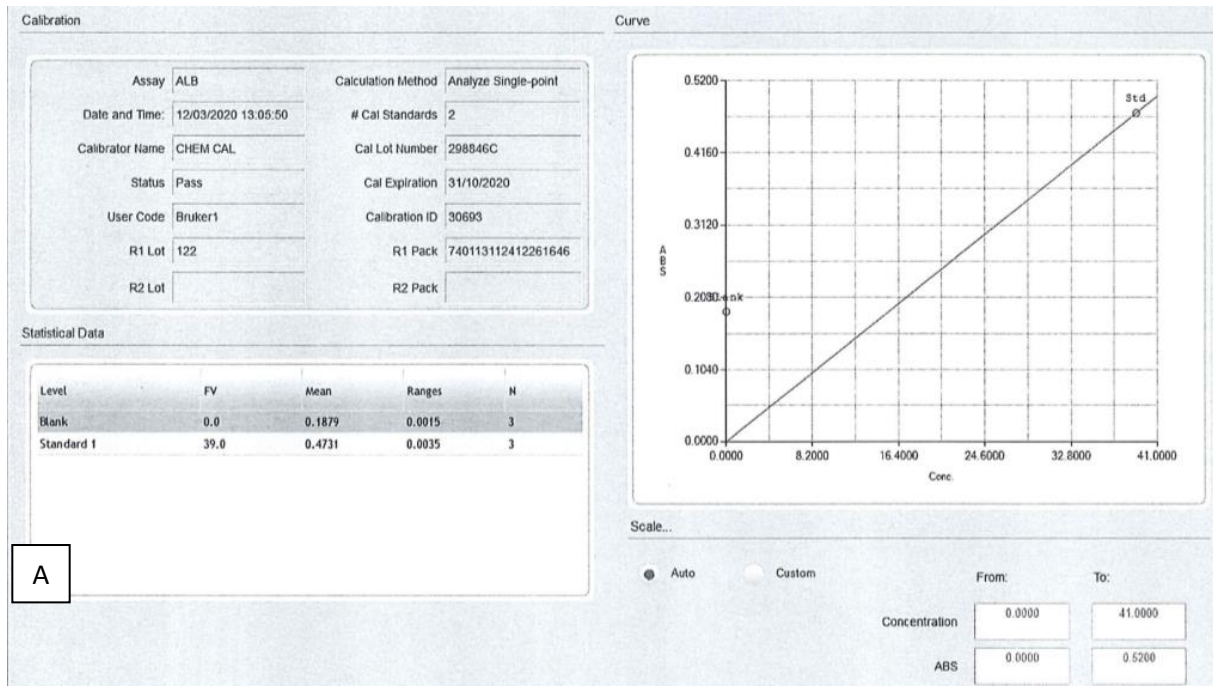
- Ingen interferens av TG inntil 20,0 g/L, bilirubin inntil 0,6 g/L og fritt hemoglobin inntil 10 g/L.
- Turbiditet og partikler i analysematerialet vil være feilkilder ved nefelometri. Serum som inneholder partikler eller er turbide må sentrifugeres i 10 min. ved ca. 14.500 rpm før analysering.
- I tilfellet spinalvæsken er blodtilblandet, vil serumproteinene medbestemmes og gi feil resultat.
- Blodlegemer og andre partikler i analysematerialet vil være feilkilder ved nefelometri.

Litteratur

1. Nasjonal brukerhåndbok i medisinsk biokjemi. www.brugerhandboken.no Albuminindeks SP/P (24.04.2017)
2. LAB-NYTT No. 27, 5. oktober 1995.
3. Pakningsvedlegg N Antistoff mot Human Albumin, august 2018.
4. Pakningsvedlegg N Protein Standard SL, februar 2017.

Vedlegg 7: Utdrag fra gjeldene kalibrator- og kontrollverdier under analyseringen, Advia Chemistry XPT

ALB står for albumin og ECRE_2 for kreatinin, CC2 står for Clean Chem 2 og CC3 for Clean Chem 3. Figur A/D viser kalibreringskurven til albumin, A=Instrument 1 og D=Instrument 2. Figur B/E viser kalibreringskurven til kreatinin, B=Instrument 1 og E=Instrument 2. Figur C/F viser et utdrag av kontrollresultatene til både albumin og kreatinin, C=Instrument 1 og F=Instrument 2



