

Utilizarea prevăzută

Pentru determinarea cantitativă a proteinelor totale din urină. **Rx Only.**

Semnificația clinică

Prezența proteinelor în urină este un indicator foarte sensibil al tulburărilor renale. Există patru moduri prin care pot apărea cantități crescute de proteine: permeabilitate glomerulară crescută; reabsorbție tubulară defectuoasă; concentrație plasmatică crescută a unei proteine anormale, cu masă moleculară mică; și secreție anormală de proteine în tractul urinar.¹ Albuminuria, cantități crescute de albumină în urină, a fost recunoscută ca un indicator precoce al afectării renale în diabet, care poate fi inversată dacă este detectată și tratată din timp.²

Istoricul metodei

Au fost descrise diferite metode pentru determinarea concentrațiilor de proteine din fluidele biologice. Aceste metode se bazează pe proceduri colorimetrice, turbidimetrice, electroforetice sau imunologice.^{3,4} Metodele de legare a coloranților sunt caracterizate ca având o precizie și sensibilitate bună. Metoda Albastru de Coomassie⁵ este foarte sensibilă, dar reactivii pătează vasele din sticlă și plastic.

Metoda se bazează pe procedura dezvoltată de Fujita⁶ și Watanabe.⁷ Este o metodă, sensibilă de legare a coloranților care utilizează roșu de pirogalol. Metoda colorează rareori cuvețele sau tuburile de plastic și poate fi automatizată.

Principiul

Roșu de pirogalol este combinat cu acidul de molibden la un pH scăzut. Când complexul este combinat cu proteine, se formează o culoare albastru-violet. Creșterea absorbției la 600 nm este direct proporțională cu concentrația de proteine din probă.

Reactivi

1. REACTIV MICROPROTEINE: Conține soluție tampon, roșu de pirogalol 0,067 mmol/L, stabilizator molibdat de sodiu 0,153 mmol/L, surfactanți și conservant.
2. SOLUȚIE PROTEICĂ STANDARD: Conține albumină 50 mg/dL cu azidă de sodiu 0,05% drept conservant.

Prepararea reactivului

Reactivul de microproteine și soluția proteică standard sunt furnizate gata de utilizare.

Depozitarea reactivului

Depozitați reactivul de microproteine și soluția proteică standard la frigider (2-8°C). Reactivul și standardul sunt stabili până la data de expirare indicată pe etichetă.

Precauții

1. Reactivul de microproteine este doar pentru diagnostic *in vitro*.
2. Trebuie respectate precauțiile normale pentru manipularea reactivilor de laborator.
3. Soluția proteică standard conține azidă de sodiu. A nu se ingera. Poate reacționa cu cuprul sau plumbul, formând azide metalice foarte explozive. La eliminare, spălați cu multă apă pentru a preveni acumularea azidei.

Deteriorarea reactivului/standardului

Reactivul și standardul trebuie să fie transparenți. Nu utilizați în caz de turbiditate. Neatingerea valorilor soluțiilor de control testate poate indica deteriorarea reactivului sau standardului. Nu utilizați dacă absorbția reactivului la 600 nm este sub 0,100.

Recoltarea și depozitarea speciemenelor

Se recomandă ca recoltarea speciemenelor să se realizeze conform documentului NCCLS M29-T2. Speciemenele care conțin particule vizibile trebuie clarificate prin centrifugare înainte de testare.

URINĂ: Testele se efectuează pe probe recoltate în 24 de ore. Urina nu trebuie colectată în timpul perioadelor de exerciții fizice, din cauza efectului acestora asupra concentrației de albumină. Determinările proteinelor trebuie realizate cu specieme proaspete. Dacă testul nu poate fi efectuat cu urină proaspătă, speciemenele pot fi depozitate la -20°C până la un an.⁸ NOTĂ: Hemoglobina

poate crește valorile obținute ale proteinelor totale, NU UTILIZAȚI probe care conțin sânge.

