DAC-SpectroMed s.r.l.
МД-2012, Молдова, г. Кишинев, ул. Армянская, 47, кв. 64
Тел.:/+37322/ 574900,574922/23; факс: /+37322/ 574920
Email: office@dacspectromed.com
www.dacspectromed.com
PT MD 11-15796482-001:2003

Prot Ure - DAC.Lq

БЕЛОК В МОЧЕ И СМЖ
ФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД С ПИРОГАЛЛОЛОМ КРАСНЫМ
Только для диагностики «in vitro»
Хранить при 2-8^0**C**

Код 3076U50 2**x**25 ml +5 ml
Код 3076U250 2**x**125 ml +5 ml
Код 3076U5 5 ml (Prot Ure Standard)

ПРИНЦИП МЕТОДА
Белок в образце реагирует с пирогаллолом красным и молибдатом, приводя к образованию окрашенного комплекса.
Интенсивность образующейся окраски, измеренной при длине волны 600(±10) nm, пропорциональна концентрации белка[1,2].

СОСТАВ НАБОРА

Reagent	
Пирогаллол красный	50 mmol/l
Натрия молибдат	0,04 mmol/l
Prot Ure Standard	5 ml

Альбумин/глобулин, водный раствор.
Точная концентрация альбумина указана на этикетке флакона.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ
Реагенты при 2-8^{0}C стабильны до срока, указанного на этикетке.
Признаки порчи: присутствие взвеси, мутность, абсорбция Blank ≥ 0,30 при 600 nm (кюветы на 1 cm).

ОБРАЗЦЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ
Моча и спинномозговая жидкость (СМЖ).
Соберите суточный образец мочи, определите объем.
Белок в моче стабилен 8 дней при 2-8^{0}C.
Белок в СМЖ стабилен 4 дня при 2-8^{0}C.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ
Моча[3]: менее 100 mg/24 h (менее 150 mg/24 h для беременных).
СМЖ[5]: Дети 300-1000 mg/l. Взрослые 150-450 mg/l.
Приведенные референтные величины ориентировочны.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА
Для контроля хода реакции и процедуры измерения рекомендуется использовать **Контрольные образцы мочи с известным содержанием белка**.
Каждая лаборатория должна установить собственную внутреннюю систему контроля качества.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ
Анализатор, спектрофотометр или термостатирующий фотометр с фильтром 600(±10) nm.Дозаторы на 20 µl и 1,0ml.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ
Набор предназначен только для диагностики in vitro.
Образцы должны рассматриваться как потенциально опасные и обрабатываться как инфекционные.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧИХ РЕАГЕНТОВ
Реагенты готовы к использованию.

ПРИМЕЧАНИЯ
1. Данные реагенты используются в автоматических анализаторах, инструкции разрабатываются и предоставляются по запросу.
2. Ложноотрицательные результаты могут быть получены при исследовании высоко забуференной щелочной мочи.
При исследовании с помощью тест-полосок при тех же условиях могут быть получены ложно-положительными результаты.
3. Калибровка водным стандартом может вызвать отклонение, связанное с растворителем. Рекомендуется проводить калибровку с использованием стандарта на основе сыворотки (Multi St-DAC Код 2051M5).

ХОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ
Метод: конечная точка
Длина волны: 600(±20) nm
Температура: 37^{0}C
Бланк: по реагенту

1. Доведите Reagent и фотометр до температуры реакции (37^{0}C).
2. Поместите в маркированные пробирки (Примечания 1,2):

	Blank	Standard	Test
Prot Ure Standard	-	20 µl	-
Образец	-	-	20 µl
Reagent	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

NB: Объемы реагента, стандарта и образца могут быть пропорционально изменены в соответствии с рабочим объемом кюветы анализатора.
3. Содержимое пробирок тщательно смешайте и инкубируйте 5 минут при 37^{0}C или 10 минут при 15-25^{0}C.
4. Учтите Абсорбцию Standard ($\mathbf{A}_{St}$) и Test ($\mathbf{A}_{o}$,) при длине волны 600 nm против Blank. Окраска стабильна не менее 10 минут.

