



PROTEINE URINARIE/MICROPROTEINURIA

Ref. PDI102100

Conf. 200 ml

IVD

INTRODUZIONE

I reni non dovrebbero lasciare passare le proteine nell'urina in quanto sono sostanze molto importanti per l'organismo e non possono essere smaltite. A volte sono presenti in quantità minime e non patologiche e comunque in quantità inferiore a 150 mg nelle urine delle 24 ore. Una loro presenza significativa può essere determinata da anemia, da amiloidosi, da avvelenamento da arsenico, bismuto e mercurio, da cistite, da diabete, da glomerulonefrite, da gotta, da gravidanza, da ipertermia, da ipotermia, da mieloma multiplo, da pielonefrite, da sindrome nefrosica e da shock.

PRINCIPIO

Metodo Rosso Pirogallolo.

Determinazione colorimetrica diretta al rosso pirogallolo nelle urine e nel liquor. Le proteine modificano lo spettro di assorbimento, in ambiente acido, del complesso pirogallolo rosso-molibdato. L'intensità del colore che si sviluppa è direttamente proporzionale alla concentrazione di proteine presenti nel campione in esame.

REATTIVI

I componenti del kit vanno conservati a 15-30°C al buio e rimangono stabili sino alla data di scadenza indicata sulla etichetta.

Componenti del kit:

A) Reagente A Rosso Pirogallolo	2x100 ml	Ref. PDI 1021001
Tampone Succinato pH 2.5		60 mM
Rosso pirogallolo		0.4 mM
Sodio molibdato		0.1 mM
Sodio ossalato		1.2 mM
Sodio benzoato		2.6 mM
Tensioattivi		1 %
B) Standard Low (da usare nella procedura ad alta sensibilità)	1x5 ml	Ref. PDI 1021002
20 mg di proteine/dl		
Lo standard è una miscela di albumina e globuline ed è pronto all'uso.		
C) Standard High (da usare nella procedura ad alta linearità)	1x5 ml	Ref. PDI 1021003
100 mg di proteine/dl		
Lo standard è una miscela di albumina e globuline ed è pronto all'uso.		

CAMPIONE

Urine e liquido cefalo rachidiano (C.S.F.).

METODICA

Lunghezza d'onda:	600 nm. (580-620 nm)
Cammino Ottico:	1 cm
Temperatura:	37°C
Lettura	contro bianco
Reazione:	end-point (incremento)

PROCEDURA AD ALTA SENSIBILITA'

(Una variazione proporzionale dei volumi di reazione indicati nella seguente procedura non determina variazioni nei risultati).

Pipettare in provetta:

	Bianco Reagente	Campione	Standard
H2O Distillata	100 µl	=	=
Campione	=	100 µl	=
Standard Low	=	=	100 µl
Reagente A	1500 µl	1500 µl	1500 µl

Mescolare bene ed incubare 10 minuti alla temperatura di lavoro. Leggere contro il Bianco reagente, l'assorbanza del campione (AS) e dello standard (AST). Il colore sviluppatosi è stabile almeno 30 minuti a temperatura ambiente.

PROCEDURA AD ALTA LINEARITA'

(Una variazione proporzionale dei volumi di reazione indicati nella seguente procedura non determina variazioni nei risultati).

Pipettare in provetta:

	Bianco Reagente	Campione	Standard
H2O Distillata	25 µl	=	=
Campione	=	25 µl	=
Standard High	=	=	25 µl
Reagente A	1500 µl	1500 µl	1500 µl

Mescolare bene ed incubare 10 minuti alla temperatura di lavoro. Leggere contro il Bianco reagente, l'assorbanza del campione (AS) e dello standard (AST). Il colore sviluppatosi è stabile almeno 30 minuti a temperatura ambiente.

CALCOLO

$(AS/AST) \times [STANDARD]^* =$ concentrazione delle proteine totali nel campione.

$[STANDARD]^* =$ concentrazione delle proteine totali dello STANDARD LOW o HIGH.

Per il calcolo della quantità delle proteine nelle 24 h, moltiplicare la concentrazione (mg/dl) con il volume (dl) delle urine nelle 24 h.

FATTORE DI CONVERSIONE

Proteine Totali: $[mg/dl] \times 0.01 =$ proteine totali $[g/L]$



VALORI NORMALI

Urine (Uomo/Donna)	<15 mg/dl (0.15 g/L).
Urine 24h (Uomo/Donna)	< 150 mg (0.15 g).

