

# Αντιδραστήριο Μικροπρωτεΐνης

## Μέθοδος Χλωριούχου Βενζεθονίου

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ

Σταθερότητα	:	Μέχρι τη λήξη στους 2-25°C
Γραμμικότητα	:	0,05 - 2,0 g/L (50 - 2000 mg/L)
Τύπος Δοκιμίου	:	Ούρα ή CSF
Μέθοδος	:	Θολωσιμετρικών
Προετοιμασία αντιδραστήριου	:	Ενζυματικό τελικό σημείο.

IVD

### ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Το αντιδραστήριο αυτό προορίζεται για τον in vitro ποσοτικό προσδιορισμό της πρωτεΐνης σε ούρα και εγκεφαλονωτιαίο υγρό (CSF) τόσο σε χειροκίνητα όσο και σε αυτοματοποιημένα συστήματα.

### ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑ<sup>1,2</sup>

Ο ρόλος του νεφρικού συστήματος για τη συντήρηση των πρωτεϊνών του πλάσματος έχει αναγνωρισθεί εδώ και αρκετό χρονικό διάστημα. Υπό κανονικές φυσιολογικές συνθήκες οι πρωτεΐνες χαμηλού μοριακού βάρους όπως η ινσουλίνη περνούν μέσω των σπειραμάτων σε σχετικά μεγάλες ποσότητες. Πρωτεΐνες ενδιάμεσου μεγέθους όπως η Τρανσφερίνη και η Αλβουμίνη περνούν επίσης αλλά μόνο σε σχετικά μικρές ποσότητες.

Οι περισσότερες από αυτές τις πρωτεΐνες επανααρροφούνται στα νεφρικά σωληνάρια έτσι ώστε τα φυσιολογικά ούρα να περιέχουν λιγότερο από 150 mg πρωτεΐνης την ημέρα. Αυτές συμπεριλαμβάνουν επίσης τις πρωτεΐνες που δεν προέρχονται από τον ορό και που απεκκρίνονται από το άπω σωληνάριο (βλεννοπρωτεΐνη) και τους συλλεκτικούς πόρους των νεφρών. Αυξημένα επίπεδα πρωτεΐνης στα ούρα (πρωτεϊνουρία) συνήθως περισσότερο από 0,15 g ανά 24 ώρες (150 mg/24 ώρες) σχεδόν πάντα υποδεικνύει κάποια νόσο.

Η πρωτεϊνουρία μπορεί να ταξινομηθεί ως νεφρική πρωτεϊνουρία και πρωτεϊνουρία με φυσιολογική νεφρική λειτουργία. Η νεφρική πρωτεϊνουρία μπορεί περαιτέρω να ταξινομηθεί ως σπειραματική ή σωληναριακή πρωτεϊνουρία. Η σπειραματική πρωτεϊνουρία οφείλεται σε αυξημένη σπειραματική διαπερατότητα (νεφρωσικό σύνδρομο) και μπορεί να εμφανιστεί σε σπειραματική νεφρίτιδα ή δευτερογενώς ως προς άλλες νόσους όπως η διαβητική νευροπάθεια. Η αλβουμίνη είναι συνήθως η κυρίαρχη πρωτεΐνη στα ούρα. Η σωληναριακή πρωτεϊνουρία μπορεί να οφείλεται σε βλάβη των νεφρικών σωληναρίων από οποιαδήποτε αιτία ιδιαίτερα δε από πτελονεφρίτιδα. Η σωληναριακή πρωτεϊνουρία έχει ως αποτέλεσμα μέτριες αυξήσεις στις πρωτεΐνες χαμηλού μοριακού βάρους αν η σπειραματική διαπερατότητα είναι φυσιολογική. Η πρωτεϊνουρία με φυσιολογική νεφρική λειτουργία μπορεί να είναι αποτέλεσμα φυσιολογικών αυξήσεων στην απέκκριση πρωτεΐνης ή στην παραγωγή μη-φυσιολογικά μεγάλων ποσοτήτων πρωτεϊνών χαμηλού μοριακού βάρους. Αυξημένη έκκριση πρωτεϊνών εμφανίζεται κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής κύησης, μετά από έντονη φυσική άσκηση ή μετά από παρατεταμένη διατήρηση όρθιας στάσης. Αυξήσεις των πρωτεϊνών χαμηλού μοριακού βάρους μπορεί να οφείλεται στην παραγωγή πρωτεΐνης Bence Jones, αιμοσφαινουρίας ως αποτέλεσμα σοβαρής αιμόλυσης και μυοσφαινουρίας ως αποτέλεσμα σοβαρής μυϊκής κάκωσης.

### ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Οι μέθοδοι που εφαρμόζονται για τον προσδιορισμό της ολικής πρωτεΐνης στα ούρα συμπεριλαμβάνουν δέσμευση χρωστικής, χημικές και θολωσιμετρικές διαδικασίες, με τις τελευταίες να είναι οι συνθεστέρα εφαρμοζόμενες<sup>3</sup>. Η δημοτικότητα των θολωσιμετρικών διαδικασιών μπορεί να αποδοθεί στην απλότητα χρήσης και την αυξημένη ευαισθησία.

Το kit μικροπρωτεΐνης της Thermo είναι μία θολωσιμετρική διαδικασία στην οποία χρησιμοποιείται το χλωριούχο βενζεθόνιο ως παράγοντας μετουσίωσης της πρωτεΐνης. Οι πρωτεΐνες που υπάρχουν στα ούρα μετουσιώνονται από το χλωριούχο βενζεθόνιο με αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός λεπτού εναιωρήματος το οποίο ποσοτικοποιείται θολωσιμετρικά στα 405 nm. Το αντιδραστήριο έχει τροποποιηθεί για να αντιμετωπιστεί το πρόβλημα της επίδρασης της υψηλής συγκέντρωσης (φαινόμενο αγκίστρου-Hook effect), όπου πολύ υψηλές συγκεντρώσεις πρωτεΐνης στα ούρα μπορεί να προκαλέσουν μία φαινόμενη μηδενική ή χαμηλή τιμή.<sup>4</sup>

### ΣΥΝΘΕΣΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

#### Ενεργά Συστατικά

#### Αντιδραστήριο 1

Ρυθμιστικό διάλυμα Ανθρακικών

Χλωριούχο Νάτριο

EDTA

#### Αντιδραστήριο 2

Χλωριούχο Βενζεθόνιο

#### Πυκνότητα

99,8 mmol/L

140 mmol/L

32 mmol/L

20 g/L

Τα αντιδραστήρια περιέχουν επίσης επιφανειοδραστικά και σταθεροποιητές απαραίτητους για τη βέλτιστη απόδοση του αντιδραστήριου.

### ΣΥΜΒΟΛΑ ΣΤΗΝ ΕΠΙΣΗΜΑΝΣΗ ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟ

EC REP	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος	⚡	Περιορισμός θερμοκρασίας
IVD	Προοριζόμενο για διάγνωση in vitro	📱	Χρήση μέχρι/ημερ/νια λήξης
LOT	Αριθμός παρτίδας	⚠️	ΠΡΟΣΟΧΗ: Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
REF	Αριθμός Καταλόγου	🏭	Κατασκευασμένο από
ⓘ	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης		
⊗	Χι - Ερεθιστικό		
REAG 1	Αντιδραστήρια 1 (R1)	REAG 2	Αντιδραστήρια 2 (R2)

**ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ:** ΜΗΝ αναρροφάτε υλικά με πιπέτα με το στόμα. Ξεπλύνετε τα μέρη του σώματος με τα οποία έχει έρθει σε επαφή με νερό. Το αντιδραστήριο περιέχει αζωτούχο νάτριο το οποίο πιθανόν να αντιδράσει με υδραυλικές εγκαταστάσεις από χαλκό ή μολύβδο. Αποπλύνετε με άφθονο νερό κατά την απαλλαγή. Για περαιτέρω πληροφορίες συμβουλευτείτε το Δελτίο Ασφαλείας Υλικού του Αντιδραστήριου Μικροπρωτεΐνης, R36 Ερεθίζει τα μάτια. S23 Μην αναπνέετε ατμούς.

### ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

Τα αντιδραστήρια αλληλοεπηρεάζονται έτοιμο προς χρήση.

### ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΦΥΛΑΞΗ

Όταν φυλάσσεται στους 2-25°C τα αντιδραστήρια είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στις ετικέτες της φιάλης και του κουτιού του kit.

### ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Τα δείγματα ούρων είναι σταθερά για 2-3 ημέρες όταν φυλάσσονται στους 4°C<sup>5</sup>. Αν αναμένεται να υπάρξει κάποια καθυστέρηση στη μεταφορά του δείγματος των ούρων στο εργαστήριο, συνιστάται η χρήση κάποιο χημικού συντηρητικού όπως το Μερθειολικό (0,24 mmol/L).

### ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΟΡΓΑΝΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

- Ένας αναλυτής κλινικής χημείας ικανός να συντηρεί σταθερή θερμοκρασία και να μετράει απορρόφηση μεταξύ 405 και 415 nm.
- Αναλώσιμα για τον αναλυτή (π.χ. δοχεία δειγμάτων)
- Ανώμαλο και κανονικό υλικό ελέγχου δοκιμών.
- Πρότυπα πρωτεΐνης ούρων όπως τα Πρότυπα Μικροπρωτεΐνης της Thermo (Αρ. Καταλόγου, TR50943).

### ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΟΣΟΤΙΚΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

Συνιστώνται οι ακόλουθες παράμετροι για το σύστημα. Διατίθενται μεμονωμένες εφαρμογές οργάνων μετά από αίτημα στο Τμήμα Τεχνικής Υποστήριξης.

### ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Θερμοκρασία	Σταθερός (Βλέπε σημείωση 2).
Πρωτογενές μήκος κύματος	405 nm (405-415 nm)
Τύπος Ποσοτικού προσδιορισμού	Θολωσιμετρικών
Κατεύθυνση	Αύξηση
Αναλογία Δείγματος : Αντιδραστήριου	1 : 45
π.χ.: Όγκος δείγματος	8 μL
Όγκος αντιδραστήριου 1	300 μL
Όγκος αντιδραστήριου 2	60 μL
Χρόνος υστέρησης (Δείγματος + R1)	30 δευτερόλεπτα
Χρόνος επώασης	360 δευτερόλεπτα
Όρια Τυφλού Αντιδραστήριου	Χαμηλό 0,00 AU
(405 nm, οπτική διαδρομή 1cm)	Υψηλό 2,00 AU
Γραμμικότητα	0,05 - 2,0 g/L
	(50 - 2000 mg/L)

### ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Τα αποτελέσματα υπολογίζονται αυτόματα και εκφράζονται ως g/L ή mg/L.

### 24ΩΡΗ ΟΥΡΙΚΗ ΑΠΕΚΚΡΙΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ

- Μετρήστε και καταγράψτε τον 24ωρο όγκο των ούρων σε λίτρα.
- Προσδιορίστε τη συγκέντρωση της πρωτεΐνης σε g/L ή σε mg/L χρησιμοποιώντας την παραπάνω διαδικασία.
- Πολλαπλασιάστε τη συγκέντρωση της πρωτεΐνης με τον 24ωρο όγκο των ούρων. Η τιμή αυτή είναι η έκκριση πρωτεΐνης/24 ώρες.

#### Παράδειγμα:

24ωρος όγκος ούρων	=	1,12 λίτρα
Συγκέντρωση πρωτεΐνης ούρων	=	0,13 g/L ή 130 mg/L

#### 24ωρη ουρική απέκκριση πρωτεΐνης

0,13 x 1,12 = 0,146 g/24 ώρες

130 x 1,12 = 146 mg/24 ώρες

## ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ

1. Οι όγκοι του αντιδραστήριου και του δείγματος μπορούν να μεταβληθούν ανάλογα για να προσαρμοστούν στις απαιτήσεις διαφορετικών φασματοφωτομέτρων.
2. Η θερμοκρασία της αντίδρασης δεν είναι κρίσιμης σημασίας, ωστόσο η θερμοκρασία του φασματοφωτομέτρου θα πρέπει να διατηρείται σταθερή μεταξύ θερμοκρασίας δωματίου και 37°C.
3. Η τελική απορρόφηση θα πρέπει να μετρηθεί μέσα σε 10 λεπτά.
4. Μετατροπή μονάδων:  $g/L \times 1000 = mg/L$ .

## ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗ

Για τη βαθμονόμηση θα πρέπει να χρησιμοποιούνται εμπορικά διαθέσιμα πρότυπα πρωτεΐνης ούρων όπως τα Πρότυπα Μικροπρωτεΐνης της Thermo (Αρ. Καταλόγου, TR50943). Η Thermo προτείνει κάθε ανάλυση να βαθμονομείται με τουλάχιστον 5 πρότυπα, που έχουν συσχετιστεί με υλικά του NIST και που η τιμή τους κυμαίνεται από 0,1 έως 2,4 g/L (100 έως 2400 mg/L). Για την συχνότητα βαθμονόμησης των αυτόματων εργαλείων, αναφερθείτε στις προδιαγραφές των κατασκευαστών.