ВЫЧИСЛЕНИЯ
Концентрация белка ($\mathbf{C_o}$) в образце мочи вычисляется по следующей общей формуле:

$$\frac{\mathbf{A_o}}{\mathbf{A_{St}}} \times \mathbf{C_{St}} \times V_{24\,h} = \mathbf{C_o}$$

Концентрация белка ($\mathbf{C_o}$) в образце СМЖ вычисляется по следующей общей формуле:

$$\frac{\mathbf{A_o}}{\mathbf{A_{St}}} \times \mathbf{C_{St}} = \mathbf{C_o}$$

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
Предел чувствительности: 70 mg/l.
Предел линейности: 4000 mg/l. При более высокой концентрации разведите образец физиологическим раствором в соотношении 1:2, повторите измерение, а результат умножьте на 2.
Повторяемость (в пределах периода):

Средняя концентрация	CV*	n*
800 mg/l	3,0 %	20
1600 mg/l	2,1 %	20

Воспроизводимость (от периода к периоду):

Средняя концентрация	CV*	n*
800 mg/l	3,2 %	25
1600 mg/l	3,0 %	25

*Где: CV–коэффициент вариации; n–количество определений
Интерференция: Гемолиз, а также другие лекарственные препараты и субстанции влияют на результат определения[4].
Данные метрологические характеристики были получены на анализаторе. Результаты могут варьировать в зависимости от используемого оборудования или процедуры определения.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
Повышенное содержание белка в моче (протеинурия) встречается при кровотечениях, повышенной проницаемости базальной мембраны, дефектах канальцевой реабсорбции, повышенной концентрации в плазме или при наличии патологических низкомолекулярных белков (легкие цепи иммуноглобулинов) и патологической секреции белка в мочевыводящих путях [3,5].
Протеинурия встречается практически при всех заболеваниях, сопровождающихся нарушением абсорбции в почечных канальцах, таких как нефротический синдром, гломерулонефрит, инфаркт почек, злокачественные новообразования почек, диабетическая нефропатия, синдром Фанкони, отравление тяжелыми металлами, саркоидоз, серповидноклеточная патология. Протеинурия сопровождает злокачественные и воспалительные заболевания мочевых путей, дегенеративные состояния и раздражение нижних отделов мочевых путей.
Множественная миелома, моноклональные гаммопатии и другие миелопролиферативные и лимфопролиферативные расстройства также могут вызывать протеинурию.
Протеинурия может появляться после физического напряжения, (уровень протеинурии зависит от типа нагрузки и составляет 22 - 340 мг/сут).

DAC-SpectroMed s.r.l.
MD-2012, Moldova, or. Chişinău, str. Armeneasсă 47, ap. 64
Tel.: /+37322/ 574900,574922/23; fax: /+37322/ 574920
Email: office@dacspectromed.com
www.dacspectromed.com
PT MD 11-15796482-001:2003

Prot Ure - DAC.Lq

PROTEINA ÎN URINĂ ŞI LCR
FOTOMETRIC CU PIROGALOL ROŞU
Numai pentru diagnosticare «in vitro»
A se păstra la 2-8^0**C**

Cod 3076U50 2**x**25 ml+5 ml
Cod 3076U250 2**x**125 ml+5 ml
Cod 3076U5 5 ml (Prot Ure Standard)

PRINCIPIUL METODEI
Proteina din probă reacţionează cu pirogalol şi molibdat formînd un complex colorat. Intensitatea culorii, măsurată la 600(±10) nm, este proporţională concentraţiei proteinei[1,2].

COMPONENŢA SETULUI

Reagent	
Pirogalol roşu	50 mmol/l
Molibdat de sodiu	0,04 mmol/l
Prot Ure Standard	5 ml

Albumină/globulină, soluţie apoasă. Concentraţia este indicată pe etichetă flaconului.

