

Przeznaczenie

Do ilościowego oznaczania białka całkowitego w moczu. **Rx Only.**

Znaczenie kliniczne

Obecność białka w moczu jest bardzo czułym wskaźnikiem zaburzeń czynności nerek. Istnieją cztery przyczyny występowania zwiększonej ilości białka: zwiększona przepuszczalność kłębuszków nerkowych; wadliwa resorpcja kanalikowa; zwiększone stężenie w osoczu nieprawidłowego białka o małej masie cząsteczkowej; i nieprawidłowe wydzielanie białka do dróg moczowych.¹ Albuminuria, zwiększona ilość albumin w moczu, została uznana za wczesny wskaźnik uszkodzenia nerek u cukrzycy, które można odwrócić, jeśli zostanie wcześniej wykryte i leczone.²

Historia metody

Opisano różne metody oznaczania stężeń białek w płynach biologicznych. Metody te opierają się na procedurach kolorymetrycznych, turbidymetrycznych, elektroforetycznych lub immunologicznych.^{3,4} Metody wiązania barwnika charakteryzują się dobrą precyzją i czułością. Metoda Coomassie Blue⁵ jest bardzo czuła, ale odczynniki barwią naczynia szklane i plastikowe.

Metoda ta opiera się na procedurze opracowanej przez Fujita⁶ i Watanabe.⁷ Jest to czuła metoda kolorymetryczna wiążąca barwnik, wykorzystująca czerwień pirogalolową. Ta metoda rzadko powoduje plamienie kuwet lub plastikowych rurek i może być zautomatyzowana.

Zasada

Pyrogalol Red jest łączony z kwasem molibdenowym przy niskim pH. Gdy kompleks łączy się z białkiem, powstaje niebiesko-fioletowy kolor. Wzrost absorbancji przy 600 nm jest wprost proporcjonalny do stężenia białka w próbce.

Odczynniki

1. MICROPROTEIN REAGENT: Zawiera bufor, czerwień pirogalolową 0,067 mmol/l, stabilizator molibdenian sodu 0,153 mmol/l, środki powierzchniowo czynne i konserwant.
2. PROTEIN STANDARD SOLUTION: Zawiera albuminę 50 mg/dl w soli fizjologicznej z azydkiem sodu 0,05% jako środkiem konserwującym.

Przygotowanie odczynnika

Odczynnik Microprotein i standardowy roztwór białka są gotowe do użycia.

Przygotowanie odczynnika

Przechowywać odczynnik Microprotein i standard białka w lodówce (2-8°C).

Odczynnik i wzorzec są stabilne do daty ważności podanej na etykietach.

Środki ostrożności

1. Odczynnik Microprotein jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki in vitro.
2. Należy przestrzegać zwykłych środków ostrożności stosowanych przy obchodzeniu się z odczynnikami laboratoryjnymi.
3. Standard białka zawiera azydek sodu. Nie spożywać. Może reagować z ołowianymi lub miedzianymi instalacjami rurowymi, tworząc wysoce wybuchowe azydki metali. Podczas usuwania słuwać dużą ilością wody, aby zapobiec gromadzeniu się azydku.

Pogorszenie jakości odczynnika/standardu

Odczynnik i standard powinny być klarowne. Nie używać, jeśli jest mętny. Nieosiągnięcie oznaczonych wartości kontrolnych może wskazywać na pogorszenie jakości odczynnika i/lub standardu. Nie używać, jeśli absorbancja odczynnika przy 600 nm jest mniejsza niż 0,100.

Pobieranie i przechowywanie próbek

Zaleca się, aby pobieranie próbek odbywało się zgodnie z dokumentem NCCLS M29-T2. Próbkę zawierającą widoczne cząstki stałe należy przed badaniem odwirować.

MOCZ: Testy przeprowadza się na dobowej zbiorce moczu. Moczu nie należy pobierać w okresie wzmożonego wysiłku ze względu na wzrost stężenia albumin. Oznaczenie białka należy wykonywać na świeżych próbkach. Jeśli nie można wykonać testu bezpośrednio po pobraniu, próbki można przechowywać w temp. -20°C przez okres 1 roku.

Explore the future

UWAGA: Hemoglobina może zwiększać wartości odzyskanego białka całkowitego, NIE UŻYWAĆ próbek zawierających krew.