Results Overview

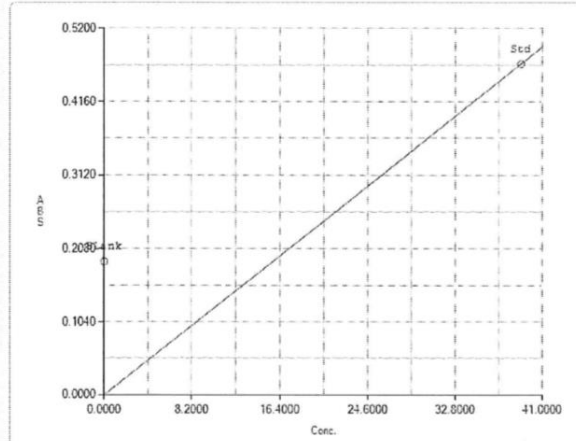
CCXPT1 [CA1275000710071]
Software Version: 1.4.2930.0

Sorted By	Aspirated Date Time	View	Filtered			
SID	Aspirated Date Time	Volume Needed	Test	Result	Flags	Interpretation
AutonormCC2	24/03/2020 10:34:06	0.00	ECRE_2	93.0 umol/L	✓	
			ALB	33.5 g/L	✓	
AutonormCC3	24/03/2020 10:34:30	0.00	ECRE_2	338.8 umol/L	✓	
			ALB	54.0 g/L	✓	
AutonormCC2	24/03/2020 16:26:47	0.00	ECRE_2	92.0 umol/L	✓	
			ALB	33.6 g/L	✓	
AutonormCC3	24/03/2020 16:27:11	0.00	ECRE_2	337.2 umol/L	✓	
			ALB	53.8 g/L	✓	
AutonormCC2	24/03/2020 20:13:23	0.00	ECRE_2	93.3 umol/L	✓	
			ALB	34.0 g/L	✓	
AutonormCC3	24/03/2020 20:14:06	0.00	ECRE_2	340.1 umol/L	✓	C

Calibration

Assay	ALB	Calculation Method	Analyze Single-point
Date and Time	09/03/2020 09:35:31	# Cal Standards	2
Calibrator Name	CHEM CAL	Cal Lot Number	298846C
Status	Pass	Cal Expiration	31/10/2020
User Code	Bruker1	Calibration ID	31273
R1 Lot	122	R1 Pack	740113112412243499
R2 Lot		R2 Pack	

Curve



Statistical Data

Level	FV	Mean	Ranges	N
Blank	0.0	0.1898	0.0009	3
Standard 1	39.0	0.4595	0.0016	3

D

Scale...

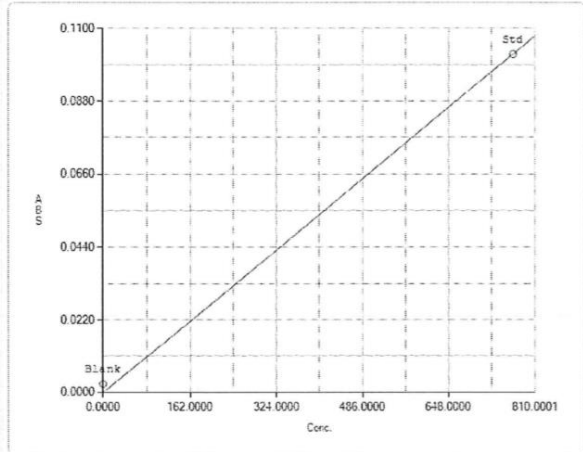
Auto
 Custom

	From:	To:
Concentration	0.0000	41.0000
ABS	0.0000	0.5200

Calibration

Curve

Assay	ECRE_2	Calculation Method	Analyze Single-point
Date and Time	17/02/2020 09:09:03	# Cal Standards	2
Calibrator Name	CHEM CAL	Cal Lot Number	296846C
Status	Pass	Cal Expiration	31/10/2020
User Code	Bruker1	Calibration ID	30743
R1 Lot	373	R1 Pack	743301104637354535
R2 Lot	373	R2 Pack	743302304637362937



Statistical Data

Level	FV	Mean	Ranges	N
Blank	0.0	0.0026	0.0000	3
Standard 1	769.0	0.1022	0.0002	3

E

Scale...