PĂSTRAREA ŞI STABILITATEA REAGENŢILOR
Reagenţii sunt stabili la 2-8^{0}C pînă la data indicată pe etichetă.
Semne de deteriorare: prezenţa particulelor materiale, turbiditate, absorbţia Blancului ≥ 0,30 la 600 nm (cuva 1 cm).

PROBE
Urină şi lichid cefalorahidian (LCR).
Se va colecta urina nictemerală, se va determina volumul.
Proteina în urină la 2-8^{0}C este stabilă 8 zile.
Proteina în LCR la 2-8^{0}C este stabilă 4 zile.

VALORI DE REFERINŢĂ
Urină[3] : Pînă la 100 mg/24 h (pînă la 150 mg/24 h la gravide).
LCR[5]: Copii 300-1000 mg/l. Maturi 150-450 mg/l.
Aceste valori sunt orientative. Se recomandă stabilirea diapazonului de referinţă în laboratorul dat.

CONTROLUL CALITĂŢII
Pentru controlul mersului reacţiei şi a procedurii de măsurare se recomandă de folosit Mostre de urină pentru control cu concentraţia cunoscută a proteinei. Se recomandă stabilirea sistemului intern de control în laboratorul dat.

ECHIPAMENT ADIŢIONAL
Analizor, spectrofotometru sau fotometru cu filtrul 600(±10) nm.
Dozatoare 20 µl şi 1,0 ml.

PRECAUŢII
Setul este destinat numai pentru diagnosticare in vitro
Probele pacienţilor vor fi considerate ca material potenţial contagios şi se vor prelucra analogic celor contagioase. La utilizarea setului se vor respecta regulile de securitate prevăzute pentru lucrul cu substanţe toxice.

PREPARAREA REAGENŢILOR DE LUCRU
Reagenţii sunt gata de utilizare.

NOTE
1. Reagenţii daţi se utilizează şi pe analizor automat. În acest caz instrucţiunea se elaborează şi se livrează la solicitare.
2. Rezultate fals negative pot fi obţinute în cazul în care proba de urină este foarte bazică iar în acelaşi timp testarea acestei urine cu bandelete poate prezenta rezultat fals pozitiv.
3. Calibrarea cu standard de apă poate fi cauza greşelilor sistematice. În aşa caz se recomandă de folosit calibratorul pe bază de ser (Multi St-DAC Cod 2051M5).

MOD DE LUCRU
Metoda: punct final
Lungimea de undă: 600(±20) nm
Temperatura: 37^{0}C
Instalarea zero: blanc după regent

1. Reagentul şi fotometrul se vor încălzi pînă la 37^{0}C.
2. Se va pipeta în eprubetele marcate(Note 1,2):

	Blanc	Standard	Test
Prot Ure Standard	-	20 µl	-
Proba	-	-	20 µl
Reagent	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

NB: *Volumul reagentului şi probei pot fi schimbate proporţional conform volumului de lucru a cuvei analizatorului folosit.*
3. Se va amesteca bine şi se va incuba 5 minute 37^{0}C sau 10 minute la 15-25^{0}C.
4. Se va nota absorbţia Standardului ($\mathbf{A}_{St}$) şi Probei ($\mathbf{A}_{Pr}$) la 600 nm contra Blanc. Culoarea este stabilă nu mai puţin de 10 minute.

