STANDARDIZATION OF URNIE PROTEIN MEASURMENT

R. Mohammadi

Biochemist (Ph.D.)

Faculty member of Medical Faculty

EQAP 7 : URINE PROTEIN

Method	No.	Mean (mg/dL)	CV%
Pars Azmon (Automation)	45	25	33
Pars Azmon (Manual)	71	97	107
Biosystem (Automation)	15	74	129
Biosystem (Manual)	15	80	125
Ziest Chemi (Manual)	62	30	35
Bahar Afshan (Manual)	15	22	24

EQAP 8 : URINE PROTEIN

Method	No.	Mean (mg/dL)	CV%
Pars Azmon (Automation)	55	108	122
Pars Azmon (Manual)	71	97	117
Biosystem (Automation)	15	34	40
Biosystem (Manual)	10	88	118
Ziest Chemi (Manual)	62	39	14
Bahar Afshan (Manual)	16	29	23

EQAP 9 : URINE PROTEIN

Method	No.	Mean (mg/dL)	CV%
Pars Azmon (Automation)	61	136	23
Pars Azmon (Manual)	71	134	17
Biosystem (Automation)	14	158	7
Biosystem (Manual)	-	-	-
Ziest Chemi (Manual)	60	142	25
Bahar Afshan (Manual)	12	141	26

CV% OF URINE PROTEIN MEASURMENT

Method	EQAP 7	EQAP 8	EQAP 9
Pars Azmon (Automation)	33	122	23
Pars Azmon (Manual)	107	117	17
Biosystem (Automation)	129	40	7
Biosystem (Manual)	125	118	-
Ziest Chemi (Manual)	35	14	25
Bahar Afshan (Manual)	24	23	26

ON THE BASIS OF CAP PT SURVEYS

- Methods used to quantitate urinary protein have not been satisfactory.
- Mean values reported vary twofold between methods, with SSA method producing high values.
- Precision is poor, with SSA showing the poorest CV. TCA-biuret, Coomassie blue, and TCA show closer agreement and about half the CV of SSA.
- Problems arise from nonstandardized methods. With turbidity methods these include different and concentration and timing, and variation in protein used.

URINE PROTEIN

- In Normal State , Maximally There Is 150 mg/24h or 10 mg/dL Protein in Urine
- More Than 200 Protein Have Been Found in Urine Including
  - 1/3 Albumin
  - 1/3 Tomm-Horsfall
  - 1/3 Other Proteins

URINE PROTEIN

- In Normal State , Maximally There Is 150 mg/24h or 10 mg/dL Protein in Urine
- More Than 200 Protein Have Been Found in Urine Including
  - 1/3 Albumin
  - 1/3 Tomm-Horsfall
  - 1/3 Other Proteins

TYPES OF PROTEINURIA

Classification Based On Origin

- **Prerenal**

  Dehydration, Decreased Blood Flow, Increased Pressure on Kidney, Fever , Infectious Disease

- **Renal**

  Glumerolar , Tubular

- **Postrenal**

  Inflammation, Infection, Stone

TYPES OF PROTEINURIA

Classification Based On Amount of Secreted Protein

- Microproteinuria
- Minimal Proteinuria
- Moderate Proteinuria
- Severe Proteinuria

TYPES OF PROTEINURIA

Classification Based On Time of Proteinuria

- Transient proteinuria
- Intermittent Proteinuria
- Orthostatic Proteinuria
- Constant Proteinuria

LABORATORY INVESTIGATION OF PROTEINURIA

- Screening Strip Test
- Confirmatory Test
- Quantitative Total Protein Measurement
- Specific Protein Detection or Determination

SCREENING STRIP TEST

- **Based on Error of Indicator**
- **It Is Sensitive for Albumin, But Not Globulins**
- **Interference with Bilirubin and Drugs Such as Phenoazopyridine Which Give Orange Colour**
- **False Positive Results**