Auto Custom

From: To:

Concentration

ABS

Results Overview

CCXPT2 [CA1275000720072]
Software Version: 1.4.2930.0

Sorted By	Aspirated Date Time	View	Filtered			
SID	Aspirated Date Time	Volume Needed	Test	Result	Flags	Interpretation
AutonomCC2	24/03/2020 08:43:19	0.00	ECRE_2	94.6 umol/L	✓	
			ALB	33.5 g/L	✓	
AutonomCC3	24/03/2020 08:43:43	0.00	ECRE_2	340.8 umol/L	✓	
			ALB	54.1 g/L	✓	
[Redacted]						
AutonomCC2	24/03/2020 12:57:56	0.00	ECRE_2	95.1 umol/L	✓	
			ALB	33.7 g/L	✓	

F

Vedlegg 8: Gjeldene kalibreringskurve og kontrollresultater under analyseringen, Atellica NEPH 630

Figur A viser kalibreringskurven til Atellica NEPH 630 og tabell B kontrollresultatene

A

Reference curve

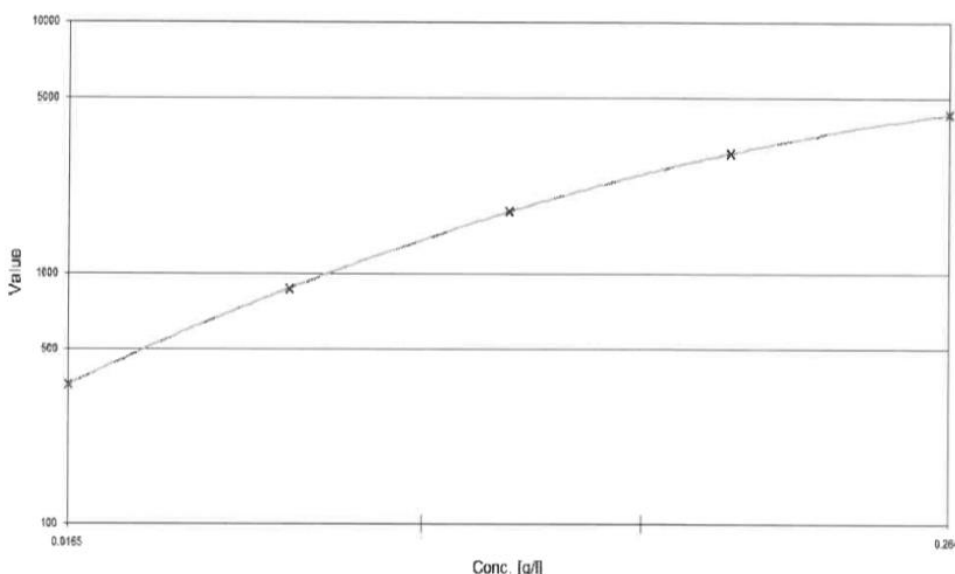
SIEMENS Atellica NEPH 630 **Serial no.**
Laboratory **Version 1.1**
Operator

1/3/2020
12:02:55PM

Phone:

Assay 7, ALB Reference curve released automatically

1/3/2020, 11:56:04 AM Mean deviation 0.11 %



Standard
083629 SL Prot. Std.

Reagents
153945 ALB

No.	Dilution	Conc. [g/l]	Prereact. [Bit]	First value [Bit]	Value [Bit]	Dev. [%]
1	1:2560	0.0165		134	361	0.06
2	1:1280	0.033		103	872	-0.14
3	1:640	0.0661		97	1774	0.14
4	1:320	0.132		239	3027	-0.14
5	1:160	0.264		601	4334	0.06

Rekalib.

AM L-1: 22,5 g/L (-2.30)

AM L-3: 53,29 g/L (-6.60)

Page 1 of 1

3/1-20 Best J

Tabell B: kontrollresultater fra Atellica NEPH 630

Kontroller Atellica NEPH	Resultat	Grenseverdier
Autonorm Clin Chem L 1	22 g/L	20-24 g/L
Autonorm Clin Chem L 3	54 g/L	48-60 g/L

Vedlegg 9: Rådata fra studien + beregnet gjennomsnittsnivå og differanse

Tabell 2: Rådata fra analyseringen av albumin (BCG-metoden) og kreatinin på Advia Chemistry XPT og fra analyseringen av albumin(immunoassay) på Atellica NEPH 630 + beregnet gjennomsnittsnivå og differanse. BCG (bromkrsongrønn) og IN (immunnefelometri)

