

Stanovení albuminu v párových vzorcích likvorů a sér pro výpočet kvocientu albuminu a intrathekální syntézy imunoglobulinů

Zeman D.^{1,2}, Beňovská M.^{1,2}, Podborská M.^{1,2}, Hoffmannová A.^{1,2},
Bučková D.^{1,2}, Tůmová J.^{1,2}, Valík D.^{1,2}

¹ Ústav laboratorní medicíny – Oddělení klinické biochemie Fakultní nemocnice Brno

² Katedra laboratorních metod, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

SOUHRN

Cíl studie: srovnání různých metod stanovení albuminu v likvoru a séru za účelem výpočtu albuminového kvocientu (Q ALB) a intrathekální (ith.) syntézy IgG

Typ studie: prospektivní studie

Materiál a metody: U vybraných vzorků byl stanoven albumin a IgG v séru a albumin v likvoru různými metodami a byly srovnávány výsledné hodnoty Q ALB a výpočtu ith. syntézy IgG. U 226 po sobě následujících vzorků byl srovnán výsledek výpočtu ith. syntézy IgG s výsledkem detekce oligoklonálních IgG pásů.

Výsledky: Stanovení albuminu v séru metodou s bromkrezolovou zelení (BCG) bylo identifikováno jako hlavní příčina falešně pozitivních výsledků výpočtu ith. syntézy IgG. Tato metoda poskytovala významně vyšší koncentrace ve srovnání s ostatními postupy - bromkrezolovým purpurem (BCP), imunonefelometrií (IN), imunoturbidimetrií (IT). Měřené koncentrace albuminu v likvoru i séru byly významně vyšší při použití IT na analyzátoru Optilite než při použití IN na analyzátoru Immage 800. Průměr hodnot Q ALB se však mezi oběma systémy významně nelišil. Q ALB vypočtený ze sérových koncentrací stanovených metodou s BCP byl významně nižší při stanovení albuminu v likvoru IN – průměrně o 12,8 % oproti IT. Při stanovení albuminu v séru imunochemickou metodou na analyzátoru použitém pro stanovení v likvoru klesl počet falešně pozitivních výsledků výpočtu významně (>10 %) ith. syntézy IgG z 9 % na 2 %.

Závěr: Stanovení albuminu v likvoru a séru by mělo být prováděno stejnou metodou na stejném analyzátoru. Metodu s BCG považujeme pro stanovení albuminu za účelem výpočtu Q ALB a ith. syntézy imunoglobulinů za obzvlášť nevhodnou.

Klíčová slova: albumin, bromkrezolová zeleň, bromkrezolový purpur, imunonefelometrie, imunoturbidimetrie, intrathekální syntéza IgG.

SUMMARY

Zeman D., Beňovská M., Podborská M., Hoffmannová A., Bučková D., Tůmová J., Valík D.: Measurement of albumin in paired cerebrospinal fluid and serum samples for the assessment of albumin quotient and intrathecal immunoglobulin synthesis

Objective: comparison of multiple methods of albumin determination in CSF and serum for the purpose of the calculation of albumin quotient (Q ALB) and intrathecal (ith.) IgG synthesis.

Design: prospective study

Material and Methods: In selected samples, albumin and IgG in CSF and serum were determined by multiple methods and a comparison was made among methods for Q ALB and ith. IgG synthesis calculation as well. In 226 consecutive samples, ith. IgG synthesis calculation was compared with the result of oligoclonal IgG detection.

Results: Determination of serum albumin by a bromocresol green (BCG) method has been identified as the main cause of false positive ith. IgG synthesis calculation. This method gave significantly higher values compared to immunoturbidimetry (IT), immunonephelometry (IN) or bromocresol purple (BCP). CSF and serum albumin concentrations measured by IT in an Optilite analyzer were significantly higher compared to those obtained in an Immage 800 nephelometer, yet no significant difference of the mean was observed for Q ALB. Using BCP method in serum for the calculation of Q ALB, values obtained using IN for CSF albumin were on average by 12.8% lower compared to IT. Using IN method for both CSF and serum, the number of false positive significant (>10%) ith. IgG synthesis calculations decreased from 9% to 2%.

Conclusion: CSF and serum albumin determination shall be performed using the same methods on the same analyzer. In particular, BCG method for serum albumin shall not be used for the purpose of Q ALB and ith. immunoglobulin synthesis calculations.

Keywords: albumin, bromocresol green, bromocresol purple, immunonephelometry, immunoturbidimetry, intrathecal IgG synthesis.

