

## Προβλεπόμενη χρήση

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της ολικής πρωτεΐνης σε ούρα. **Rx Only**.

## Κλινική σημαντικότητα

Η παρουσία πρωτεΐνης στα ούρα είναι ένας εξαιρετικά ευαίσθητος δείκτης νεφρικών διαταραχών. Υπάρχουν τέσσερις τρόποι με τους οποίους η ποσότητα της πρωτεΐνης στα ούρα μπορεί να αυξηθεί: αυξημένη σπειραματική διαπερατότητα, δυσλεπτογενική σπληνική επαναπορρόφηση, αυξημένη συγκέντρωση στο πλάσμα μιας μη φυσιολογικής πρωτεΐνης χαμηλού μοριακού βάρους, και μη φυσιολογική έκκριση πρωτεΐνης στο ουροποιητικό σύστημα.<sup>1</sup> Η λευκωματούρια, η αυξημένη, δηλαδή, ποσότητα λευκωματίνης στα ούρα, έχει αναγνωριστεί ως δείκτης για την πρώιμη ανίχνευση νεφρικής βλάβης σε περιπτώσεις διαβήτη, η οποία μπορεί να αναστραφεί αν ανιχνευτεί και αντιμετωπιστεί έγκαιρα.<sup>2</sup>

## Ιστορικό μεθόδου

Έχουν περιγραφεί διάφορες μέθοδοι για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων πρωτεΐνης στα βιολογικά υγρά. Οι μέθοδοι αυτοί βασίζονται σε χρωματομετρικές, φθλωσιμετρικές, ηλεκτροφορητικές ή ανοσολογικές διαδικασίες.<sup>3,4</sup> Οι μέθοδοι δέσμευσης της χρωστικής θεωρείται ότι προσφέρουν καλό επίπεδο ακριβείας και ευαισθησίας. Η μέθοδος Coomassie Blue<sup>5</sup> έχει εξαιρετικά υψηλό επίπεδο ευαισθησίας, αλλά τα αντιδραστήρια δημιουργούν λεκέδες σε γυάλινο και πλαστικό εξοπλισμό.

Αυτή η μέθοδος βασίζεται στη διαδικασία που ανέπτυξαν οι Fujita<sup>6</sup> και Watanabe.<sup>7</sup> Είναι μια υψηλής ευαισθησίας χρωματομετρική μέθοδος δέσμευσης της χρωστικής στην οποία χρησιμοποιείται κόκκινο της πυρογαλλόλης. Η μέθοδος αυτή σπάνια λεκιάζει τις κυβέτες ή τις πλαστικές σωληνώσεις και μπορεί να αυτοματοποιηθεί.

## Αρχή της διαδικασίας

Το κόκκινο της πυρογαλλόλης συνδυάζεται με μολυβδαινικό οξύ σε χαμηλό pH. Όταν το σύμπλοκο συνδυάζεται με πρωτεΐνη, δημιουργείται ένα μπλε-μωβ χρώμα. Η αύξηση της απορρόφησης στα 600 nm είναι ευθέως ανάλογη της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης στο δείγμα.

## Αντιδραστήρια

1. MICROPROTEIN REAGENT: Περιέχει ρυθμιστικό διάλυμα, κόκκινο της πυρογαλλόλης 0,067 mmol/L, σταθεροποιητή από μολυβδαινικό νάτριο 0,153 mmol/L, επιφανειοδραστικούς παράγοντες και συντηρητικό.
2. PROTEIN STANDARD SOLUTION: Περιέχει λευκωματίνη 50 mg/dL σε φυσιολογικό ορό με αζίδιο του νατρίου 0,05% ως συντηρητικό.

## Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Το Microprotein Reagent και το διάλυμα Protein Standard παρέχονται έτοιμα για χρήση.

## Αποθήκευση αντιδραστηρίων

Αποθηκεύετε το Microprotein Reagent και το Protein Standard υπό ψύξη (2-8°C). Το αντιδραστήριο και το πρότυπο είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στις ετικέτες.