Løpenr	Kjønn	Fødselsår	Alder	Kreatinin Advia Chemistry	Albumin (BCG) Advia Chemistry	Albumin (Immunoassay) Atellica NEPH	Gjennomsnittsnivå (BCG+IN)/2	Differanse (BCG-IN)
1	M	1954	66	70,3	41,8	41,0	41,4	0,8
2	M	1953	67	62,1	33,1	23,5	28,3	9,6
3	K	1975	45	43,2	36,6	33,2	34,9	3,4
4	M	1995	25	78,8	48,1	50,7	49,4	-2,6
5	M	1955	65	60,1	46,5	47,5	47,0	-1,0
6	M	1996	24	39,1	27,6	15,7	21,7	11,9
7	K	1949	71	46,5	33,0	22,7	27,9	10,3
8	M	1977	43	63,3	35,8	27,9	31,9	7,9
9	K	1970	50	101,0	25,6	12,6	19,1	13,0
10	K	1986	34	65,1	31,9	24,3	28,1	7,6
11	M	1967	53	54,3	37,6	35,5	36,6	2,1
12	K	2000	20	42,0	30,8	22,7	26,8	8,1
13	K	1968	52	35,8	26,6	18,6	22,6	8,0
14	K	1982	38	37,0	32,5	22,6	27,6	9,9
15	K	1964	56	282,3	29,9	23,9	26,9	6,0
16	M	1946	74	76,3	41,4	42,1	41,8	-0,7
17	M	1971	49	100,4	43,9	44,8	44,4	-0,9
18	M	1936	84	111,3	30,9	25,4	28,2	5,5
19	K	1938	82	133,3	17,2	16,1	16,7	1,1
20	K	1939	81	39,6	30,6	24,8	27,7	5,8
21	K	1968	52	81,9	42,2	40,7	41,5	1,5
22	M	1938	82	87,8	40,5	33,6	37,1	6,9
23	M	1948	72	62,5	41,1	36,1	38,6	5,0
24	M	1965	55	99,1	42,9	41,7	42,3	1,2
25	M	1970	50	112,3	44,4	39,5	42,0	4,9
26	M	1946	74	69,6	45,0	40,9	43,0	4,1
27	M	1946	74	152,1	29,8	24,2	27,0	5,6
28	K	1936	84	61,2	43,2	38,8	41,0	4,4
29	M	1954	66	64,3	44,5	43,4	44,0	1,1
30	K	1975	45	53,4	44,6	41,1	42,9	3,5
31	K	1986	34	99,3	30,4	21,3	25,9	9,1
32	K	1936	84	107,7	23,0	14,1	18,6	8,9
33	K	1975	45	74,2	43,3	42,1	42,7	1,2
34	K	1964	56	50,6	44,8	42,7	43,8	2,1
35	K	1941	79	67,7	37,7	34,8	36,3	2,9
36	M	1992	28	33,3	35,9	29,3	32,6	6,6
37	K	1964	56	538,9	43,4	39,1	41,3	4,3

38	M	1956	64	90,0	45,0	42,3	43,7	2,7
39	M	1984	36	68,0	48,0	42,3	45,2	5,7
40	M	1949	71	85,5	41,9	39,1	40,5	2,8
41	K	1948	72	64,2	46,3	41,9	44,1	4,4
42	M	1968	52	92,0	42,1	40,5	41,3	1,6
43	K	1978	42	72,1	43,2	34,3	38,8	8,9
44	M	1948	72	68,5	37,7	33,4	35,6	4,3
45	M	1974	46	49,9	28,3	23,1	25,7	5,2
46	M	1986	34	106,4	37,9	35,3	36,6	2,6
47	M	1968	52	89,6	24,0	21,9	23,0	2,1
48	K	1940	80	65,6	44,3	39,2	41,8	5,1
49	K	1931	89	45,0	42,9	35,5	39,2	7,4
50	M	1970	50	48,3	41,3	34,0	37,7	7,3
51	M	1946	74	72,1	24,1	19,9	22,0	4,2
52	M	1961	59	49,3	29,1	14,6	21,9	14,5
53	K	1955	65	145,2	27,8	25,3	26,6	2,5
54	K	1965	55	54,0	22,7	18,4	20,6	4,3
55	K	1936	84	36,2	20,9	10,2	15,6	10,7
56	M	1996	24	44,1	28,4	15,4	21,9	13,0
57	M	1997	23	59,7	23,9	15,5	19,7	8,4
58	M	1939	81	119,2	27,6	22,9	25,3	4,7
59	K	1949	71	47,5	33,4	21,6	27,5	11,8
60	M	1992	28	31,4	36,0	30,4	33,2	5,6
61	M	1968	52	222,9	36,2	35,1	35,7	1,1
62	K	1942	78	55,3	31,4	25,8	28,6	5,6
63	K	1970	50	105,8	26,5	12,7	19,6	13,8
64	M	1945	75	107,6	38,8	35,5	37,2	3,3
65	M	1943	77	92,8	37,9	33,3	35,6	4,6
66	K	1976	44	65,1	32,1	29,7	30,9	2,4
67	M	1948	72	108,7	36,6	31,0	33,8	5,6
68	M	1977	43	62,6	34,1	24,4	29,3	9,7
69	K	2000	20	48,8	31,9	21,8	26,9	10,1
70	K	1986	34	103,2	30,5	21,2	25,9	9,3
71	M	1949	71	48,0	28,0	15,5	21,8	12,5
72	K	1982	38	42,6	36,4	24,1	30,3	12,3
73	K	1970	50	51,0	37,4	32,7	35,1	4,7
74	M	1936	84	115,5	28,9	22,1	25,5	6,8
75	M	1936	84	411,4	35,8	24,0	29,9	11,8
76	K	1958	62	59,6	43,4	39,8	41,6	3,6
77	K	1988	32	63,9	44,0	41,5	42,8	2,5
78	K	1946	74	73,4	41,8	34,0	37,9	7,8
79	M	2003	17	65,1	37,8	30,8	34,3	7,0
80	K	1960	60	52,7	47,3	43,4	45,4	3,9
81	K	1981	39	590,3	39,8	38,0	38,9	1,8
82	M	1942	78	71,9	42,3	33,4	37,9	8,9
83	M	1948	72	595,9	36,4	30,2	33,3	6,2