Úvod

Stanovení albuminu v likvoru (CSF) a séru poskytuje základ pro výpočet albuminového kvocientu (Q ALB) a limitních kvocientů pro imunoglobuliny (Q_{lim} Ig) používaných pro výpočet intrathekální (ith.) syntézy [1]. Pro stanovení albuminu v likvoru a zejména v séru jsou k dispozici různé metody. Ač by měření měla být standardizována díky návaznosti na certifikovaný referenční materiál ERM-DA470k [2], není jasné, nakolik může použití různých metod stanovení albuminu v likvoru a séru tyto výpočty ovlivnit. České doporučení k vyšetřování mozkomíšního moku [1] doporučuje vyšetřovat albumin a imunoglobuliny v likvoru a séru metodou založenou na stejném principu; Německá společnost pro likvorovou diagnostiku a klinickou neurochemii (DGLN) navíc doporučuje stanovení na stejném analyzátoru a ve stejné analytické sérii na stejné kalibrační křivce [3]. Naproti tomu je v současnosti snaha používat v laboratořích konsolidované postupy, což může vést ke stanovení albuminu a imunoglobulinů v likvoru a séru na různých platformách [4]. Na ÚLM-OKB FN Brno byla dosud používána kombinace stanovení albuminu v likvoru IN na analyzátoru Immage 800 a stanovení v séru metodou s BCG na analyzátoru Cobas 8000. Z výsledků těchto stanovení byl počítán Q ALB a Q_{lim} Ig pro výpočty ith. syntézy. Cílem práce bylo reflektovat dosavadní poznatky o vhodnosti metody s BCG pro měření albuminu v séru a navrhnout a verifikovat postup, který zlepší správnost stanovení výchozích koncentrací albuminu v séru pro potřebu výpočtu Q ALB.

Materiál a metodika

Měření byla provedena na analyzátorech Cobas 8000 (Roche), Immage 800 (Beckman Coulter) a Optilite (The Binding Site).

Použité diagnostické soupravy pro jednotlivé testy a počet vyšetřených vzorků uvádí Tabulka 1.

Table 1. Methods and reagents used for CSF and serum albumin and IgG determination

Analyte	Method/Analyzer	Reagent (Catalogue number)	n
CSF Albumin	IN/Immage 800*	ALB (44760)	234
	IT/Optilite	Low Level Albumin Kit (446400)	35
CSF IgG	IN/Immage 800*	IgG (05166861190)	234
Serum Albumin	BCG/Cobas 8000*	ALB2 (BCG) (05166861190)	234
	BCP/Cobas 8000	ALBP (BCP) (05975573190)	31
	IN/Immage 800	ALB (44760)	64
	IT/Optilite	Low Level Albumin Kit (446400)	35
Serum IgG	IT/Cobas 8000*	IgG-2 (05220718190)	234
	IN/Immage 800	IgG (05166861190)	64

n, number of samples examined; IN, immunonephelometry; IT, immunoturbidimetry; BCG, bromocresol green; BCP, bromocresol purple. * denotes method routinely used for paired CSF/serum samples at the time of this study

Pro vnitřní kontrolu kvality v rámci rutinního provozu byly použity kontroly Bio-Rad Spinal Fluid Control, level 1 a 2, kat. č. 751 a 752 (lot 56480) pro IN stanovení albuminu v likvoru na analyzátoru Immage 800; PCCC1 a PCCC2 (PreciControl ClinChem Multi 1 a 2, kat. č. 05117003190 (lot 525027) a 05117216190 (lot 519198) pro stanovení albuminu v séru metodou s BCG na analyzátoru Cobas 8000 a Vigil Protein Control level 2 (kat. č. 450125, lot M107732) a 3 (kat. č. 450130, lot M107733) pro IN stanovení albuminu v séru na analyzátoru Immage 800.

Pro výpočty ith. syntézy IgG byl použitý Reiberův vztah [1,5].

Oligoklonální (o-) IgG pásy byly detekovány pomocí kitu Hydragel 9 CSF Isofocusing (Sebia, kat. č. 4355). Nálezly byly interpretovány dvěma z autorů této práce (DZ, DB).

Statistické zpracování bylo provedeno s použitím programu MedCalc® Statistical Software version 20.111 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; 2022 [odkaz]).

Projekt byl schválen Etickou komisí FN Brno (číslo jednací 02-170822/EK).

Výsledky

Studie probíhala v několika fázích; pro srovnání výsledků mezi jednotlivými metodami byly všechny vyšetřené vzorky shrnuty do jednoho souboru.

Ve sledovaném období byla zjišťována shoda mezi výpočtem ith. syntézy IgG a výsledkem vyšetření o-IgG pásů u 226 po sobě následujících vzorků při použití původního postupu (stanovení albuminu v séru metodou s BCG). Výsledky uvádí Tabulka 2. Senzitivita, specifická, pozitivní a negativní prediktivní hodnota výpočtu ith. syntézy IgG (>0 %) činila 65,7 %, 72,3 %, 31,5 % a 92,0 % a při použití cut-off hodnoty IgGIF 10 % pak 51,4 %, 89,5 %, 47,4 % a 91,0 %. Specifická byla zřetelně nižší než v tuzemských studiích, kde byl albumin a IgG stanovován v likvoru i séru IN metodou [6-8], i ve studiích zahraničních [9,10] používajících IgG index, který má však ve vztahu k predikci positivity o-IgG srovnatelné vlastnosti jako výpočet dle Reibera [8]. Při stanovení albuminu v likvoru i séru stejnou metodou (IN) bylo dosaženo významně vyšší specifické výpočtu ith. syntézy IgG (92,3 %, resp. 98,1 % při použití cut-off hodnoty IgGIF 10 %), zatímco senzitivitu nebylo možné objektivně posoudit vzhledem k malému množství o-IgG pozitivních vzorků (Tabulka 3). V nezávislém souboru po sobě následujících vzorků vyšetřených během prvního měsíce po zavedení IN stanovení albuminu v séru do rutinní praxe laboratoře (n=105) jsme ověřili zlepšení specifické výpočtu (88,4 %, resp. 97,7 %) při zachované senzitivitě 73,7 %, resp. 57,9 % při použití cut-off hodnoty IgGIF 10 %; při této cut-off hodnotě jsme zaznamenali pouze 2 falešně pozitivní výsledky výpočtu (2 % oproti 20 z 226, tj. 9 % v Tabulce 2). Srovnání positivity výpočtu ith. syntézy IgG jsme provedli také pomocí Cochranova Q testu. Původní postup stanovení albuminu v likvoru

IN a v séru metodou s BCG (IN/BCG) poskytoval výsledky, které se lišily ($P < 0,001$) od výsledků získaných ze všech dalších srovnávaných kombinací stanovení (IN/IN; IT/IT; IN/BCP; IT/BCP); tyto kombinace se mezi sebou statisticky významně nelišily, pokud jde o kvalitativní hodnocení výsledku při cut-off hodnotě IgG_{IF} 10 %.