Ωστόσο, η σταθερότητα βαθμονόμησης εξαρτάται από τη βέλτιστη απόδοση των εργαλείων και τη χρήση αντιδραστηρίων που έχουν φυλαχτεί σύμφωνα με τις συστάσεις που αναφέρονται στο τμήμα περί σταθερότητας και φύλαξης του παρόντος φυλλαδίου. Συνιστάται η επαναβαθμονόμηση όποτε συμβεί ένα από τα ακόλουθα γεγονότα:-

- Μεταβολή του αριθμού παρτίδας του αντιδραστήριου.
- Προληπτική συντήρηση ή αντικατάσταση κρίσιμου εξαρτήματος.
- Αλλαγή αξιών ελέγχου που δεν μπορούν να αποκατασταθούν με νέα φιάλη ελέγχου.

## ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Για την εξασφάλιση επαρκούς ποιοτικού ελέγχου, θα πρέπει να προσδιορίζονται, φυσιολογικά και μη φυσιολογικά υλικά ελέγχου ως άγνωστα δείγματα:-

- Τουλάχιστον κάθε οκτώ ώρες.
  - Όταν χρησιμοποιείται νέα φιάλη αντιδραστήριου.
  - Εφόσον γίνει προληπτική συντήρηση ή αντικατασταθεί κρίσιμο εξάρτημα.
- Αποτελέσματα ελέγχου τα οποία είναι εκτός των υψηλότερων και κατώτερων προκαθορισμένων σημείων αποτελούν ένδειξη ότι η δοκιμή βρίσκεται εκτός ελέγχου. Συνιστώνται οι ακόλουθες διορθωτικές ενέργειες στις περιπτώσεις αυτές:-
- Επαναλάβετε τους ίδιους ελέγχους.
  - Εάν τα αποτελέσματα ελέγχου είναι επανειλημμένως εκτός των ορίων, ετοιμάστε νέο ορό ελέγχου και επαναλάβετε τη δοκιμή.
  - Εάν τα αποτελέσματα συνεχίζουν να είναι εκτός των ορίων, επαναβαθμονομήστε με νέο βαθμονομητή και επαναλάβετε τη δοκιμή.
  - Εάν τα αποτελέσματα συνεχίζουν να είναι εκτός ελέγχου, κάντε βαθμονόμηση με αντιδραστήριο που έχει παρασκευαστεί εκ νέου και επαναλάβετε τη δοκιμή.
  - Αν και πάλι τα αποτελέσματα είναι εκτός ελέγχου, επικοινωνήστε με τις Τεχνικές Υπηρεσίες ή με τον τοπικό διανομέα.

## ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟ

1. Δεν παρατηρήθηκε φαινόμενο αγκίστρου (Hook effect) σε δείγματα που περιέχουν συγκεντρώσεις πρωτεΐνης έως ένα επίπεδο 60 g/L.
2. Για μία πιο αναλυτική επισκόπηση των παραγόντων που επηρεάζουν τον προσδιορισμό της πρωτεΐνης των ούρων ανατρέξτε στη δημοσίευση του Young<sup>6</sup>.
3. Παρατηρήθηκε παρέμβαση αιμογλοβίνης σε επίπεδο 20 mg/dL.
4. Καμία παρεμπόδιση από την χολερυθρίνη έως και ένα επίπεδο 26 μmol/L (1,5 mg/dL).

## ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Η ουρική απέκκριση πρωτεΐνης είναι φυσιολογικά κάτω από 0,15 g/24ώρες (150mg/24ώρες). Μεγαλύτερες τιμές σχεδόν πάντα υποδεικνύουν κάποια νόσο<sup>1</sup>.