1) Urine alkaline pH

2) Increased contact time with urine

3) Contamination with quaternary ammonium compounds or chlorohexidine

- **False Negative Results**

1) Increased Salts

2) Protein Other than Albumin

CONFIRMATORY TESTS

- **Based on Denaturation of Proteins**
- **Detects Albumin & Also Globulins**

1) With SSA, turbidity for albumin is 2.5 times of globulins

2) with TCA, turbidity for globulin is greater than albumin, but this difference is not marked

- **False Positive Results**

1) Turbid urine

2) Radiographic contrast media

3) Drugs such as penicillin, sulfonamides or Cephalosporin

- **False Negative Results**

Highly alkaline urine pH

کادر. کیفی و نیمه‌کمّی پروتئین‌ها در ادرار با استفاده از اسید سولفوسالیسیلیک

معرف‌ها

محلول ۷٪ اسیدسولفوسالیسیلیک. ۷۰ g اسید سولفوسالیسیلیک را در مقداری آب مقطر یا آب دیونیزه حل نموده و حجم را به یک لیتر برسانید.

روش کار

۱) بعد از سانتریفوژ ۱۲ mL نمونه ادرار، ۱۱ mL مایع رویی شفاف آن را به یک لوله دیگر انتقال دهید.
۲) ۳ mL محلول ۷٪ اسید سولفوسالیسیلک را به صاف‌شده ادرار اضافه کنید.
۳) درب لوله را بسته و محتویات آن را ۲ بار وارونه‌نمودن لوله آزمایش بخوبی مخلوط نمایید.
۴) اجازه بدهید نمونه دقیقاً ۱۰ دقیقه بماند.
۵) دوبار لوله آزمایش را وارونه کنید.
۶) نتیجه را بلافاصله بخوانید. شدت رسوب را مورد ارزیابی قرار داده و با استفاده از جدول زیر، نتایج را براساس میزان کدورت گزارش نمایید.

نتیجه آزمایش	میزان کدورت و رسوب لوله آزمایش	حدود پروتئین ادرار
منفی	بدون کدورت یا عدم افزایش میزان کدورت	< ۵ mg/dL
ناچیز (Trace)	کدورت ضعیف در نور اتاق؛ کلمات را می‌توان از پشت لوله خواند، ولی این کلمات بدشکل هستند.	۵–۲۰ mg/dL
۱+	کدورت مشخص و بدون ذرات مجزا	۳۰ mg/dL
۲+	کدورت همراه با ایجاد ذرات و بدون فلوکولاسیون	۱۰۰ mg/dL
۳+	کدورت با ایجاد ذرات و وجود فلوکولاسیون	۳۰۰–۵۰۰ mg/dL
۴+	توده‌هایی از پروتئین‌های رسوب‌یافته یا وجود رسوب جامد	< ۵۰۰ mg/dL

BENCE JONES PROTEIN (BJP)

- **Strip Is Neg , But SSA Is Pos**
- **The Best Method Is Electrophoresis**
- **Heat Test Has A Low Sensitivity**
- **False Results with Heat Test Are Due to :**

1) Low concentration

2) High concentration

3) Presence of other proteins

4) All BJP do not react with this test

STANDARDIZATION OF URINE PROTEIN QUANTITATION

- Urine Collection
- Method of Analysis
- Calibration
- Calculations and Reporting

URINE COLLECTION

- Timed Urine Specimens
- Preservatives
- Patient Activity

METHOD OF ANALYSIS

- Biuret Method
- Precipitation Methods, such as SSA and TCA
- Dye-binding Methods, such as Pyrogallol red or CBB

CALIBRATION OF METHOD

- Bovine or human albumin
- Diluted Serum (or serum pool) with a normal albumin/globulin ratio, and analyzed for total protein with a correctly calibrated and well controlled biuret or Kjeldahl's method

CALCULATION AND REPORTING

- Unite of urine protein analyze may be mg/dL or mg/L
- Unite of urine protein reporting may be mg/dL, mg/L, mg/12, or mg/24h