LINEARITA'

Procedura ad Alta Sensibilità: <100 mg/dl.

Procedura ad Alta Linearità: < 300 mg/dl.

SENSIBILITA'

Procedura ad Alta Sensibilità: >3 mg/dl.

Procedura ad Alta Linearità: >12 mg/dl.

RANGE

Procedura ad Alta Sensibilità: 3-100 mg/dl.

Procedura ad Alta Linearità: 12-300 mg/dl.

NOTE

E' preferibile lavorare con plastica monouso. Proteggere dalla luce diretta.

INTERFERENZE

Concentrazioni di Bilirubina fino a 12 mg/dl non determinano interferenze.

PRECISIONE

Controllo	Lotto	Valore Ottenuto	Media	Range	Recovery %
Sprintol	1248	73	76	66-86	104.1
Std Analytic ON		102	100	95-105	98.0

RIPRODUCIBILITA'

CV (%)	Livello I	Livello II	Livello III
	12 U/l	44 U/l	126 U/l
nella serie	11.19	6.11	3.69
Tra la serie	13.24	6.90	4.91

CORRELAZIONE

Il confronto tra questo test (y) ed uno dei metodi più diffusi in commercio (x), ha fornito i seguenti risultati:

$N = 40$, $y = 1.0133x - 1.6800$ $r = 0.9985$

SMALTIMENTO RIFIUTI

Fare riferimento alle leggi locali

CLASSIFICAZIONE EDMA

Nome PROTEINE Urinarie n: 11.02.01.90.00.

BIBLIOGRAFIA

Watabane N., Kamei S., Ohkubo A., Yamanaka M., Ohsawa S., Makino K and Toduka K., Clin.Chem.32,8,1551-1554 (1986).

Makarovsky V and Gaidukova N. Multicentre Evaluation of KONE Optima Analysis System. Clin Chem Lab Med 1998; 36(7): 475-484.

Bablok W, Passing H. Application of statistical procedures in analytical instrument testing. J Autom Chem 1985; 7:74-9

Martin H. Kroll, Ronald J. Elin. Interference with Clinical Laboratory Analyses. Clin. Chem. 40/11 (1994).

Philippe Marquis. Comparison of analytical methods in clinical chemistry. Service de biochimie Centre Hospitalier, Metz- France.

Shauna C., Anderson & Susan Cockayne .Clinical Chemistry – Concepts & Applications (2003).

E. Villers, L. Blackwood. Gli esami di laboratorio– Indicazioni, Esecuzione, Interpretazione. (2006).

Valente D., Preucipe L., Pozzoli R., Chiodo F., LE ANALISI CLINICHE (1996).



URINARY PROTEIN/MICROPROTEINURIA

Ref. PDI 102100

Conf. 200 ml

IVD

INTRODUCTION

The kidneys should not let pass the protein in the urine as they are very important substances for the body and can not be disposed of. Sometimes they are present in small quantities and not pathological and in any case less than 150 mg in the urine of 24 hours. One of their significant presence can be determined from anemia, from amyloidosis, by poisoning with arsenic, bismuth and mercury, cystitis, diabetes, glomerulonephritis, gout, pregnancy, by hyperthermia, by hypothermia, multiple myeloma, from pyelonephritis, nephrotic syndrome and shock.

PRINCIPLE

Direct colorimetric determination of red pyrogallol in the urine and CSF. Proteins change the absorption spectrum, in acid, pyrogallol red-molybdate complex. The color intensity that develops is directly proportional to the concentration of proteins present in the sample.

REAGENTS

Kit components are stored at 15-30°C to the dark and these are stable until the expiration date printed on the label.

A) Reagent A Red Pyrogallol	2x100 ml	Ref. PDI 1021001
Buffer Succinate pH 2.5		60 mM
Red pyrogallol		0.4 mM
Sodium molybdate		0.1 mM
Sodium oxalate		1.2 mM
Sodium benzoate		2.6 mM
Surfactants		1 %
B) Standard Low (use in high sensitivity procedure)	1x5 ml	Ref. PDI 1021002
20 mg protein/dl		
Standard is a mixture of albumin and globulin and it is ready for use.		
C) Standard High (use in high linearity procedure)	1x5 ml	Ref. PDI 1021003
100 mg protein/dl		
Standard is a mixture of albumin and globulin and it is ready for use.		

SAMPLE

Urine and cerebrospinal fluid (C.S.F.).

