

PROTEINI U LIKVORU I URINU

Ref: PLU-200

UPOTREBA

Reagens se koristi za određivanje koncentracije proteina u likvoru i urinu.

METODA

“Pyrogallol red” spektrofotometrijski metod.

KLINIČKI ZNAČAJ

Proteini se u likvoru nalaze u malim koncentracijama. Svako oboljenje CNS-a može izazvati povećanje koncentracije proteina u likvoru kao i promene odnosa albumina i globulina. Nastale promene su posledica veće propustljivosti hemoencefalne barijere. Povećanje propustljivosti hemoencefalne barijere se javlja kod trauma, tumora, intracerebralnih hemoragija, upalnih procesa kao što su meningitis, encefalitis ili poliomijelitis. Smanjena koncentracija proteina u likvoru je dosta retka.

Povećanje koncentracije proteina u urinu posledica je bolesti bubrega, dok postrenalne proteinurije izazivaju upale mokraćne bešike, uretera i prostate.

PRINCIP ODREĐIVANJA

Proteini iz likvora i urina reaguju sa “Pyrogallol red” analitičkim reagensom formirajući obojeno jedinjenje. Intenzitet nastale boje proporcionalan je koncentraciji proteina u uzorku. Dodatak aditiva povećava linearnost metode i stabilnost boje^{1,2}.

REAGENSI

Proteini u likvoru i urinu, Ref: PLU-200 se sastoji od 1 reagensa i 1 standarda:

Reagens 1	2 x 100 mL
Standard proteina	1 x 3 mL

SASTAV REAGENASA

Rg.1 Sukcinatni pufer pH 4,2	100 mmol/L
Pyrogallol red	100 µmol/L
Stabilizatori i konzervansi	

Standard proteina

Koncentracija je navedena na bočici

UPOZORENJE

1. Koristiti isključivo za dijagnostiku *in vitro*.
2. Voditi računa o propisanoj eliminaciji otpada. Ako se odbacuje u kanalizaciju, isprati velikom količinom vode.
3. Da bi se izbegla kontaminacija koristiti čist pribor ili laboratorijsku opremu za jednokratnu upotrebu.

PRIPREMA REAGENSA

Reagens je spreman za upotrebu.

STABILNOST REAGENSA

Reagens je stabilan do isteka označenog roka na bočici, ako se čuva na propisanoj temperaturi.

UZORCI

Kao uzorak koristiti bistar likvor ili urin. Urin centrifugirati 5 minuta na 3000 obrtaja i supernatant koristiti kao uzorak. Ako je potrebno, centrifugirati i likvor pod istim uslovima.

Stabilnost u urinu : 1 dan na 20-25 °C
3 dana na 4-8 °C

Stabilnost u likvoru : 1 dan na 20-25 °C
5 dana na 4-8 °C

DODATNI POTREBNI MATERIJALI

Opšta laboratorijska oprema i rastvori

ANALITIČKA PROCEDURA

Analitički parametri testa:

Talasna dužina : 1°	600 nm
Kiveta :	1 cm
Temperatura :	30, 37° C
Odnos : uzorak / reagens	1 / 50
Reakcija :	End Point
Inicijalna A reagensa :	< 1.0 Abs

Pipetirati u epruvete :

	Auz	Ast	Aspr
Uzorak	20 µL	-	-
Standard	-	20 µL	-
Fiziološki rastvor	-	-	20 µL
Reagens 1	1 mL	1 mL	1 mL

Promešati reakcionu smešu i inkubirati tačno 10 minuta na temperaturi 20-30°C ili 5 minuta na 37°C. Izmeriti na $\lambda=600$ nm apsorbancije uzorka (Auz) i standarda (Ast) prema slepoj probi reagensa (Aspr).

KALIBRACIJA

Za kalibraciju koristiti standard proteina ili adekvatan kalibrator

Tip kalibracione krive : Linearan

Rekalibraciju vršiti :

- nakon promene serije reagensa
- ukoliko su dobijene vrednosti kontrola izvan prihvatljivog opsega

KONTROLA KVALITETA

Za kontrolu kvaliteta preporučuje se korišćenje kontrolnih materijala.

IZRAČUNAVANJE

$$c = \frac{A_{uz}}{A_{st}} \times c_{st} \text{ (g/L)}$$

REFERENTNE VREDNOSTI

Urin: 10 - 140 mg/ 24h

Likvor: 80 - 450 mg/L

ANALITIČKE KARAKTERISTIKE TESTA

Parametri validacije su izračunati na osnovu rezultata ispitivanja na analizatorima Roche 902 i Abbott –Alcion.

Opseg merenja

Od 0,03 do 2,5 g/L proteina.

Ukoliko je koncentracija proteina veća od 2,5 g/L, razblažiti uzorak (1+ 1) sa fiziološkim rastvorom i rezultat pomnožiti sa 2.

Limit detekcije (LOD) i limit kvantifikacije (LOQ)

LoD = 0,01 g/L

LoQ = 0,03 g/L

Osetljivost određivanja (S)

$S = A/c = 0,1478 \Delta\text{Abs po g/L}$

Interferencije

Na određivanje proteina u likvoru i urinu ne utiču sledeće supstance:

bilirubin $c < 400 \mu\text{mol/L}$ (23,4 mg/dL)

Prisustvo hemoglobina dovodi do lažno povišenih rezultata.

Preciznost određivanja

Reproducibilnost unutar serije

Uzorak 1	Xsr = 0,70	Sd = 0,02	KV = 3,27 %
Uzorak 2	Xsr = 1,41	Sd = 0,03	KV = 2,36 %

Reproducibilnost između serija

Uzorak 1	Xsr = 0,71	Sd = 0,03	KV = 4,03 %
Uzorak 2	Xsr = 1,41	Sd = 0,04	KV = 2,80 %

Korelacija

Urađena je komparativna analiza^{3,4} između metode firme BIOANALYTICA i komercijalnog testa druge firme (45 uzoraka).

Dobijeni su sledeći parametri :

Linearna regresija

$y = 0,9977 x + 0,000342$

$r = 0,9985$

LITERATURA

1. B. Štraus, Medicinska Biokemija, Medicinska naklada Zagreb, 1992.
2. N.W. Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1986.
3. H. Passing, W.A. Bablok, A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I. J Clin Chem and Clin Biochem 21(11), 709-720, 1983.
4. W. Bablok H. Passing, R. Bender, B. Schneider. A general regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem and Clin Biochem 26 (11), 783 - 790, 1988.



Bioanalytica d.o.o.
Agostina Neta 84/2, Beograd,
Srbija
www.bioanalytica.rs



Bioscience Medical SL
Velazquez 126, 7AB,
Madrid, Spain



Broj rešenja o upisu : _____