Table 2. Concordance between intrathecal IgG synthesis calculation and CSF-restricted o-IgG bands using the BCG method for serum albumin

	o-IgG - (<2)	o-IgG + (≥2)	Total	Chi-squared (P)
$IgG_{IF} - (\leq 0 \%)$	138	12	150 (66.4 %)	19.018 ($P < 0.0001$)
$IgG_{IF} + (> 0 \%)$	53	23	76 (33.6 %)	
$IgG_{IF} - (< 10 \%)$	171	17	188 (83.2 %)	35.319 ($P < 0.0001$)
$IgG_{IF} + (> 10 \%)$	20	18	38 (16.8 %)	
Total	191 (84.5 %)	35 (15.5 %)	226	

o-IgG, oligoclonal IgG bands; -, negative; +, positive (at least 2 CSF-restricted bands); IgG_{IF} , intrathecal IgG fraction according to Reiber formula

Table 3. Concordance between intrathecal IgG synthesis calculation and CSF-restricted oligoclonal IgG bands using immunonephelometry for serum albumin

	o-IgG - (<2)	o-IgG + (≥2)	Total	Chi-squared (P)
$IgG_{IF} - (\leq 0 \%)$	48	4	52 (88.1 %)	7.172 ($P=0.0074$)
$IgG_{IF} + (> 0 \%)$	4	3	7 (11.9 %)	
$IgG_{IF} - (< 10 \%)$	51	5	56 (94.9 %)	8.924 ($P=0.0028$)
$IgG_{IF} + (> 10 \%)$	1	2	3 (5.1 %)	
Total	52 (88.1 %)	7 (11.9 %)	59	

o-IgG, oligoclonal IgG bands; -, negative; +, positive (at least 2 CSF-restricted bands); IgG_{IF} , intrathecal IgG fraction according to Reiber formula

Volba metody stanovení IgG v séru (IT vs. IN) neměla na výsledek výpočtu ith. syntézy IgG významný vliv (žádný neshodně klasifikovaný vzorek při použití cut-off hodnoty 10 %).

Srovnání metod stanovení albuminu v likvoru a séru i srovnání vypočteného Q ALB jsme prováděli pomocí Bland-Altmanových grafů. V obr. 1a – 1e jsou výsledky srovnání metod pro stanovení sérového albuminu. Je patrné, že metoda s BCG poskytuje významně vyšší výsledky oproti ostatním použitým metodám. V obr. 1(f) je srovnání IN a IT metody stanovení IgG v séru. Průměrná hodnota koncentrace IgG v séru se významně nelišila; byla patrná určitá proporcionální odchylka s tendencí k nižším hodnotám získaným IN měřeními v oblasti vyšších koncentrací IgG v séru.

Ovlivnění Q ALB metodou stanovení albuminu v likvoru a séru ukazují obr. 2 a 3. Rozdíly víceméně odpovídají rozdílům zjištěným pro měření albuminu v séru. Z obr. 2(d) je patrné, že nahrazením IN stanovení v likvoru stanovením IT (namísto realizovaného nahrazení BCG stanovení v séru stanovením IN) by poskytlo významně nižší hodnoty Q ALB oproti IN stanovení v obou

materiálech. Z obr. 3 vyplývá, že IT stanovení albuminu v likvoru a séru na analyzátoru Optilite poskytlo významně vyšší koncentrace v likvoru i séru oproti IN stanovení na analyzátoru Immage 800, ale průměrná hodnota Q ALB se mezi těmito metodami významně nelišila. Hodnoty Q ALB získané stanovením albuminu v likvoru IN a v séru metodou s BCP se významně lišily od hodnot získaných při IT stanovení v likvoru a stanovení metodou s BCP v séru.

Provedli jsme také analýzu výsledků stanovení kontrolních materiálů v rámci vnitřní kontroly kvality. Likvorová kontrola je v naší laboratoři prováděna na analyzátoru Immage 800 každý pracovní den střídavě na jedné ze dvou hladin, v souladu s minimálními požadavky doporučenými ČSKB [11]. Sérová kontrola (metoda s BCG) je prováděna denně na dvou hladinách na dvou modulech analyzátoru Cobas 8000. Z toho vyplývá, že kvocient likvor/sérum vypočítaný pro kontrolní materiály může nabývat čtyř hodnot. Příčinu diskrepancí v hodnotách Q ALB spatřujeme ve vyšších hodnotách variačního koeficientu (CV) Q ALB (3,6 – 5,4 %) ve srovnání s CV likvorového (2,7 a 3,1 %) a sérového (2,7 – 3,9 %) stanovení a zejména v nepříznivém aditivním účinku bias likvorového (-9,3 % a +2,0 %) a sérového (+0,7 % až +3,6 %) stanovení na bias Q ALB (-14,8 % až +1,7 % při výpočtu „cílové“ hodnoty Q ALB jako podílu deklarovaných koncentrací likvorové a sérové kontroly) při použití různých metod stanovení, nikoliv nevyhovující analytické vlastnosti jednotlivých metod jako takových. Pokud jde o bias likvorového stanovení (-9,3 % a +2,0 %), poznamenejme, že použitá kontrola má pro různé systémy poměrně výrazně odlišné deklarované hodnoty koncentrací albuminu pro měření na různých systémech (od 198 do 225 mg/L pro hladinu 1 a od 362 do 389 mg/L pro hladinu 2).