## Προφυλάξεις

1. Το Microprotein Reagent προορίζεται μόνο για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
2. Πρέπει να λαμβάνονται οι φυσιολογικές προφυλάξεις για τον χειρισμό εργαστηριακών αντιδραστηρίων.
3. Το Protein Standard περιέχει αζίδιο του νατρίου. Απαγορεύεται η κατάποση. Μπορεί να αντιδράσει με τον μόλυβδο ή τον χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων, σχηματίζοντας εξαιρετικά εκρηκτικά αζίδια μετάλλου. Κατά την απόρριψη, ξεπλύνετε με μεγάλες ποσότητες νερού για την αποφυγή συσσώρευσης αζιδίου.

## Αλλοίωση αντιδραστηρίου/προτύπου

Το αντιδραστήριο και το πρότυπο πρέπει να είναι διαυγή. Μην τα χρησιμοποιήσετε σε περίπτωση θολερότητας. Η μη επίτευξη των τιμών μάρτυρα της δοκιμασίας προσδιορισμού ενδέχεται να υποδεικνύει αλλοίωση του αντιδραστηρίου ή/και του προτύπου. Μην το χρησιμοποιήσετε αν η απορρόφηση του αντιδραστηρίου στα 600 nm είναι κάτω από 0,100.

## Συλλογή και αποθήκευση δειγμάτων

Συνιστάται η συλλογή του δείγματος να πραγματοποιηθεί σύμφωνα με το έγγραφο NCCLS M29-T2. Τα δείγματα που περιέχουν ορατά σωματίδια πρέπει να διαυγάζονται με φυγοκέντρηση πριν από την εξέταση.

ΟΥΡΑ: Οι εξετάσεις εκτελούνται σε δείγματα ούρων 24ώρου. Τα ούρα δεν πρέπει να συλλέγονται κατά τη διάρκεια περιόδων σωματικής άσκησης, λόγω της επίδρασης της άσκησης στη συγκέντρωση λευκωματίνης. Οι προσδιορισμοί πρωτεΐνης πρέπει να εκτελούνται με φρέσκα δείγματα. Αν η εξέταση δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί με φρέσκα ούρα, τα δείγματα μπορούν να φυλαχθούν στους -20°C για έως και ένα έτος.<sup>8</sup>

NOTE: Η αιμοσφαιρίνη μπορεί να αυξήσει τις ανακτηθείσες τιμές της ολικής πρωτεΐνης, ΜΗΝ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΕΙΤΕ δείγματα που περιέχουν αίμα.

## Αλληλεπιδράσεις

Συνιστάται να μην χρησιμοποιείτε δείγματα ούρων που έχουν πρόσθετα συντηρητικά, καθώς ορισμένα πρόσθετα συντηρητικά, όπως το HCL και το βενζοϊκό οξύ, έχει αποδειχθεί ότι δημιουργούν παρεμβολές στη δοκιμασία προσδιορισμού της πρωτεΐνης και οδηγούν σε ψευδώς χαμηλά αποτελέσματα.<sup>7</sup> Η χολερυθρίνη έως 20 mg/dL και το ασκορβικό οξύ έως 3,0 mg/dL έχει βρεθεί ότι δεν δημιουργούν παρεμβολές στη δοκιμασία προσδιορισμού. (Απόκλιση κάτω του 3,0% για δείγματα με εύρος 130,0-132,0 mg/dL και κάτω του 17% για δείγματα με εύρος 9,2-12,5 mg/dL.) Καθώς η αιμοσφαιρίνη είναι πρωτεΐνη, θα αυξήσει τις ανακτηθείσες τιμές ολικής πρωτεΐνης. Η διακύμανση του pH βρέθηκε ότι δεν είχε καμία επίδραση στον προσδιορισμό της ολικής πρωτεΐνης. Η επίδραση της διακύμανσης του ειδικού βάρους δεν αξιολογήθηκε. Ορισμένα φάρμακα και ορισμένες φαρμακευτικές αγωγές ενδέχεται να προκαλούν παρεμβολές, βλ. Fujita.<sup>6</sup>