84	M	1957	63	100,4	39,9	36,6	38,3	3,3
85	K	1958	62	49,6	41,9	39,4	40,7	2,5
86	K	1951	69	49,7	51,4	47,1	49,3	4,3
87	K	1972	48	54,0	37,6	36,8	37,2	0,8
88	M	1956	64	81,1	39,7	33,9	36,8	5,8
89	K	1965	55	18,6	25,1	24,5	24,8	0,6
90	M	1949	71	136,9	37,5	26,1	31,8	11,4
91	K	1986	34	100,0	29,2	20,0	24,6	9,2
92	K	1938	82	131,5	25,6	27,6	26,6	-2,0
93	K	1972	48	47,7	35,3	32,5	33,9	2,8
94	K	2019	1	18,2	30,2	24,7	27,5	5,5
95	M	1936	84	392,9	35,8	24,6	30,2	11,2
96	K	1955	65	100,4	28,7	24,9	26,8	3,8
97	M	1996	24	49,0	31,8	17,2	24,5	14,6
98	M	1939	81	124,6	24,8	18,6	21,7	6,2
99	K	1965	55	52,8	19,6	14,2	16,9	5,4
100	M	1961	59	44,3	28,3	13,0	20,7	15,3
101	K	1944	76	50,5	33,8	21,9	27,9	11,9
102	K	1982	38	42,4	32,8	21,5	27,2	11,3
103	K	1952	68	64,2	38,7	35,5	37,1	3,2
104	K	1963	57	185,2	33,9	27,7	30,8	6,2
105	M	1950	70	549,2	43,5	41,2	42,4	2,3
106	M	1990	30	1018,4	40,7	39,7	40,2	1,0
107	M	1948	72	99,5	35,2	30,3	32,8	4,9
108	M	1953	67	318,8	41,0	36,0	38,5	5,0
109	M	1953	67	324,4	41,9	36,5	39,2	5,4
110	K	1938	82	132,7	27,7	29,9	28,8	-2,2
111	M	2001	19	73,3	47,9	46,4	47,2	1,5
112	M	1964	56	90,9	46,3	43,4	44,9	2,9
113	K	1976	44	64,3	38,9	37,1	38,0	1,8
114	M	1946	74	915,3	38,0	29,8	33,9	8,2
115	M	1944	76	68,1	41,6	36,0	38,8	5,6
116	M	1950	70	86,8	42,2	37,7	40,0	4,5
117	K	1943	77	70,8	36,7	30,5	33,6	6,2
118	M	1952	68	793,5	36,9	34,4	35,7	2,5
119	M	1948	72	83,8	34,1	29,3	31,7	4,8
120	K	1963	57	70,0	40,1	38,3	39,2	1,8
121	M	1950	70	242,8	39,0	35,4	37,2	3,6
122	K	1969	51	97,9	44,2	41,0	42,6	3,2
123	M	1958	62	658,1	40,0	31,9	36,0	8,1
124	M	1961	59	71,4	33,7	28,4	31,1	5,3
125	M	1946	74	80,9	45,7	41,1	43,4	4,6
126	K	1964	56	70,6	42,8	40,6	41,7	2,2
127	M	1948	72	77,9	35,7	30,4	33,1	5,3
128	K	1962	58	63,9	42,2	40,0	41,1	2,2
129	K	1965	55	45,5	41,2	36,8	39,0	4,4