Po zavedení stanovení albuminu v likvoru i séru stejnou metodou bylo ve vnitřní kontrole kvality ($n=22$ pro hladinu 1, $n=18$ pro hladinu 2) dosaženo pro Q ALB nižších hodnot CV (3,5 % a 3,1 %) i vychýlení (-3,7 % a +3,5 %).

Diskuse a závěr

Publikované studie ukazují na tendenci k nadhodnocení koncentrací albuminu metodou s BCG, zejména v oblasti nízkých koncentrací [12-16]. Již v r. 1983 Whicher et al. [18] předvídali, že specifitější stanovení s BCP může s imunochemickým stanovením korelovat lépe než stanovení s BCG. Nicméně řada uvedených i dalších studií poukazuje na to, že metoda s BCP může v některých případech koncentrace albuminu podhodnocovat [12, 16, 18]. Ani imunochemické metody nemusí automaticky poskytovat správné výsledky [13, 19]. Problematika stanovení albuminu v séru je tedy překvapivě složitá. Stanovení v párových vzorcích likvorů a sér je paradoxně jednodušší, pokud si uvědomíme, že z hlediska likvorové diagnostiky je nejvýznamnějším výsledkem těchto stanovení Q ALB a z něho odvozené výpočty $Q_{lim} Ig$ pro posouzení ith. syntézy imunoglobulinů, na což jsme se zaměřili v naší studii. Ačkoliv je Q ALB používán pro posouzení funkce hemato-likvorové bariéry, klinický význam pozorovaných odchylek mezi