CALCUL
Concentraţia proteinei ($\mathbf{C}_{Pr}$) în proba de urină se va calcula utilizînd formula:

$$\frac{\mathbf{A_{Pr}}}{\mathbf{A_{St}}} \times \mathbf{C_{St}} \times V_{24\,h} = \mathbf{C_{Pr}}$$

Concentraţia proteinei ($\mathbf{C}_{Pr}$) în proba de LCR se va calcula utilizînd formula:

$$\frac{\mathbf{A_{Pr}}}{\mathbf{A_{St}}} \times \mathbf{C_{St}} = \mathbf{C_{Pr}}$$

CARACTERISTICI METROLOGICE
Limita sensibilităţii: 70 mg/l.
Limita liniarităţii: 4000 mg/l.
Pentru valori mai ridicate proba se va dilua cu soluţie fiziologică în raportul 1:2 şi se va repeta măsurarea. Rezultatul se va înmulţi la 2.
Reproductibilitatea în limitele perioadei:

Concentraţia medie	CV*	n*
800 mg/l	3,0 %	20
1600 mg/l	2,1 %	20

Reproductibilitatea de la perioadă la perioadă:

Concentraţia medie	CV*	n*
800 mg/l	3,2 %	25
1600 mg/l	3,0 %	25

*CV–coeficientul de variaţie; n–numărul de determinări.

Interferenţe:
Hemoliza influenţează rezultatul. Se va ţine cont de posibila interferenţă medicamentoasă, cît şi de interferenţa altor substanţe[4].
Aceste caracteristici metrologice au fost obţinute la utilizarea analizorului. Rezultatele pot varia în dependenţă de echipamentul utilizat sau procedura de determinare.

CARACTERISTICI DIAGNOSTICE
Nivelul înalt al proteinei în urină (proteinuria) se atestă în caz de hemoragii, hiperpermeabilitatea membranei bazale, difecte în reabsorbţia de calciu, concentraţia sporită de proteine micromoleculare patologice (lanţuri uşoare de imunoglobuline) şi secreţiile proteinelor în tractul urinar [3,5].
Proteinuria se atestă în cazul tuturor bolilor însoţite de dereglarea absorbţiei în canaliculele rinichilor; sindrom nefrotic, glomerulonefrită, infarct renal, neoformaţiuni maligne a rinichilor, nefropatie diabetică, sindrom Fanconi, intoxicaţii cu metale grele, sarcoidoză, patologii celulare falciforme.
Proteinuria însoţeşte neoformaţiunile maligne şi bolile inflamatorii ale căilor urinare, stări degenerative şi iritarea căilor renale inferioare.
Mielome multiple, gamapatii monoclonale, dereglări mieloproliferative şi limfoproliferative, cît şi efortul fizic (nivelul depinde de intensitatea efortului şi constituie 22 - 340 mg/24ore) pot provoca proteinuria.

DAC-SPECTROMED SRL
47, Armeneasca, str., apt. 64, Chisinau MD-2012 Moldova
Tel.: /+37322/ 574900,574922/23; fax: /+37322/ 574920
Email: office@dacspectromed.com
www.dacspectromed.com

PT MD 11-15796482-001:2003

Prot Ure - DAC.Lq

TOTAL URINARY AND CSF
COLORIMETRIC METHOD WITH PYROGALLOL RED
For «in vitro» use only
Store at 2-8^0**C**

Code 3076U50 2**x**25 ml+5 ml
Code 3076U250 2**x**125 ml+5 ml
Cod 3076U5 5 ml (Prot Ure Standard)

PRINCIPLE

Protein react in acid solution with pirogallol red and molybdate to form a colored complex.
The intensity of coloration, measured at 600(±10) nm, is proportional to the protein concentration in the sample.

CONTENTS AND COMPOSITION

Reagent

Pyrogallol red	50 mmol/l
Sodium molybdate	0,04 mmol/l
Prot Ure Standard	5 ml

Albumin/globulin, aqueous primary standard
Concentration is given on the label.

STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents at 2-8ºC are stable until the expiry date shown on the label when stored tightly closed and if contaminations are prevented during their use.
Indications of deterioration: Presence of particulate material, turbidity.Blank absorbance at 600 nm ≥0,2.

SAMPLES

Urine and cerebrospinal fluid (CSF).
Urine 24 h stability 8 days at 2-8^0 C.
Cerebrospinal fluid CSF stable 4 days at 2-8^{0}C.