130	K	1941	79	56,1	37,2	29,7	33,5	7,5
131	M	1942	78	162,0	34,2	30,5	32,4	3,7
132	M	1949	71	730,9	44,7	41,5	43,1	3,2
133	K	1971	49	55,8	44,4	40,1	42,3	4,3
134	K	1983	37	87,9	41,3	36,8	39,1	4,5
135	K	1948	72	45,9	37,2	29,3	33,3	7,9
136	M	1965	55	66,3	45,8	41,5	43,7	4,3
137	K	1972	48	44,5	44,3	42,9	43,6	1,4
138	M	1958	62	88,0	46,6	40,2	43,4	6,4
139	K	1955	65	57,3	42,6	39,7	41,2	2,9
140	M	1994	26	198,1	40,0	33,2	36,6	6,8
141	M	1946	74	928,1	39,5	35,8	37,7	3,7
142	K	1940	80	454,4	30,8	24,1	27,5	6,7
143	K	1948	72	92,0	39,7	35,8	37,8	3,9
144	K	1961	59	379,5	40,9	37,4	39,2	3,5
145	K	1941	79	72,3	42,1	40,2	41,2	1,9
146	M	1962	58	89,0	48,6	41,6	45,1	7,0
147	M	1947	73	106,9	45,3	42,3	43,8	3,0
148	K	1946	74	61,3	45,9	39,9	42,9	6,0
149	K	1966	54	65,2	44,5	43,8	44,2	0,7
150	K	1962	58	51,2	42,8	38,7	40,8	4,1
151	K	2011	9	29,2	43,2	43,8	43,5	-0,6
152	M	1939	81	60,3	42,3	34,3	38,3	8,0
153	K	1969	51	68,6	43,4	38,3	40,9	5,1
154	M	1989	31	45,9	32,2	22,9	27,6	9,3
155	M	1947	73	170,5	33,4	26,2	29,8	7,2
156	K	1965	55	50,2	26,8	22,0	24,4	4,8
157	K	1948	72	56,3	41,2	34,4	37,8	6,8
158	M	1961	59	43,1	28,8	14,8	21,8	14,0
159	K	1936	84	26,0	22,2	12,0	17,1	10,2
160	M	1996	24	43,4	31,3	18,2	24,8	13,1
161	K	1955	65	191,7	25,0	17,1	21,1	7,9
162	K	1958	62	301,5	27,6	15,2	21,4	12,4
163	K	1970	50	88,8	28,7	14,1	21,4	14,6
164	M	1943	77	88,7	37,4	33,4	35,4	4,0
165	M	1952	68	81,0	40,6	36,3	38,5	4,3
166	M	1942	78	69,4	28,7	21,3	25,0	7,4
167	M	1977	43	67,6	36,8	27,2	32,0	9,6
168	K	1942	78	95,8	31,1	26,8	29,0	4,3
169	M	1944	76	72,0	34,2	28,8	31,5	5,4
170	K	1956	64	48,3	40,7	33,8	37,3	6,9
171	K	1986	34	107,3	31,6	20,8	26,2	10,8
172	K	1982	38	44,6	32,5	22,1	27,3	10,4
173	K	1957	63	61,3	39,2	33,6	36,4	5,6
174	M	1959	61	57,7	36,2	24,5	30,4	11,7
175	K	1946	74	62,0	39,2	33,7	36,5	5,5