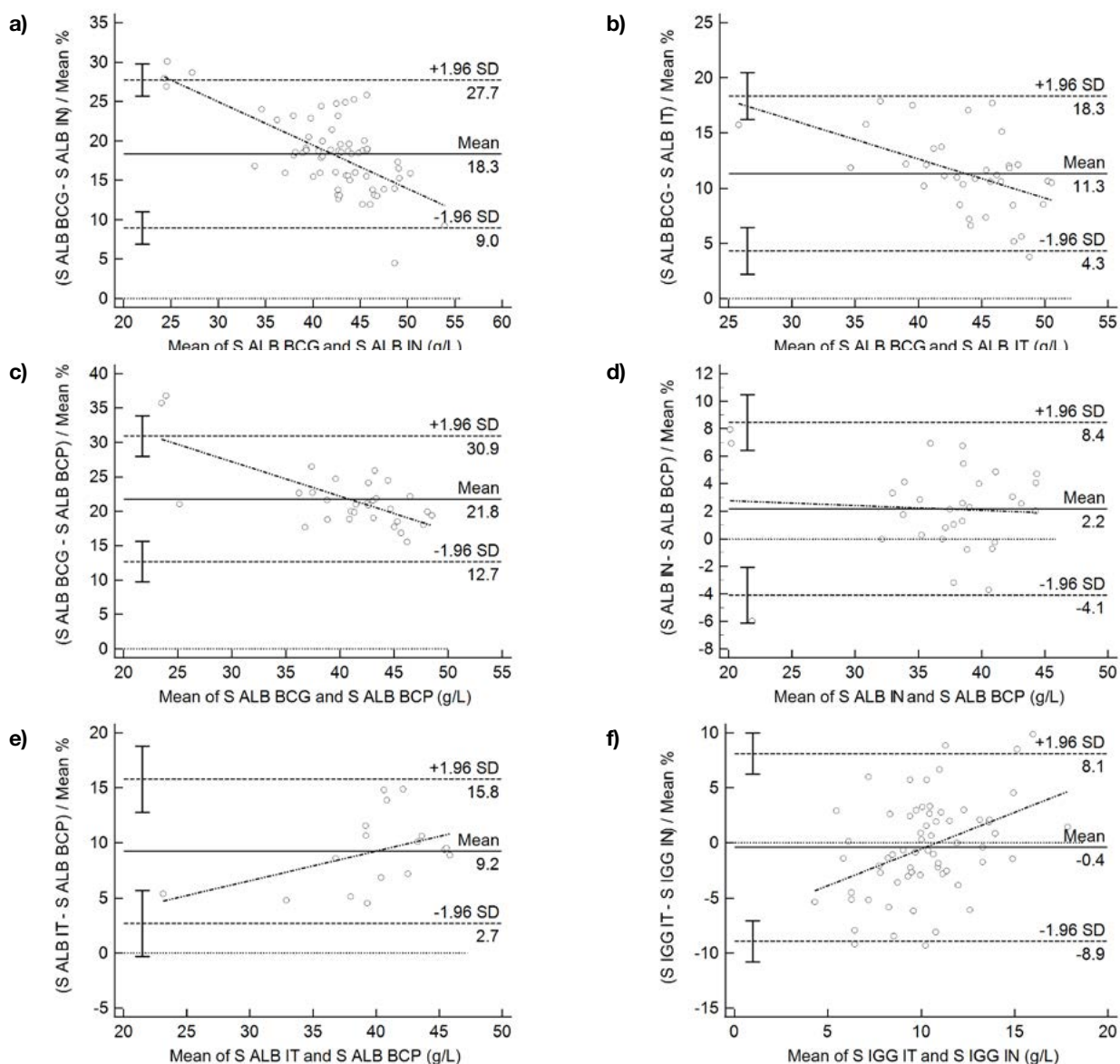


Fig. 1: Bland-Altman plots: comparison of serum albumin determination by BCG and IN (a); BCG and IT (b); BCG and BCP (c); IN and BCP (d); IT and BCP (e); serum IgG determination by IN and IT (f). BCG, bromocresol green; BCP, bromocresol purple; IN, immunonephelometry; IT, immunoturbidimetry.

výpočty z jednotlivých kombinací metod stanovení v párových vzorcích likvorů a sér může být malý vzhledem k tomu, že není jednoznačný konsensus ani na referenčních mezích a vztahy navržené pro horní referenční mez Q ALB ($\times 10^3$) Reiberem [3] ($4 + \text{věk v letech}/15$) a Hegenem et al. [20] ($8 + \text{věk v letech}/25$) mohou vést k odlišnému hodnocení. Za důležitější považujeme vliv metod stanovení albuminu v likvoru a séru na výsledek výpočtu ith. syntézy Ig. Přestože je řada expertů vůči výpočtům ith. syntézy Ig skeptická [21, 22], stále jsou používány pro diagnostiku a diferenciální diagnostiku zánětlivých neurologických onemocnění [9, 10, 24] a zejména v poslední době jsou studovány kvantitativní ukazatele ith. syntézy Ig jako možné prognostické biomarkery roztroušené sklerózy [25, 26]. Z tohoto důvodu je třeba věnovat analytickým aspektům stanovení patřičnou pozornost zejména s cílem zabránit falešně pozitivním výsledkům.

Pro vyšetření párových vzorků likvorů a sér se jeví optimální použití stejné metody (IT nebo IN) na stejném

analyzátoru a stejné kalibrační křivce. Tímto předpokladem podmíněnou postulovanou nezávislost kvocientu likvor/sérum na metodě lze z našeho srovnání Q ALB získaného IN a IT s určitými výhradami (je patrná určitá proporcionální odchylka, viz obr. 3 (c)) akceptovat. Stanovení albuminu v séru metodou s BCP v naší studii vedlo k jen nepatrně vyšším hodnotám Q ALB v kombinaci s IN, ale zřetelně vyšším hodnotám Q ALB v kombinaci s IT pro likvorové stanovení.

Domníváme se, že každá likvorová laboratoř by si měla průběžně vyhodnocovat shodu mezi výpočtem ith. syntézy IgG a výsledkem detekce o-IgG pásů. V naší laboratoři jsme identifikovali stanovení albuminu v séru jako rozhodující příčinu „falešně“ pozitivních výpočtů ith. syntézy IgG a na základě těchto výsledků jsme se rozhodli přejít na metodu stanovení používanou pro likvorové vzorky.

Pro vnitřní kontrolu kvality považujeme za vhodné sledovat nejen likvorové a sérové koncentrace, ale také jejich kvocient. Právě vyšší CV kvocientu ve srovnání