Interferencje

Zaleca się, aby nie używać próbek moczu z dodatkiem środków konserwujących, ponieważ wykazano, że niektóre dodane środki konserwujące, takie jak HCL i kwas benzoesowy, zakłócają oznaczenie białka, dając fałszywie niskie wyniki.⁷ Bilirubina do poziomu 20 mg/dl i kwas askorbinowy do stwierdzono, że poziom 3,0 mg/dl nie zakłóca testu. (Mniej niż 3,0% odchylenie dla próbek w zakresie 130,0-132,0 mg/dl i mniej niż 17% dla próbek mierzonych w zakresie 9,2-12,5 mg/dl) Hemoglobina, będąc białkiem, zwiększy wartości odzyskanego białka całkowitego. Stwierdzono, że zmiany pH nie mają wpływu na oznaczanie białka całkowitego. Nie oceniano wpływu zmienności ciężaru właściwego. Niektóre leki i leki mogą przeszkadzać, patrz Fujita.⁶

Materiały wymagane

1. Odczynnik mikrobiałkowy
2. Wzorcowy roztwór białka

Materiały wymagane, niedostarczane

1. Dokładne urządzenia do pipetowania.
2. Probówki/Statyw
3. Kąpiel wodna lub blok grzewczy (37°C)
4. Minutnik.
5. Spektrofotometr z możliwością odczytu przy długości fali 600 nm.

Procedura (automatyczna)

Procedury aplikacyjne są dostępne dla różnych analizatorów automatycznych. Prosimy o kontakt z Serwisem Technicznym.

Procedura (Manualna)

1. Oznaczyć próbki etykietą „Pusta”, „Standardowa”, „Kontrolna”, „Próbki” itp.
2. Odpipetować 1,0 ml odczynnika Microprotein do każdej próbki.
3. Ogrzać próbki do 37°C.
4. Odpipetować 0,02 ml (20 ul) wody dejonizowanej, standard, kontrole i próbki do odpowiednio oznakowanych próbek.
5. Inkubować w temperaturze 37°C przez 5 minut.
6. Po 5 minutach ustaw spektrofotometr na 600nm i wyzeruj instrument za pomocą CZYSTEJ próbki.
7. Odczytaj i zapisz absorbancję (Abs) wzorca, kontroli i próbek.
8. Aby określić stężenie mikroprotein w próbkach, patrz Sekcja „Obliczenia”.

Kalibracja

Użyj wodnego standardu białka (zgodnego z NIST SRM 927c).

Kontrola jakości

Do tej procedury należy stosować standardową praktykę kontroli jakości. Do monitorowania dziennych dopuszczalnych odchyień należy stosować dostępne w handlu kontrole moczu (2 poziomy). Zadawalający poziom wydajności jest osiągany, gdy uzyskane wartości analizów mieszczą się w dopuszczalnym zakresie ustalonym przez laboratorium.

Obliczenia

Wartości białka wyrażono w mg/dl.

$$\text{Białko (mg/dl)} = \frac{\text{Abs Unk}}{\text{Abs Std.}} \times \text{Stężenie STD.}$$

Where:

Abs Unk = Absorbancja nieznannej próbki

Abs Std. = Absorbancja standardu

Stężenie STD. = Stężenie standardu (50 mg/dl)

Przykład:

Abs Unk = 0.085

Abs Std = 0.195

Stężenie STD. = 50 mg/dl

Pointe Microprotein Reagent Set

$$\text{Białko (mg/dl)} = \frac{0.085}{0.195} \times 50 = 21.8 \text{ mg/dl}$$

Aby określić 24-godzinne białko w moczu, zmierz całkowitą 24-godzinną objętość moczu w ml (TV) i oznacz zawartość białka w moczu (mg/dl). Oblicz 24-godzinne białko w moczu, korzystając z następującego wzoru:

$$\text{Białko (mg/day)} = \text{Białko (mg/dl)} \times \frac{TV}{100}$$

Gdzie: TV = objętość dobowej zbiórki moczu
100 = konwersja ml/dzień na dl/dzień

Jednostki SI

Aby przeliczyć wyniki na jednostki SI, pomnóż stężenie mikrobiałka (mg/dl) przez 0,0100. Na przykład stężenie mikrobiałka = 21,8 mg/dl x 0,0100 = 0,218 g/l.