Interacțiuni

Se recomandă să nu folosiți probe de urină cu conservanți adăugați, deoarece s-a dovedit că unii conservanți adăugați, cum ar fi HCL și acidul benzoic, interferează în analiza proteinelor, dând rezultate fals scăzute.⁷ S-a constatat că bilirubina la un nivel de 20 mg/dL și acidul ascorbic până la un nivel de 3,0 mg/dL nu interferează cu testul. (Abateri sub 3,0% pentru probele din intervalul 130,0-132,0 mg/dL și sub 17% pentru probele măsurate în intervalul 9,2-12,5 mg/dL) Hemoglobina fiind o proteină, va crește valorile obținute ale proteinelor totale. S-a constatat că variația pH-ului nu are niciun efect asupra determinării proteinelor totale. Efectele variației gravitației specifice nu au fost evaluate. Anumite substanțe și medicamente pot interfera, consultați Fujita.⁶

Materiale furnizate

1. Reactiv microproteine
2. Soluție proteică standard

Materiale necesare, dar nefurnizate

1. Dispozitive de pipetare precise.
2. Tuburi de testare/rack
3. Baie de apă sau bloc de încălzire (37°C)
4. Cronometru.
5. Spectrofotometru capabil să măsoare la 600 nm.

Procedură (automată)

Procedurile aplicațiilor sunt disponibile pentru diverse instrumente automate discrete. Contactați serviciul tehnic.

Procedură (manuală)

1. Etichetați tuburile de testare „Martor”, „Standard”, „Soluție de control”, „Probe” etc.
2. Pipetați 1,0 mL de reactiv de microproteine în fiecare tub.
3. Lăsați tuburile să se încălzească la 37°C.
4. Pipetați 0,02 mL (20 uL) de apă deionizată, standard, soluții de control și probe în tuburile etichetate corespunzător.
5. Lăsați să incubeze la 37°C timp de 5 minute.
6. După 5 minute, setați spectrofotometrul la 600 nm și setați instrumentul la zero cu tubul MARTOR.
7. Citiți și înregistrați absorbția (Abs) standardului, a soluțiilor de control și a probelor.
8. Pentru a determina concentrația de microproteine a probelor, consultați secțiunea „Calculare”.

Calibrarea

Utilizați o soluție proteică standard apoasă (trasabilă conform NIST SRM 927c).

Controlul calității

Pentru această procedură trebuie aplicată practica standard pentru controlul calității. Soluțiile de control pentru urină disponibile pe piață (2 niveluri) trebuie utilizate pentru a monitoriza variațiile acceptabile zilnice. Un nivel de performanță satisfăcător este atins când valorile obținute ale analitului se încadrează în intervalul acceptabil stabilit de laborator.

Calculare

Valorile proteinelor sunt exprimate ca mg/dL.

$$\text{Proteine (mg/dL)} = \frac{\text{Abs necunoscută}}{\text{Abs Std.}} \times \text{Conc. std.}$$

Unde:

Abs necunoscută = Absorbția probei necunoscute

Abs Std. = Absorbția standardului

Conc. std. = Concentrația standardului (50 mg/dL)

Exemplu:

Abs necunoscută = 0,085

Abs std = 0,195

Conc. std. = 50 mg/dL

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

Pointe Microprotein Set de reactivi

Pentru a determina proteinele urinare pe 24 de ore, măsurați volumul total de urină pe 24 de ore în mL (TV) și analizați conținutul de proteine din urină (mg/dL). Calculați proteinele urinare pe 24 de ore folosind următoarea formulă:

$$\text{Proteine (mg/zi)} = \text{Proteine (mg/dL)} \times \frac{\text{TV}}{100}$$

Unde: TV = volumul total de urină pe 24 de ore în mL
100 = transformă mL/zi în dL pe zi

Unități SI

Pentru a transforma rezultatele în unități SI, înmulțiți concentrația de microproteine (mg/dL) cu 0,0100. De exemplu, concentrația de microproteine = 21,8 mg/dL x 0,0100 = 0,218 g/L.