ANALYTICAL PROCEDURE

Wavelength:	600 nm. (580-620 nm)
Optical path:	1 cm
Temperature:	37°C
Reading:	against blank
Reaction:	End-point (increase)

HIGH SENSITIVITY PROCEDURE

(A proportional variation of the reaction volumes indicated in the analytical procedure does not change the result).

Pipetting in tubes:

	Blank Reagent	Sample	Standard
Distilled water	100 µl	=	=
Sample	=	100 µl	=
Standard Low	=	=	100 µl
Reagent A	1500 µl	1500 µl	1500 µl

Mix and incubate 10 minutes at working temperature. Reading against Blank reagent, sample absorbance (AS) and standard (AST). Final colour is stable at least 30 minutes at room temperature.

HIGH LINEARITY PROCEDURE

(A proportional variation of the reaction volumes indicated in the analytical procedure does not change the result).

Pipetting in tubes:

	Blank Reagent	Sample	Standard
Distilled water	25 µl	=	=
Sample	=	25 µl	=
Standard High	=	=	25 µl
Reagent A	1500 µl	1500 µl	1500 µl

Mix and incubate 10 minutes at working temperature. Reading against Blank reagent, sample absorbance (AS) and standard (AST). Final colour is stable at least 30 minutes at room temperature.

CALCULATION

$(AS/AST) \times [STANDARD] = \text{concentration of total proteins in the sample}$

$[STANDARD] = \text{concentration of total proteins of the STANDARD LOW or HIGH.}$

For the calculation of proteins 24 hours quantity, multiply the concentration (mg/dl) with the volume (dl) of the 24 hours urines.

CONVERSION FACTOR

Total proteins: $[\text{mg/dl}] \times 0.01 = \text{total proteins } [\text{g/L}]$

STANDARD VALUE

Urine (Male/Female)	< 15 mg/dl (0.15 g/L)
Urine 24 h (Male/Female)	< 150mg (0.15 g)

LINEARITY

High Sensitivity Procedure: < 100 mg/dl.

High Linearity Procedure: < 300 mg/dl.



SENSITIVITY

High Sensitivity Procedure: > 3 mg/dl.

High Linearity Procedure: > 12 mg/dl.

RANGE

High Sensitivity Procedure: 3-100 mg/dl.

High Linearity Procedure: 12-300 mg/dl.

NOTE

It's best to work with disposable plastic. Protect from light.

INTERFERENCES

Bilirubin concentrations up to 12 mg/dl do not result in interference.

PRECISIONE

Control	Lot	Value Obtained	Average	Range	Recovery %
Sprintol	1248	73	76	66-86	104.1
Std Analytic ON		102	100	95-105	98.0

REPRODUCIBILITY

CV (%)	Level I	Level II	Level III
	12 U/l	44 U/l	126 U/l
in series	11.19	6.11	3.69
Between sets	13.24	6.90	4.91

CORRELATION

The correlation between this test (y) and another one (x), gave the following results:

$N = 40$, $y = 1.0133x - 1.6800$ $r = 0.9985$

WASTE MANAGEMENT

Refer to local laws.

CLASSIFICATION EDMA

Name Urinary Proteins n°: 11.02.01.90.00.

BIBLIOGRAPHY

Watabane N., Kamei S., Ohkubo A., Yamanaka M., Ohsawa S., Makino K and Toduka K., Clin.Chem.32,8,1551-1554 (1986) Watabane N., Kamei S., Ohkubo A., Yamanaka M., Ohsawa S., Makino K and Toduka K., Clin.Chem.32,8,1551-1554 (1986). Makarovsy V and Gaidukova N. Multicentre Evaluation of KONE Optima Analysis System. Clin Chem Lab Med 1998; 36(7): 475-484. Bablok W, Passing H. Application of statistical procedures in analytical instrument testing. J Autom Chem 1985; 7:74-9 Martin H. Kroll, Ronald J. Elin. Interference with Clinical Laboratory Analyses. Clin. Chem. 40/11 (1994). Philippe Marquis. Comparison of analytical methods in clinical chemistry. Service de biochimie Centre Hospitalier, Metz- France. Shauna C.,

Anderson & Susan Cockayne .Clinical Chemistry – Concepts & Applications (2003).

E. Villers, L. Blackwood. Gli esami di laboratorio– Indicazioni, Esecuzione, Interpretazione. (2006). Valente D., Preucipe L., Pozzoli R., Chiodo F., LE ANALISI CLINICHE (1996)

Ver. 002 del 20.10.2011