## Παρεχόμενα υλικά

1. Microprotein Reagent
2. Protein Standard Solution

## Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται

1. Συσκευή αναρρόφησης με πιπέτα ακριβείας.
2. Δοκιμαστικά σωληνάρια/υποδοχείας
3. Υδατόλουτρο ή μονάδα θέρμανσης (37°C)
4. Χρονόμετρο.
5. Φασματοφωτόμετρο με δυνατότητα ανάγνωσης στα 600 nm.

## Διαδικασία (Αυτοματοποιημένη)

Οι διαδικασίες εφαρμογής είναι διαθέσιμες για διακριτά αυτοματοποιημένα όργανα. Επικοινωνήστε με το Τμήμα τεχνικής εξυπηρέτησης.

## Διαδικασία (χειροκίνητη)

1. Τοποθετήστε στα δοκιμαστικά σωληνάρια ετικέτες "Τυφλό", "Πρότυπο", "Μάρτυρας", "Δείγματα", κ.λπ.
2. Προσθέστε με πιπέτα 1,0 mL Microprotein Reagent σε κάθε σωληνάριο.
3. Αφήστε τα σωληνάρια να έρθουν στους 37°C.
4. Προσθέστε με πιπέτα 0,02 mL (20  $\mu$ L) αποιονισμένο νερό, πρότυπο διάλυμα, μάρτυρες και δείγματα στα σωληνάρια με την αντίστοιχη ετικέτα.
5. Αφήστε τα σωληνάρια να επωαστούν στους 37°C για 5 λεπτά.
6. Μετά από 5 λεπτά, ρυθμίστε το φασματοφωτόμετρο στα 600 nm και μηδενίστε το όργανο με το σωληνάριο ΤΥΦΛΟΥ.
7. Διαβάστε και καταγράψτε την τιμή απορρόφησης (Abs) για το πρότυπο διάλυμα, τους μάρτυρες και τα δείγματα.
8. Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης μικροπρωτεΐνης των δειγμάτων, ανατρέξτε στην ενότητα "Υπολογισμοί".

## Βαθμονόμηση

Χρησιμοποιήστε ένα οδατικό πρότυπο πρωτεΐνης (ιχνηλάσιμο στο NIST SRM 927c).

## Ποιοτικός έλεγχος

Σε αυτήν τη διαδικασία πρέπει να εφαρμόζεται τυπική πρακτική για τον ποιοτικό έλεγχο. Πρέπει να χρησιμοποιούνται μάρτυρες ούρων του εμπορίου (2 επιπέδων) για την παρακολούθηση των ημερήσιων αποδεκτών αποκλίσεων. Ικανοποιητικό επίπεδο απόδοσης επιτυγχάνεται όταν οι τιμές της αναλυόμενης ουσίας που λαμβάνονται βρίσκονται εντός του αποδεκτού εύρους που έχει καθοριστεί από το εργαστήριο.

## Υπολογισμοί

Οι τιμές πρωτεΐνης εκφράζονται ως mg/dL.

$$\text{Πρωτεΐνη (mg/dL)} = \frac{\text{\textit{Άνν. απόρρ.}}}{\text{\textit{Απόρρ. πρ.}}} \times \text{\textit{Συγκ. πρ.}}$$

Όπου:

\textit{Άνν. απόρρ.} = Η απορρόφηση του άγνωστου δείγματος

\textit{Απόρρ. πρ.} = Η απορρόφηση του προτύπου

\textit{Συγκ. πρ.} = Η συγκέντρωση του προτύπου (50 mg/dL)

Παράδειγμα:

Απορρόφηση αγνώστου = 0,085

Απορρόφηση προτύπου = 0,195

\textit{Συγκ. πρ.} = 50 mg/dL

$$\text{Πρωτεΐνη (mg/dL)} = \frac{0,085}{0,195} \times 50 = 21,8 \text{ mg/dL}$$

# Σετ αντιδραστηρίων Pointe Microprotein

Για τον προσδιορισμό της πρωτεΐνης σε ούρα 24ώρου, μετρήστε τον συνολικό όγκο των ούρων 24ώρου σε mL (ΣΟ) και υποβάλετε σε δοκιμασία προσδιορισμού το περιεχόμενο πρωτεΐνης των ούρων (mg/dL). Υπολογίστε την πρωτεΐνη σε ούρα 24ώρου με τον παρακάτω τύπο:

$$\text{Πρωτεΐνη (mg/ημέρα)} = \frac{\text{Πρωτεΐνη (mg/dL)} \times \text{ΣΟ}}{100}$$

Όπου: ΣΟ = Συνολικός όγκος πρωτεΐνης σε ούρα 24ώρου σε mL  
100 = μετατρέπει mL/ημέρα σε dL/ημέρα

## Μονάδες S.I.

Για τη μετατροπή των αποτελεσμάτων σε μονάδες S.I., πολλαπλασιάστε τη συγκέντρωση μικροπρωτεΐνης (mg/dL) επί 0,0100. Για παράδειγμα, η συγκέντρωση μικροπρωτεΐνης = 21,8 mg/dL x 0,0100 = 0,218 g/L.

## Αναμενόμενες τιμές<sup>6,7</sup>

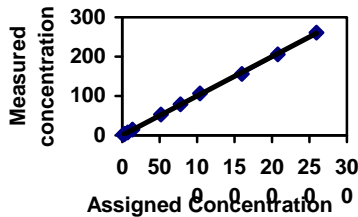
Πρωτεΐνη ούρων 24ώρου 28-141 mg/ημέρα  
Τυχαία ούρα Κάτω από 10 mg/dL

**ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Κάθε εργαστήριο πρέπει να επιβεβαιώσει την εγκυρότητα για τα εύρη διαστημάτων που αναγράφονται σε σχέση με τον πληθυσμό που εξυπηρετεί.

## Επίδοση

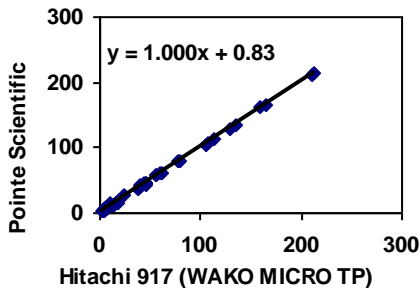
- Εύρος δοκιμασίας προσδιορισμού: Η διαδικασία Microprotein έχει εύρος δοκιμασίας προσδιορισμού 2,0-250 mg/dL. Τα δείγματα που υπερβαίνουν τα 250 mg/dL πρέπει να αραιώνονται με ίσο όγκο ισοτονικού φυσιολογικού ορού και να υποβάλλονται εκ νέου σε δοκιμασία προσδιορισμού. Πολλαπλασιάστε το αποτέλεσμα επί 2 για την αντιστάθμιση της αραιώσης.
- Για τη γραμμικότητα χρησιμοποιήθηκαν έντεκα γνωστές συγκεντρώσεις από 1,23 έως 259,43 mg/dL. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε αναλυτή Roche Hitachi 917. Στο γράφημα εμφανίζεται η ανάκτηση.

Γράφημα γραμμικότητας



- Ευαισθησία: Βάσει της ανάλυσης της απορρόφησης του οργάνου, η οποία είναι 0,001, αυτή η διαδικασία έχει ευαισθησία 0,250 mg/dL. Το όριο ανίχνευσης βρέθηκε ότι είναι 2,0 mg/dL κατά τη βιοχημική ανάλυση της απορρόφησης στα 600 / 700 nm (χημικός αναλυτής Hitachi 917).
- Σύγκριση: Οι μελέτες μεταξύ της παρούσας μεθόδου και μιας παρόμοιας μεθόδου (Wako AutoKit Micro TP σε Hitachi 917) έδωσαν συντελεστή συσχέτισης 0,9997 και εξίσωση παλινδρόμησης  $y = 1,000x + 0,83$ . Στη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 55 δείγματα με εύρος 2,5-213,3 mg/dL. Στο γράφημα εμφανίζεται η ανάκτηση.

