



PROTEINE

URINA SI CSF

Metoda Colorimetrica

ENDPOINT

Doar pentru diagnosticul *in vitro*.

CONTINUT

1162005 Urina si CSF Proteina 2 x 50 mL

REF

PRINCIPIU

Metoda masoara schimbul spectrului de absorbtie, de la 460 la 600 nm, a complexului care apare, la un pH acid, intre pirogalol molibdat rosu (PRM) si grupuri de amin bazici de urina si de proteine din lichidul cerebrospinal (LCS). Intensitatea complexului colorat format este proportionala cu concentratia de proteina din proba.

PRM + Urina/CSF proteina $\xrightarrow{\text{pH } 2,5}$ PRM-complex proteina

COMPOZITIA REACTIVULUI

R1 Reactiv pirogalol. Solutie tampon de succinat 60 mmol/L pH 2.5, pirogalol rosu 0.60 mmol/L, molibdat de sodiu 0.04 mmol/L, SDS 0.08 mmol/L.

Xⁿ. R20/22 S:24/25

CAL Standard de proteina urunara. Albumina/Globulina 200 mg/dL (2g/L). Amestec de solutie tampon (80/20) pe o matrice artificiala. Biocizi.

PASTRARE SI STABILITATE

Se pastreaza **R1** la temperaturi de 15-30°C, si **CAL** odata deschis la 2-8°C. Reactivii si sunt stabili pana la data expirarii inscrisa pe eticheta.

PREPARAREA REACTIVULUI

Reactivii sunt gata de a fii folositi.

PROBE

Urina colectata fara conservanti, si fara LCS. (vezi nota).

Probe tulburi ar trebui sa fie centrifugate inainte de testare

Proteinele din urina sunt stabile pana la 8 zile la 2-8°C, si timp de 3 luni la -20°C.

Proteinele CSF sunt stabile timp de 3 zile la 2-8°C si timp de 3 luni la -20°C.

INTERFERENTE

- Interferente pozitive, in urina pacientilor aflati sub tratament cu aminoglicoside-gentamicina sau tobramicina, raportate la alte teste pirogalol au aratat ca nu au nici o influenta in aceasta formula specifica.²

- Probele colectate dupa effort, in prezenta infectiei tractului urinar, in timpul unei boli acute sau imediat dupa o interventie chirurgicala nu sunt bune de a fii testate dand rezultate false in aceste conditii.

- CSF contaminat de eritrocite din punctura traumatica a zonei lombare sau hemoragiei intracerebrale va duce la o crestere a concentratiei de proteina pana la ≈ 10 mg/L la fiecare 1000 eritrocite.³

MATERIALE FOLOSITE

- Fotometru sau colorimetru capabile sa masoare absorbanta la 600 ± 20 nm.
- Temperatura constanta in incubator setata la 37°C
- Pipete pentru masurarea reactivilor si probelor.

METODA DE LUCRU

1. Aduceti reactivii si probele la temperatura camerei.
2. Pipetati in tuburile cu eticheta:

TUBURI	Blanc	Proba	Standard
Biuret	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL
Proba	-	20 μ L	-
Standard	-	-	20 μ L

3. Amestecati si incubati tuburile 5 minute la 37°C sau timp de 10 minute la temperatura camerei.

4. Cititi absorbanta (A) a probelor si a standardului la 600 nm fata de reactivul blanc.

Culoarea este stabila timp de 30 de minute ferite de lumina.

METODA DE CALCUL

Urina

$$\frac{A_{\text{Proba}}}{A_{\text{Standard}}} \times V \times 2000 = \text{mg/24-h}$$

V = Litri de urina/24-h

2000 = mg/L standard

Urina (probe individuale), CSF

$$\frac{A_{\text{Proba}}}{A_{\text{Standard}}} \times C_{\text{Standard}} = \text{mg/dL proteina (vezi nota)}$$

Probele cu o concentratie mai mare de 400 mg/dL ar trebui sa fie diluate cu 1:2 solutie salina si amestecata din nou. Inmultiti rezultatul obtinut cu 2.