176	M	1957	63	89,4	43,2	35,7	39,5	7,5
177	M	1998	22	52,1	40,1	33,6	36,9	6,5
178	K	2010	10	131,6	38,4	30,5	34,5	7,9
179	K	1953	67	70,6	41,4	36,8	39,1	4,6
180	M	1944	76	107,6	41,3	35,0	38,2	6,3
181	K	1944	76	56,6	33,4	25,3	29,4	8,1
182	K	1944	76	44,9	36,7	30,1	33,4	6,6
183	M	1958	62	73,8	39,4	34,9	37,2	4,5
184	M	1949	71	62,2	44,1	39,3	41,7	4,8
185	M	1956	64	41,4	40,7	33,8	37,3	6,9
186	M	1978	42	62,2	36,9	28,8	32,9	8,1
187	K	1971	49	68,1	37,7	32,5	35,1	5,2
188	K	1945	75	69,3	40,4	36,0	38,2	4,4
189	M	1932	88	115,4	29,4	22,1	25,8	7,3
190	M	1963	57	54,9	27,0	22,4	24,7	4,6
191	M	1982	38	79,2	44,7	40,2	42,5	4,5
192	K	1964	56	60,7	44,1	38,6	41,4	5,5
193	K	1954	66	72,5	36,7	32,0	34,4	4,7
194	K	1958	62	49,5	39,2	32,4	35,8	6,8
195	K	1961	59	64,7	44,9	40,2	42,6	4,7
196	M	1961	59	72,2	36,1	29,7	32,9	6,4
197	M	1948	72	91,3	36,2	30,2	33,2	6,0
198	M	1953	67	261,9	31,1	21,2	26,2	9,9
199	M	1946	74	87,4	49,4	47,7	48,6	1,7
200	K	1997	23	39,9	40,5	30,4	35,5	10,1
201	K	1975	45	43,8	31,7	28,1	29,9	3,6
202	M	1954	66	70,3	32,1	29,9	31,0	2,2
203	M	1961	59	84,6	38,8	35,0	36,9	3,8
204	M	1978	42	70,4	39,3	33,9	36,6	5,4

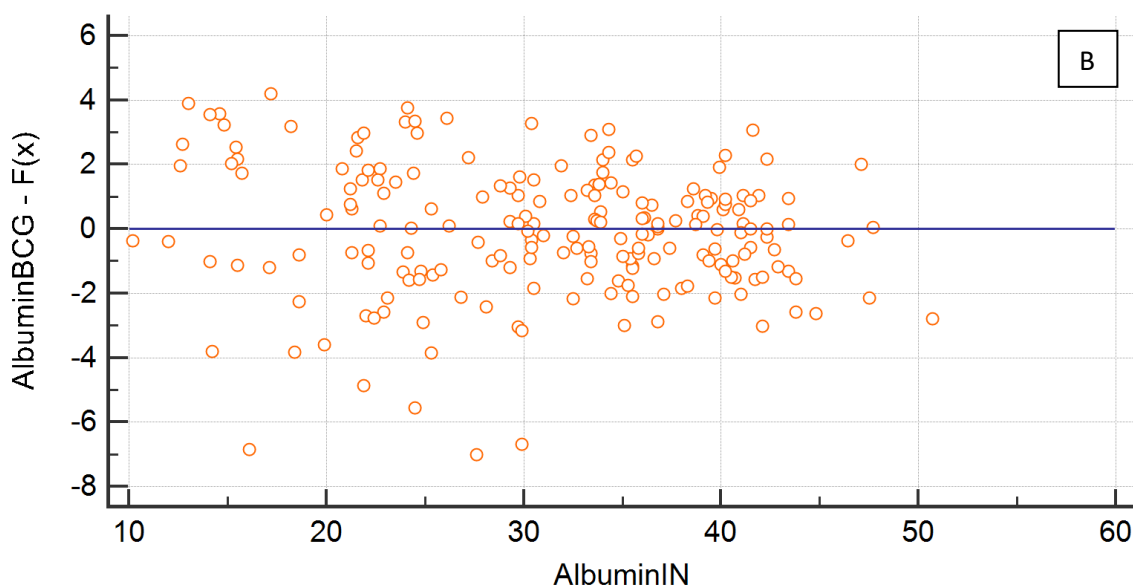
Vedlegg 10: Passing & Bablok regresjon

Tabell A viser resultatene fra Passing & Bablok regresjonen. Figur B viser et residualplott mellom residualene og albuminkonsentrasjon målt ved IN-metoden

Variable X	AlbuminIN	A
Variable Y	AlbuminBCG	
Sample size	204	
	Variable X	Variable Y
Lowest value	10,2000	17,2000
Highest value	50,7000	51,4000
Arithmetic mean	31,2417	36,9441
Median	33,2000	37,7000
Standard deviation	8,8176	6,7593
Standard error of the mean	0,6174	0,4732

Regression Equation

$y = 13,732195 + 0,746341 x$	
Systematic differences	
Intercept A	13,7322
95% CI	12,0537 to 15,2207
Proportional differences	
Slope B	0,7463
95% CI	0,7036 to 0,7919
Random differences	
Residual Standard Deviation (RSD)	2,0029
± 1.96 RSD Interval	-3,9257 to 3,9257
Linear model validity	
Cusum test for linearity	No significant deviation from linearity (P=0,99)