Valori așteptate ^{6,7}

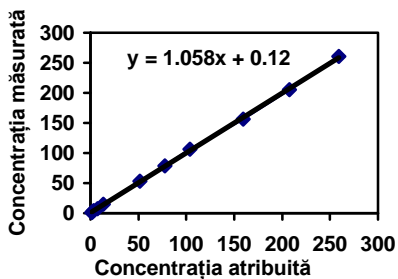
Proteine urinare pe 24 de ore 28 - 141 mg/zi
Urină aleatorie Sub 10 mg/dL

NOTĂ: Fiecare laborator trebuie să confirme validitatea intervalelor indicate pentru populația pe care o deserveste.

Performanță

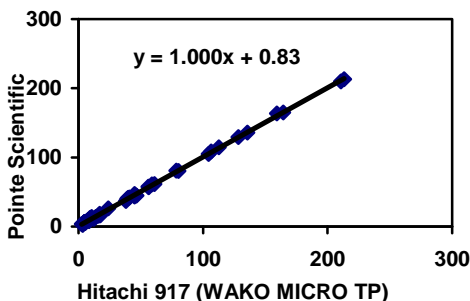
- Interval test: Procedura pentru microproteine are un interval de testare de 2,0 - 250 mg/dL. Probele cu valori care depășesc 250 mg/dL trebuie diluate cu un volum egal de soluție salină izotonică și testate din nou. Înmulțiți rezultatul cu 2 pentru a compensa diluția.
- Linearitatea a fost realizată folosind unsprezece concentrații cunoscute între 1,23 și 259,43 mg/dL. Studiul a fost efectuat pe un analizor Roche Hitachi 917. Este afișată recuperarea grafică.

Grafic linearitate



- Sensibilitate: Pe baza unei rezoluții a absorbției instrumentului de 0,001, această procedură are o sensibilitate de 0,250 mg/dL. Limita de detecție a fost identificată la 2,0 mg/dL când absorbția a fost măsurată bicromatic la 600/700 nm (analizor de chimie Hitachi 917).
- Comparație: Studiile comparative între această metodă și o metodă similară (Wako Autokit Micro TP efectuată pe Hitachi 917) a dus la un coeficient de corelare de 0,9997 și o ecuație de regresie liniară $y=1,000x+0,83$. În studiu au fost utilizate 55 probe cu un interval 2,5 - 213,3 mg/dL. Este afișată recuperarea grafică.

Grafic corelare



- Precizie: Studii efectuate pe un analizor Roche Hitachi 917. Precizia testului a fost evaluată în urma unei modificări a protocolului NCCLS EPT-T2. Precizia în cadrul ciclului de procesare a fost obținută prin procesarea a trei probe cu 20 de repetări în aceeași zi. Precizia între ciclurile de procesare a fost obținută prin procesarea a trei probe cu cinci repetări într-o perioadă de trei zile.

Urina în cadrul ciclului de procesare (N=20)

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

Urina între ciclurile de procesare (N=20)

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

Referințe

- 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., Yamakna, M., Clin Chem 32:1551-1554, 1986.
- Tietz, N.W.; Clinical Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunders, Phil. P.470, 1990.

Legendă simboluri

Rx Only: Numai pentru utilizare pe bază de prescripție medicală	

Produs de
HORIBA Instruments Incorporated
5449 Research Drive
Canton, MI 48188



Produs de HORIBA Instruments Incorporated: Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Reprezentant autorizat în Europa:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Bruxelles, BELGIA

Tel: (32)2.732.59.54 Fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Certificat pentru efectuarea reactivilor

Reactivii Pointe sunt certificați ca fiind fabricați în conformitate cu parametrii specificați. Orice produs reactiv Pointe care nu îndeplinește specificațiile prin data de expirare indicată va fi remediat imediat fără niciun cost suplimentar.

Rev. 06/23 P803-P7582-01-RO