VALORI DE REFERINTA

Urina

Adulti	Probe de 24-h : < 150 mg/ 24-h Probe separate : < 25 mg/dL
--------	---

CSF

Adulti	< 45 mg/dL
Copii	< 100 mg/dL

Se recomanda ca fiecare laborator sa-si stabileasca propriile valori de referinta.

CONTROL DE CALITATE

Folosirea de standard in calcularea rezultatelor permite obtinerea unui rezultat corect independent de sistem sau de instrumentul folosit.

Pentru a asigura o calitate adecvata (QC) fiecare analiza ar trebui sa includa un set de controale (normale si anormale) avand valorile analizelor tratate ca necunoscute.





SEMNFICATIA MEDICALA

Masurarea cantitatii de proteina totala din sange este inlocuita treptat de masurarea cantitatii de albumina. Deoarece albumina este o proteina predominanta in urina s-a demonstrat (ca aceasta duce la o) existenta de sensibilitate si specificitate a schimbarilor permeabilitatii glomerulare imbunatatite.

Prezenta unei excretii urinare crescute indica o crestere a ratei de scapare transcapilara, fiind de obicei un marker a bolilor microvasculare cu toate ca acestea pot fii deasemenea alterate de factori fiziologici (exercitii, diureza si pozitia corpului) datorate hemodinamicii intrarenale alterate.

Procesul de reabsorbire tubulara este saturat si orice crestere in permeabilitatea glomerulara sau in concentratia plasmei (ex. de proteina Bence-Jones), sau scaderi in capacitatea de absorbtie datorate deteriorarii tubului proximal (ex. De la medicamente nefrotoxice) pot avea ca rezultat proteinuria.

Eliminarea constanta de albumina urinara precede si este un marker important al nefropatiei diabetice, bolii renale in faza finala, si retinopatie poliferativa in diabetul de tip I.⁵

Masurarea proteinei CSF se foloseste pentru a distinge meningita septica de cea aseptica. Concentratii de proteina > 1 g/L sunt de obicei intalnite in diagnosticul meningitei bacteriene, fungice, sau tuberculoasa.⁶

NOTA

- Probe acceptate in mod curent sunt: colectare de proba de 24-h, colectare facuta peste noapte (8-12-h), de 1-2-h, sau proba luata la prima ora a diminetii. Deoarece variatia intraindividuala si diurala este mare cel putin trei probe diferite ar trebui sa fie analizate.

- Cresterea sensibilitatii in domeniul de valoare normala de 50 µL de proba, si diluati standardul cu 1:4 (1+3) solutie salina. Folositi noua concentratie de 50 mg/dL pentru calcule.

PERFORMANTA ANALITICA

- **Linearitate.** Pana la g/dL

- **Precizie**

mg/dL	In timpul analizei*		Intre analize**	
Cantitate	64	180	65	175
SD	4.2	9.7	4.7	9.8
CV%	6.5	5.4	7.2	5.6
N	5	5	3	3

*Replicati: 5 pentru fiecare nivel

Instrument: CECIL CE 2021

**Replicati: 3 pentru fiecare nivel timp de 4 zile

- **Sensibilitate:** Folosind 1:50 proba/reactiv la 600 nm, 1 mg de proteina va produce o absorbanta neta de aproximativ 0.003.

- **Corelare:** Acest amestec (y) a fost comparat cu o metoda comerciala similara (x). Rezultatele au fost:

$$N = 30 \quad r = 0.996 \quad y = 1.194 - 3.75$$

REFERINTE

1. Orsonneau, J.L., Dovet, P., Massoubre, C., Lustenberger, P., and Bernard, S. Clin. Chem. 35: 2233 (1989).
2. Koerbin, G., Taylor, L., Dutton, J., Marshall, K, Low, P., and Potter, J.M. Clin. Chem. 47: 2183 (2001).
3. Greenlee, S.E. Infect. Dis. Clin. North Am. 4: 583 (1990).
4. Tietz. N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1995).
5. Viberti, G.C., Hill, R.D., and Jarret, R.J. Lancet, I : 1430 (1982).
6. Bonadio, W.A. Pediatr. Infect. Dis. J. 11: 423 (1992).