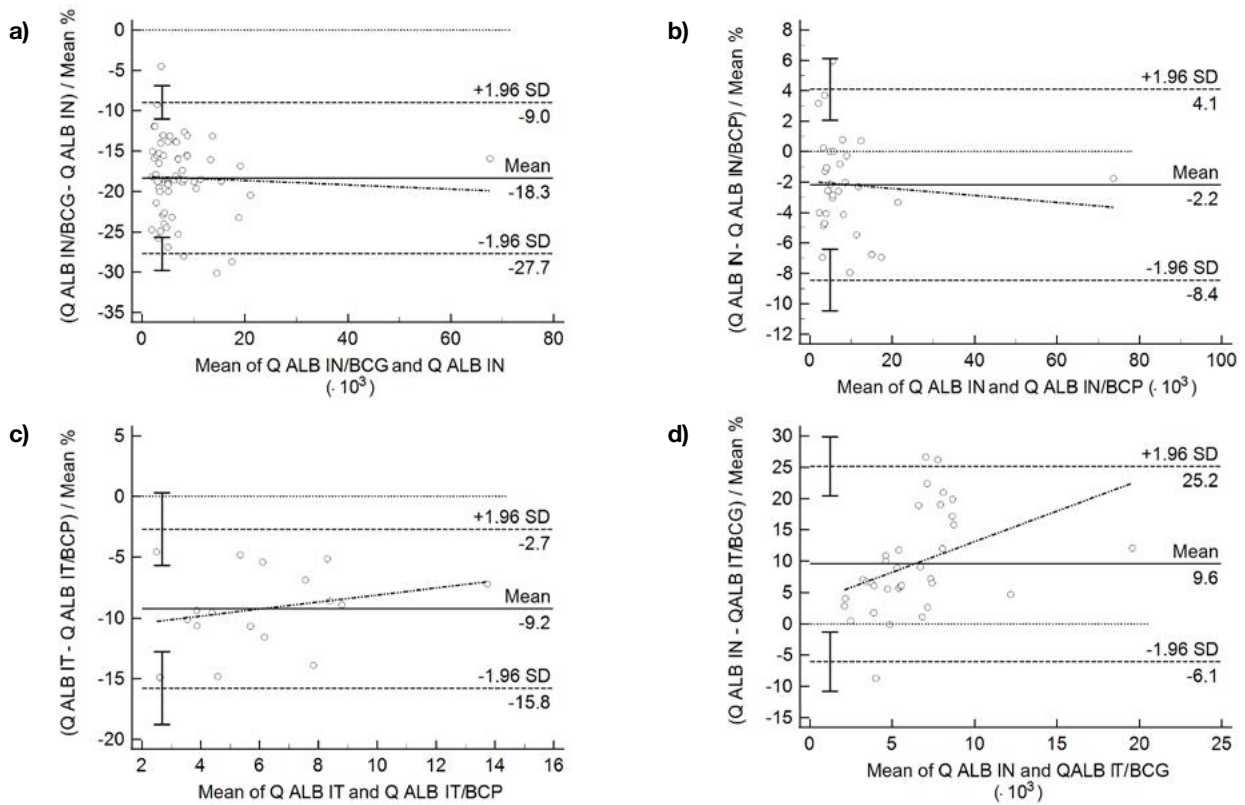


Fig. 2: Bland-Altman plots: comparison of Q ALB calculated from IN/BCG and IN (a); IN and IN/BCP (b); IT and IT/BCP (c); IN and IT/BCG (d)
 BCG, bromocresol green; BCP, bromocresol purple; IN, immunonephelometry; IT, immunoturbidimetry. Solidus denotes different CSF/serum methods used for Q ALB calculation.

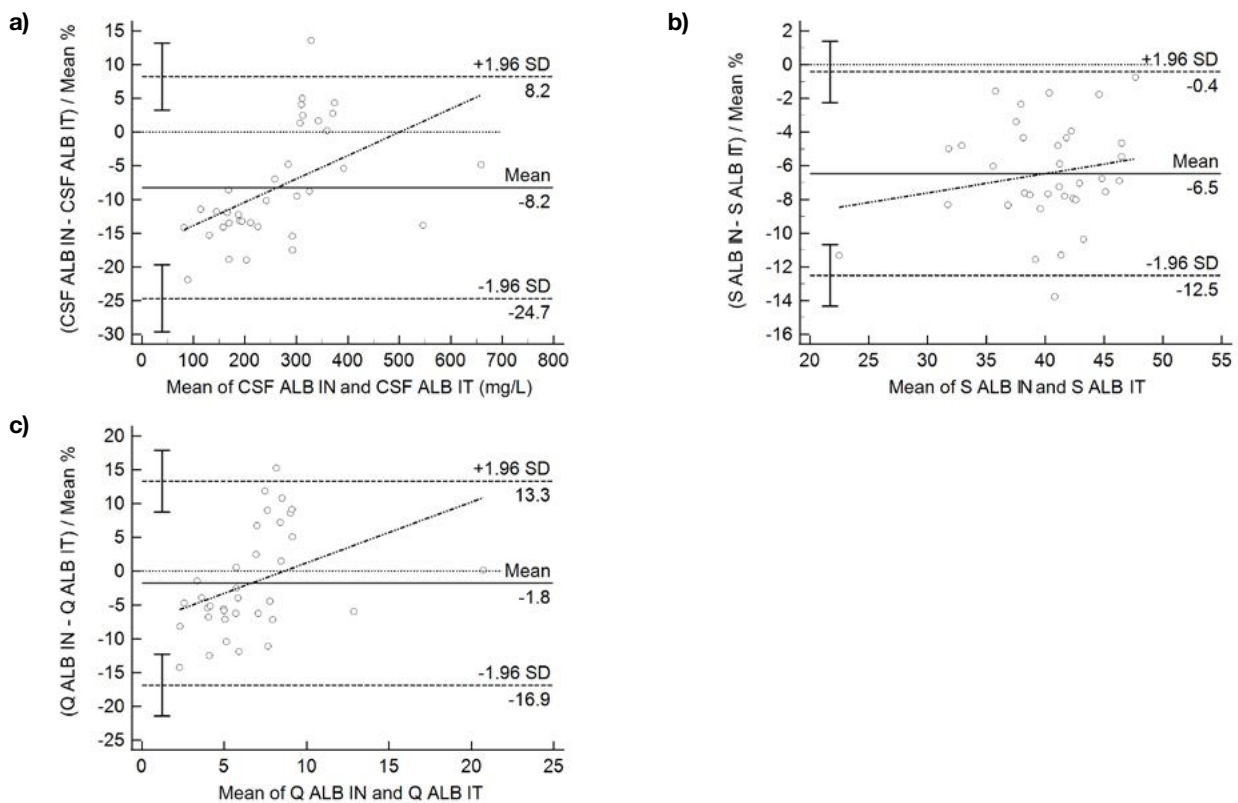


Fig. 3: Bland-Altman plots: comparison of IN and IT for CSF Albumin (a); serum albumin (b) and Q ALB (c).
 IN, immunonephelometry; IT, immunoturbidimetry; Q ALB, albumin quotient

s CV likvorového a sérového stanovení spolu s nepřiznivým aditivním účinkem bias likvorového a sérového stanovení na bias Q ALB je argumentem pro stanovení v likvoru a séru na stejné kalibrační křivce [27, 28]. Poskytovatele likvorových cyklů EHK by naše studie mohla vést k zamyšlení, zda nedodávat se vzorky likvoru i vzorky sér. Uspokojivý výsledek stanovení albuminu v likvoru a séru v EHK ani uspokojivé výsledky vnitřní kontroly kvality pro oba analyty totiž nejsou zárukou uspokojivého výsledku výpočtu Q ALB.