Οι αναφερόμενες τιμές είναι αντιπροσωπευτικές του αναμενόμενου εύρους για τη μέθοδο αυτή και θα πρέπει να εξυπηρετεί ως οδηγός και μόνο. Συνιστάται το κάθε εργαστήριο να επιβεβαιώνει το εύρος αυτό ή να εξάγει ένα διάστημα αναφοράς για τον πληθυσμό που εξυπηρετεί.<sup>7</sup>

## ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Τα ακόλουθα δεδομένα λήφθηκαν χρησιμοποιώντας το Αντιδραστήριο Μικροπρωτεΐνης σε ένα καλά διατηρούμενο αυτόματο αναλυτή κλινικής χημείας. Οι χρήστες θα πρέπει να επιβεβαιώσουν την απόδοση του προϊόντος στο συγκεκριμένο αναλυτή που χρησιμοποιούν.

## ΑΝΑΚΡΙΒΕΙΑ

Εντός Προσδιορισμού:	ΕΠΙΠΕΔΟ I	ΕΠΙΠΕΔΟ II	ΕΠΙΠΕΔΟ III
Αριθμός Δεδομένων	20	20	20
Μέσος όρος (g/L / mg/L)	0,184 / 184	0,510 / 510	1,750 / 1750
SD (g/L / mg/L)	0,009 / 9	0,024 / 24	0,034 / 34
C.V. (%)	4,9	4,7	1,9

Μεταξύ ημερών:	ΕΠΙΠΕΔΟ I	ΕΠΙΠΕΔΟ II	ΕΠΙΠΕΔΟ III
Αριθμός Δεδομένων	20	20	20
Μέσος όρος (g/L / mg/L)	0,182 / 182	0,505 / 505	1,757 / 1757
SD (g/L / mg/L)	0,010 / 10	0,022 / 22	0,029 / 29
C.V. (%)	5,5	4,4	1,7

## ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Διεξήχθησαν μελέτες χρησιμοποιώντας ένα άλλο εμπορικά διαθέσιμο αντιδραστήριο Χλωριούχου Βενζεθονίου ως αναφορά. Προσδιορίστηκαν παράλληλα φυσιολογικά και μη φυσιολογικά δείγματα ούρων και τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με παλινδρόμηση ελαχίστων τετραγώνων. Λήφθηκαν οι ακόλουθες στατιστικές παράμετροι:

Αριθμός ζευγών δειγμάτων	63
Όρια διακύμανσης αποτελεσμάτων	0,01 - 1,58 g/L (10 - 1580 mg/L)
Αποτελέσματα μέσου σφάλματος αναφοράς	0,42 g/L (420 mg/L)
Αποτελέσματα μέσου όρου Μικροπρωτεΐνης	0,44 g/L (440 mg/L)
Κλίση	1,14
Τεταμένη	-0,04 g/L (-40 mg/L)
Συντελεστής Συσχέτισης	0,992

## ΓΡΑΜΜΙΚΟΤΗΤΑ

Όταν εκτελείται όπως συνιστάται, ο προσδιορισμός είναι γραμμικός έως και 2,0 g/L (2000 mg/L).

## ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ

Το αντιδραστήριο όταν χρησιμοποιήθηκε σύμφωνα με τη συνιστώμενη διαδικασία είναι ευαίσθητο έως ένα επίπεδο 0,05 g/L (50 mg/L).

## ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Zilva JF, Pannall PR. "Plasma Proteins and Immunoglobulins" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Lloyd-Luke 1979; Chap XIV:305-29.
2. First MR. "Renal Function" in Clinical Chemistry theory, analysis and correlation. Kaplan LA, Amadeo JP (Ed). CV Mosby Co. 1984; Chap 23:418.
3. Koller A. "Total Urine Protein" in Clinical Chemistry theory, analysis and correlation Kaplan LA, Amadeo JP (Ed). CV Mosby Co. 1984; Chap 60: 1319-20.
4. Watkins I, Jenkins L. Clinical Chemistry 1987; 33:21 27-8.
5. Shephard MDS, Mazzachi RD. The Clinical Biochemist 1983; 4: 61-7.
6. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition 1990; 3: 296-300.
7. Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.



Fisher Diagnostics  
a division of Fisher Scientific Company, LLC  
a part of Thermo Fisher Scientific Inc.  
Middletown, VA 22645-1905 USA  
Phone: 800-528-0494  
540-869-3200  
Fax: 540-869-8132



MDCI Ltd.  
Arundel House  
1 Liverpool Gardens  
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

REF

## Πληροφορίες για Παραγγελίες

Αρ. Καταλόγου.

REAG 1

REAG 2

TR50001

1 x 125 mL

1 x 25 mL