Διάγραμμα συσχέτισης



- Ακρίβεια: Οι μελέτες πραγματοποιήθηκαν σε αναλυτή Roche Hitachi 917. Η ακρίβεια της δοκιμασίας προσδιορισμού αξιολογήθηκε βάσει μιας τροποποίησης του πρωτοκόλλου NCCLS EPT-T2. Τα δεδομένα ακριβείας εντός της ανάλυσης ελήφθησαν μέσω της ανάλυσης τριών δειγμάτων σε επαναλήψεις των 20 την ίδια ημέρα. Τα δεδομένα μεταξύ των αναλύσεων ελήφθησαν μέσω της ανάλυσης τριών δειγμάτων σε επαναλήψεις των πέντε σε διάστημα τριών ημερών.

## Ούρα εντός ανάλυσης (N=20)

Μέση τιμή	S.D.	C.V.%
8,7	0,7	8,6
121,8	2,1	1,7
240,3	1,7	0,7

## Ούρα μεταξύ αναλύσεων (N=20)

Μέση τιμή	S.D.	C.V.%
10,2	0,9	8,6
127,0	1,6	1,2
242,5	2,4	1,0

## Βιβλιογραφία

- Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry. W.B. Saunders, Philadelphia p. 608, 1986.
- Viberti, G.C., Pickup, J.C., Jarrett, R.J., Keon, H., N Engl J Med. 300:638-41 1979.
- Grant, G.H., Kachmer, J.F.: Fundamentals of Clinical Chemistry. N.W. Tietz, Editor, W.B. Saunders, Philadelphia, pp. 358-374, 1976.
- Cannon, D.C., Olitzky, I., Inkpen, J.A.: Clinical Chemistry – Principles and Technics, 2nd Ed., R.J. Henry, D.C. Cannon, J.W. Winkelman, Editors, Harper & Row, New York, pp. 442-431, 1974.
- Pesce, M.A., Strande, C.S., Clin Chem 19:1265-1267, 1973.
- Fujita, Y., Mori, I., Kitano, S. Color reaction between pyrogallol red-molybdenum (VI) complex and protein. Bunseki Kagaku 32: E379-E386, 1983.
- Watanabe, N., Kamel, S., Ohkubo, A., Yamakura, M., Clin Chem 32:1551-1554, 1986.
- Tietz, N.W.: Clinical Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunders, Phil. P.470, 1990.

## Υπόμνημα συμβόλων

Χρήση έως (EEEE-MM-HH)	Παρτίδα και κωδικός παρτίδας
Αριθμός καταλόγου	Κατασκευαστής
In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν	Όρια θερμοκρασίας
Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης	<b>Rx Only:</b> Χρήση μόνο με ιατρική συνταγή
Σήμανση CE	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα

P7582

Παρασκευάζεται από  
HORIBA Instruments Incorporated  
5449 Research Drive  
Canton, MI 48188

2°C 8°C

Παρασκευάζεται για την HORIBA Instruments Incorporated: Pointe Brand  
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρώπη:  
Obelis s.a.  
Boulevard Général Wahis 53  
1030 Brussels, BE/ΓΙΟ  
Τηλ.: (32)2.732.59.54 Φαξ (32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



## Αντιδραστήρια πιστοποιημένα ως προς την απόδοση

Τα αντιδραστήρια της Pointe είναι πιστοποιημένα για παρασκευή σύμφωνα με καθορισμένες παραμέτρους. Οποιοδήποτε προϊόν αντιδραστηρίου της Pointe δεν πληροί τις προδιαγραφές έως την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης του θα αποκαθίσταται αμέσως χωρίς χρέωση.

Αναθ. 07/22 P803-P7582-01