Vedlegg 11: Multipel lineær regresjon tabeller

Tabellene under viser resultatene fra de multiple lineære regresjonene. Tabell A inneholder alle x-variablene; kreatininkonsentrasjon, kjønn, alder og gjennomsnittsnivå albumin. Tabell B innehar x-variablene; kjønn, alder og gjennomsnittsnivå albumin. Tabell C innehar x-variablene; alder og gjennomsnittsnivå albumin. Tabell D inneholder bare x-variablene; kjønn, alder og gjennomsnittsnivå albumin

Dependent Y	Differanse	A
Least squares multiple regression		
Method	Enter	
Sample size	204	
Coefficient of determination		
R ²	0,3686	
R ² -adjusted	0,3559	
Multiple correlation coefficient	0,6071	
Residual standard deviation	2,8382	

Regression Equation

Independent variables	Coefficient	Std. Error	t	P	r _{partial}	r _{semipartial}	VIF
(Constant)	17,3240						
Alder	-0,01896	0,01101	-1,721	0,0868	-0,1211	0,09695	1,019
Kjønn	-0,6637	0,4067	-1,632	0,1043	-0,1149	0,09192	1,047
Kreatinin	-0,0009442	0,001289	-0,733	0,4646	-0,05187	0,04127	1,053
Gjennomsnittsnivå	-0,2757	0,02617	-10,536	<0,0001	-0,5984	0,5935	1,011

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	4	935,8689	233,9672
Residual	199	1603,0599	8,0556

F-ratio	29,0441
Significance level	P<0,0001

Zero order and simple correlation coefficients

Variable	Differanse	Alder	Kjønn	Kreatinin
Alder	-0,09823			
Kjønn	-0,02486	-0,07835		
Kreatinin	-0,07955	0,1223	-0,1894	
Gjennomsnittsnivå	-0,5919	0,004317	-0,08963	0,07210

Dependent Y	Differanse	B
Least squares multiple regression		
Method	Enter	
Sample size	204	
Coefficient of determination		
R ²	0,3669	
R ² -adjusted	0,3574	
Multiple correlation coefficient	0,6057	
Residual standard deviation	2,8349	

Regression Equation

Independent variables	Coefficient	Std. Error	t	P	r _{partial}	r _{semipartial}	VIF
(Constant)	17,2222						
Alder	-0,01985	0,01093	-1,815	0,0710	-0,1273	0,1021	1,006
Gjennomsnittsnivå	-0,2768	0,02609	-10,608	<0,0001	-0,6000	0,5968	1,008
Kjønn	-0,6111	0,3999	-1,528	0,1280	-0,1074	0,08599	1,014

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	3	931,5446	310,5149
Residual	200	1607,3841	8,0369

F-ratio	38,6361
Significance level	P<0,0001

Zero order and simple correlation coefficients

Variable	Differanse	Alder	Gjennomsnittsnivå
Alder	-0,09823		
Gjennomsnittsnivå	-0,5919	0,004317	
Kjønn	-0,02486	-0,07835	-0,08963

Dependent Y	Differanse	C
Least squares multiple regression		
Method	Enter	
Sample size	204	
Coefficient of determination		
R ²	0,3595	
R ² -adjusted	0,3531	
Multiple correlation coefficient	0,5996	
Residual standard deviation	2,8444	

Regression Equation

Independent variables	Coefficient	Std. Error	t	P	r _{partial}	r _{semipartial}	VIF
(Constant)	16,1127						
Alder	-0,01854	0,01094	-1,695	0,0916	-0,1187	0,09568	1,000
Gjennomsnittsnivå	-0,2732	0,02607	-10,478	<0,0001	-0,5944	0,5915	1,000

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	2	912,7727	456,3863
Residual	201	1626,1561	8,0903

F-ratio	56,4113
Significance level	P<0,0001

Zero order and simple correlation coefficients

Variable	Differanse	Alder
Alder	-0,09823	
Gjennomsnittsnivå	-0,5919	0,004317

Dependent Y	Differanse	D
Least squares multiple regression		
Method	Enter	
Sample size	204	
Coefficient of determination		
R ²	0,3504	
R ² -adjusted	0,3471	
Multiple correlation coefficient	0,5919	
Residual standard deviation	2,8575	

Regression Equation

Independent variables	Coefficient	Std. Error	t	P	r _{partial}	r _{semipartial}	VIF
(Constant)	15,0300						
Gjennomsnittsnivå	-0,2734	0,02619	-10,437	<0,0001	-0,5919	0,5919	1,000

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	1	889,5316	889,5316
Residual	202	1649,3972	8,1653

F-ratio	108,9400
Significance level	P<0,0001

Zero order and simple correlation coefficients

Variable	Differanse
Gjennomsnittsnivå	-0,5919