U několika vyšetřených vzorků nemohlo být provedeno srovnání výpočtu s výsledkem o-IgG, neboť o-IgG test nebyl požadován. Domníváme se, že pokud se klinický lékař rozhodne vyšetření ith. protilátkové odpovědi indikovat, neměl by požadavek na o-IgG pásy chybět, protože jde o mnohem senzitivnější a v současnosti dobře standardizovaný a všeobecně uznávaný test.

Naše studie vznikla na základě pozorování „falešně“ pozitivních výsledků výpočtu ith. syntézy IgG. Nelze z ní extrapolovat závěry pro stanovení IgM, IgA a volných lehkých řetězců v párových vzorcích likvor/sérum, které je vzhledem k nízkým koncentracím v likvoru, nízkým hodnotám kvocientů likvor/sérum, menší spolehlivosti výpočtů ith. syntézy z různých důvodů i absenci dobře standardizovaných metod pro detekci o-IgM a IgA pásů mnohem komplikovanější. Nelze z ní ani jednoznačně vyvozovat závěry ohledně optimální metody stanovení albuminu v séru, přestože tato problematika nás v průběhu studie velmi zaujala.

Stanovení albuminu v likvoru a séru by mělo být prováděno imunochemicky, stejnou metodou na stejném analyzátoru. Nicméně akceptovatelnou, ne však optimální metodou pro stanovení albuminu v séru je metoda s BCP. Tato metoda však vyžaduje periodické ověřování shody výsledků s imunochemickým stanovením v séru provedeným na analyzátoru užívaném ke stanovení albuminu v likvoru. Metodu s BCG považujeme pro stanovení albuminu za účelem výpočtu Q ALB a ith. syntézy imunoglobulinů za obzvlášť nevhodnou.

Literatura

1. **Mrázová, K., Zeman, D., Bořecká, K., et al.** Doporučení k vyšetřování mozkomíšního moku. *Klin. Biochem. Metab.*, 2017, 25(46), 1, s. 43-47. (cit. 30. 8. 2022) [\[odkaz\]](#)
2. **Wick, M. (ed.)** *Ausgewählte Methoden der Liquordiagnostik und klinischen Neurochemie*. 4. vydání, Mnichov 2020. Dostupné na: [\[odkaz\]](#)
3. **Süße, M., Reiber, H., Grothe, M., et al.** Free light chain kappa and the polyspecific immune response in MS and CIS – Application of the hyperbolic reference range for most reliable data interpretation. *J. Neuroimmunol.*, 2020, 346, 577287. [\[odkaz\]](#)
4. **Reiber, H.** Flow rate of cerebrospinal fluid (CSF) – a concept common to normal blood-CSF barrier function and dysfunction in neurological diseases. *J. Neurol. Sci.*, 1994, 122: s. 189-203. [\[odkaz\]](#)
5. **Nováčková, L., Zeman, D.** Detection of oligoclonal IgG bands in cerebrospinal fluid and serum: comparison between commercial immunofixation method and home-made affinity immunoblotting method and evaluation of interobserver agreement. *Klin. Biochem. Metab.*, 2011, 19(40), 4, s. 229-233. [\[odkaz\]](#)
6. **Zeman, D., Kušnierová, P., Hradílek, P., Čábal, M., Zapletalová, O.** Oligoklonální IgG a volné lehké řetězce – srovnání izoelektrické fokusace v agarózovém a polyakrylamidovém gelu. *Cesk. Slov. Neurol. N.*, 2019, 82/115 (1): s. 68-75. [\[odkaz\]](#)
7. **Zeman, D., Kušnierová, P., Všianský, F., et al.** Cerebrospinal fluid oligoclonal IgM test in routine practice: Comparison with quantitative assessment of intrathecal IgM synthesis. *Clin. Chim. Acta*, 2020, 508, s. 137-145. [\[odkaz\]](#)
8. **Simonsen, C. S., Flemmen, H. Ø., Lauritzen, T., Berg-Hansen, P., Moen, S. M., Celius, E. G.** The diagnostic value of IgG index versus oligoclonal bands in cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *Mult. Scler. J. Exp. Transl. Clin.*, 2020, 6(1), 2055217319901291. [\[odkaz\]](#)
9. **Zheng, Y., Cai, M.-T., Yang, F. et al.** IgG index revisited: diagnostic utility and prognostic value in multiple sclerosis. *Front. Immunol.*, 2020, doi: 10.3389/fimmu.2020.01799. [\[odkaz\]](#)
10. **Šprongl, L., Stančík, L., Minář, J., Kratochvíla, J.** Doporučení České společnosti klinické biochemie ČLS JEP o vnitřní kontrole kvality. *Klin. Biochem. Metab.*, 2022, 30(51), 1, s.19-20. [\[odkaz\]](#)
11. **Kok, M. B., Tegelaers, F. P. V., van Dam, B., van Rijn, J. L. M. L., van Pelt, J.** Carbamylation of albumin is a cause for discrepancies between albumin assays. *Clin. Chim. Acta*, 2014, 434, s. 6-10 [\[odkaz\]](#)
12. **Bachmann, L. M., Yu, M., Boyd, J. C., Bruns, D. E., Miller, W. G.** State of harmonization of 24 serum albumin measurement procedures and implications for medical decisions. *Clin. Chem.*, 2017, 63(3), s. 770-779 [\[odkaz\]](#)
13. **Rossary, A., Blondé-Cynober, F., Bastard, J. P. et al.** Albuminémie: les enjeux analytiques dans le cadre de l'évaluation nutritionnelle. Étude comparative multicentrique française. *Ann. Biol. Clin.*, 2017, 75(3), s. 305 – 318 [\[odkaz\]](#)
14. **Garcia Moreira, V., Beridze Vaktangova, N., Martinez Gago, M.D., Laborda Gonzalez, B., Garcia Alonso, S., Fernandez Rodriguez, E.** Overestimation of albumin measured by bromocresol green vs bromocresol purple method: influence of acute-phase globulins. *Lab. Med.*, 2018, 49, 4, s. 355-361 [\[odkaz\]](#)
15. **de Roij van Zuijdewijn, C. L. M., de Haseth, D. E. et al.** Role of albumin assay on calcium levels and prescription of phosphate binders in chronic hemodialysis patients. *Nephron*, 2018,140(3), s. 211-217 [\[odkaz\]](#)
16. **Whicher, J. T., Price, C. P., Spencer, K.** Immunonephelometric and immunoturbidimetric assays for proteins. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 1983, 18(3), s. 213-260. [\[odkaz\]](#)
17. **Mabuchi, H., Nakahashi, H.** Underestimation of serum albumin by the bromocresol purple method and a major endogenous factor in uremia. *Clin. Chim. Acta*, 1987, 167, s. 89-96 [\[odkaz\]](#)
18. **Karlqvist, J. H., Flodin, M., Havelka, A. M., Xu, X. Y., Larsson, A.** The Roche immunoturbidimetric albumin method on Cobas c501 gives higher values than the Abbott and Roche BCP methods when analyzing patient plasma samples. *J. Clin. Lab. Anal.*, 2016, 30, s. 677-681. [\[odkaz\]](#)
19. **Hegen, H., Auer, M., Zeileis, A., Deisenhammer, F.** Upper reference limits for cerebrospinal fluid total protein and albumin quotient based on a large cohort of control patients: implications for increased clinical specificity. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2016, 54, s. 285-289 [\[odkaz\]](#)
20. **Thompson, E. J.** Quality versus quantity: Which is better for cerebrospinal fluid IgG? *Clin. Chem.*, 2004, 50(10), s. 1721-1722. [\[odkaz\]](#)