REFERENCE VALUES

Urine: <100 mg/24 h (< 150 mg/24 h in pregnancy).
CSF: Children 300-1000mg/l
Adults 150-450 mg/l
These ranges are given for orientation only; each laboratory should establish its own reference ranges.

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the urines coltrol samples to verify the performance of the measurement procedure.
Each laboratory should establish its own internal Quality Control scheme and procedures for corrective action if controls do not recover within the acceptable tolerances.

ADDITIONAL EQUIPMENT

Analyzer, spectrophotometer or photometer able to read at 600±10 nm. Thermostat at 37^{0}C.
Dropper for 20 µl and 1,0 ml. Timer.

PRECAUTION

For in vitro diagnostics only.
Handle all patients' samples as potentially dangerous and treat as infectious.
Precautions established for work with caustic and toxic substances should be observed while using the reagents.

REAGENT PREPARATION

Reagents are provided ready to use.

PROCEDURE

Assay conditions

Method:	end point
Wavelength :	600(±10) nm
Temperature :	37°C/15-25°C
Blank:	against reagent

1. Pipette into labeled test tubes: (Notes 1):

	Blank	*Standard*	*Test*
ProtUre Standard, µl	-	20	-
Sample, µl	-	-	20
Reagent, ml	1,0	1,0	1,0

NB: Volumes of reagent, standard and samples can be proportionally changed according to the cells working volumes of using analyzers.
2. Mix thoroughly and incubate the tubes for 5 minutes at 37ºC or 10 minutes at 15-25 ºC.
3. Measure the absorbance (A) of the Standard and the Test at 600(±10) nm. against the Blank.
The colour is stable for at least 10 minutes.

CALCULATIONS

The protein concentration in the sample is calculated using the following general formula:

$$\frac{A_{Sample}}{A_{Standard}} \times C_{St} \times V_{24\,h} = C_{Sample}$$

The protein concentration in the sample CSF is calculated using the following general formula:

$$\frac{A_{Sample}}{A_{Standard}} \times C_{St} = C_{Sample}$$

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

Detection limit: 70 mg/l
Linearity limit: 4000 mg/l
For higher values dilute sample 1/2 with distilled water and repeat measurement. Multiply results by 2 (dilution factor).
Repeatability (within run):

Mean Concentration	*CV*	*N*
800 mg/l	3,0 %	20
1600 mg/l	2,1 %	20

Reproducibility (run to run):

Mean Concentration	CV	n
800 mg/l	3,2 %	25
1600 mg/l	3,0 %	25

* CV - coefficient of variation n – number of determinations
Interferences: Hemolysis and other substances and drugs may interfere[3].
These metrological characteristics have been obtained using an analyzer. Results may vary if a different instrument or manual procedures are used.

DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS

In healthy persons, the urine contains protein or only a trace amount of protein; normally the glomeruli prevent passage of protein from the blood to the glomerular filtrate. Glomerular injury causes increased permeability to plasma proteins, resulting in proteinuria, which refers to the presence of protein in the urine. A persistent finding of proteinuria is the single most important indication of renal disease. Elevated concentration of protein in cerebro-spinal fluid (CSF) can be cause by infections and intracranial pressure.

NOTES

1. This reagent may be used in several automated analyzers. Instructions for many of them are available on request.
2. False negative results may be obtained at testing of highly buffered alkaline urine. Test strips being tested at the same conditions may show false positive results.
3. Calibration with the provided aqueous standard may cause a matrix related bias, especially in some analyzers. In these cases, it is recommended to calibrate using a serum based standard (Multi St-DAC, cod. 2051M5).

BIBLIOGRAPHY

1. Orsonneau JL et al. An improved pyrogallol red-molybdate method for determining total urinary protein. Clin Chem 1989; 35: 2233-2236.
2. Koller A. Total serum protein. Kaplan A et al Clin Chem The C. V. Mosby Co. St Louis. Toronto, Princeton 1984; 1316-1324 and 418.
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC Press, 1999.
Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC Press, 1995.