Wartości oczekiwane 6, 7

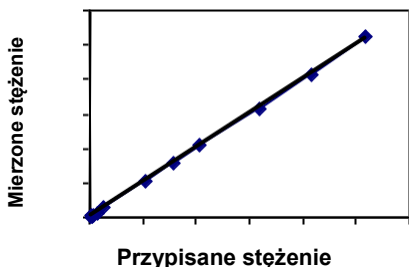
Białko w DZM 28 - 141 mg/day
Białko przygodne Poniżej 10 mg/dl

UWAGA: Każde laboratorium powinno potwierdzić ważność podanych zakresów przedziałów dla populacji, którą bada.

Wydajność

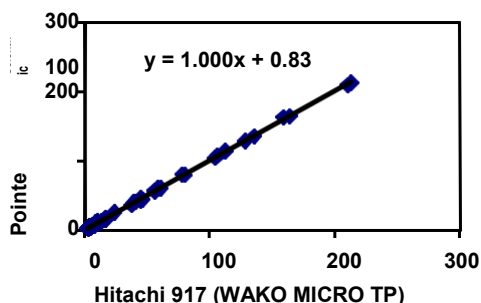
- Zakres testu: Procedura Microprotein ma zakres testu 2,0 - 250 mg/dl. Próbkę przekraczającą 250 mg/dl należy rozcieńczyć taką samą objętością izotonicznego roztworu soli i ponownie zbadać. Pomnóż wynik przez 2, aby skompensować rozcieńczenie.
- Pomiar liniowości wykonano przy użyciu jedenastu znanych stężeń w zakresie od 1,23 do 259,43 mg/dl. Badanie przeprowadzono na analizatorze Roche Hitachi 917. Wyświetlane jest odzyskiwanie graficzne.

Wykres liniowości



- Czułość: W oparciu o rozdzielczość absorbancji instrumentu wynoszącą 0,001, czułość tej procedury wynosi 0,250 mg/dl. Stwierdzono, że granica wykrywalności wynosi 2,0 mg/dl, gdy absorbancję odczytano bichromatycznie przy 600/700 nm (analizator chemiczny Hitachi 917).
- Porównanie: Badania między obecną metodą a podobną metodą (Wako Autokit Micro TP przeprowadzone na Hitachi 917) dały współczynnik korelacji 0,9997 i równanie regresji $y = 1,000x + 0,83$. W badaniu wykorzystano 55 próbek o zakresie 2,5 - 213,3 mg/dl. Wyświetlane jest odzyskiwanie graficzne.

Wykres korelacji



- Precyzja: Badania przeprowadzone na analizatorze Roche Hitachi 917. Precyzję testu oceniono po modyfikacji protokołu NCCLS EPT-T2. Dane dotyczące precyzji w ramach serii uzyskano, badając trzy próbki w powtórzeniach po 20 tego samego dnia. Dane Run to Run uzyskano, analizując trzy próbki w powtórzeniach po pięć w okresie trzech dni.

W serii (N=20)			Całkowita (N=20)		
Średnia	S.D.	C.V.%	Średnia	S.D.	C.V.%
8.7	0.7	8.6	10.2	0.9	8.6
121.8	2.1	1.7	127.0	1.6	1.2
240.3	1.7	0.7	242.5	2.4	1.0

Piśmiennictwo

- 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., Winkleman, 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.

Symbole

Termin przydatności (RRRR-MM-DD)	LOT Numer LOT i kod
Numer katalogowy	Producent
Wyłącznie do diagnostyki <i>in vitro</i>	Zakres temperatur
Zapoznaj się z instrukcją użytkownika	Rx Only: Wyłącznie do profesjonalnego użytku
Znak CE	Autoryzowany przedstawiciel na Europę

P7582	Wyprodukowano przez: HORIBA Instruments Incorporated 5449 Research Drive Canton, MI 48188	2°C - 8°C	
-------	--	-----------	--

Manufactured by HORIBA Instruments Incorporated: Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

European Authorized Representative:
Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 53
1030 Brussels, BELGIUM
Tel: (32)2.732.59.54 Fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Certyfikacja

Odczynniki Pointe są certyfikowane zgodnie z określonymi parametrami. Każdy odczynnik Pointe, który nie spełnia specyfikacji w podanym terminie ważności, zostanie natychmiast i bezpłatnie wymieniony.

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