21. **Kelbich, P.** Jsem skeptický vůči výpočtům intrathekální syntézy imunoglobulinů. *Klin. Biochem. Metab.*, 2012, roč. 20(41), č. 3, s.133. [\[odkaz\]](#)
22. **Hottenrott, T., Schorb, E., Fritsch, K. et al.** The MRZ reaction and a quantitative intrathecal IgG synthesis may be helpful to differentiate between primary central nervous system lymphoma and multiple sclerosis. *J. Neurol.*, 2018, 265(5), s. 1106-1114. [\[odkaz\]](#)
23. **Gasperi, C., Salmen, A., Antony, G. et al.** Association of intrathecal immunoglobulin G synthesis with disability worsening in multiple sclerosis. *JAMA Neurol.*, 2019, 76(7), s. 841-849. [\[odkaz\]](#)
24. **Akaishi, T., Takahashi, T., Fujihara, K. et al.** Impact of intrathecal IgG synthesis on neurological disability in patients with multiple sclerosis. *Mult. Scler. Rel. Disord.*, 2020, 45, 102382 [\[odkaz\]](#)
25. **Oechtering, J., Schaedelin, S., Benkert, P. et al.** Intrathecal immunoglobulin M synthesis is an independent biomarker for higher disease activity and severity in multiple sclerosis. *Ann. Neurol.*, 2021, 90(3), s. 477-489 [\[odkaz\]](#)
26. **Reiber, H.** External Quality Assessment in clinical neurochemistry: Survey of analysis for cerebrospinal fluid (CSF) proteins based on CSF/Serum quotients. *Clin. Chem.*, 1995, 41(2), s. 256-263 [\[odkaz\]](#)
27. **Reiber, H., Thompson, E. J., Grimsley, G. et al.** Quality assurance for cerebrospinal fluid protein analysis: International consensus by an internet-based group discussion. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2003, 41(3), s. 331-337. [\[odkaz\]](#)

Autoři prohlašují, že nejsou ve střetu zájmů.

Autoři děkují firmám The Binding Site a Roche za poskytnutí souprav pro imunoturbidimetrické stanovení albuminu v likvoru a séru na analyzátoru Optilite, resp. pro stanovení albuminu v séru metodou s bromkrezolovým purpurem na analyzátoru Cobas 8000.

Do redakce došlo 15. 9. 2022

Adresa pro korespondenci:
MUDr. Ing. David Zeman, Ph.D.
Laboratoř likvorologie a analýzy proteinů
Ústav laboratorní medicíny – OKB, FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
e-mail: zeman.david@fnbrno.cz