



همبستگی اندازه‌گیری پروتئین ادرار با دو روش تری کلرواستیک اسید و بنزاتونیوم کلرايد

سید محمد مسعودیان: کارشناس ارشد بیوشیمی بالینی، کمیته پژوهشی دانشجویان، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، و آزمایشگاه تشخیص طبی مسعود، تهران، ایران

مهرزاد ناهید: دکترای علوم آزمایشگاهی، آزمایشگاه تشخیص طبی مسعود، تهران، ایران

سید مهدی ابراهیمی: دکترای علوم آزمایشگاهی، آزمایشگاه تشخیص طبی مسعود، تهران، ایران، و دکترای تخصصی بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی بالینی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

ابوالفضل امیدی فر: کارشناس ارشد بیوشیمی بالینی، کمیته پژوهشی دانشجویان، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، و آزمایشگاه تشخیص طبی مسعود، تهران، ایران

مجید خوش میرصفا: گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

فرهاد سیف: گروه ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

مهرنوش شانکی: استادیار بیوشیمی بالینی، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران (* نویسنده مسئول)
shanaki_m@sbmu.ac.ir

چکیده

کلیدواژه‌ها

پروتئینوری،

پروتئین ادرار ۲۴ ساعته،

تری کلرواستیک اسید (TCA)،

بنزاتونیوم کلرايد (BEC)

زمینه و هدف: پروتئینوری یکی از علائمی است که نشان‌دهنده وجود اختلال در عملکرد کلیه‌ها است و اندازه‌گیری میزان پروتئین ادرار ۲۴ ساعته یکی از روش‌های کلیدی در تشخیص نارسایی کلیوی و عفونت مجاری ادراری است. بررسی وجود ارتباط میان نتایج حاصل از روش‌های مختلف اندازه‌گیری پروتئین ادرار ۲۴ ساعته می‌تواند باعث افزایش کارایی در تشخیص پروتئینوری با استفاده از این روش‌ها شود. روش‌های بر پایه توربیدومتری مانند تری کلرواستیک اسید (TCA) و بنزاتونیوم کلرايد (BEC) از جمله روش‌های مورد استفاده در اندازه‌گیری پروتئین ادرار هستند. هدف از این مطالعه بررسی همبستگی اندازه‌گیری پروتئین ادرار با دو روش تری کلرواستیک اسید (TCA) در مقایسه با روش دستگاهی بنزاتونیوم کلرايد (BEC) می‌باشد.

روش کار: این مطالعه بر روی ۱۶ فرد از مراجعه کنندگان به آزمایشگاه تشخیص طبی مسعود تهران انجام گرفت. از افراد شرکت‌کننده در مطالعه نمونه ادرار ۲۴ ساعته گرفته شد. سپس میزان پروتئین ادرار با دو روش تری کلرواستیک اسید (TCA) و بنزاتونیوم کلرايد (BEC) به ترتیب در طول موج‌های ۴۹۵ و ۵۱۲ نانومتر اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج بدست آمده از آزمون همبستگی پیرسون نشان داد که ضریب همبستگی برای دو روش تری کلرواستیک اسید (TCA) و بنزاتونیوم کلرايد (BEC) برابر با 0.914 ± 0.001 است. آنالیز رگرسیون Passing and Bablok نشان داد که میانگین غلظت پروتئین ادرار با روش بنزاتونیوم کلرايد (BEC) برابر با $19/8 \pm 17/31$ و برای روش تری کلرواستیک اسید (TCA) برابر با $20/59 \pm 17/40$ میلی گرم در دسی لیتر است.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه نشان داده شد که میان نتایج اندازه‌گیری شده در محدوده $1-150$ میلی لیتر پروتئین ادرار ۲۴ ساعته با دو روش تری کلرواستیک اسید (TCA) و بنزاتونیوم کلرايد (BEC) تفاوت وجود ندارد و همبستگی به نسبت مناسبی میان نتایج دو روش تری کلرواستیک اسید (TCA) و بنزاتونیوم کلرايد (BEC) در محدوده $1-150$ میلی گرم وجود داشته و در کل داده‌های حاصل از دو روش توافق خوبی با یکدیگر دارند.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: کمیته پژوهشی دانشجویان و معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

شیوه استناد به این مقاله:

Masoodian SM, Nahid M, Omidifar A, Khoshmirsafa M, Seif F, Shanaki M. The correlation of urine protein measurement using two trichloroacetic acid and benzethonium chloride methods. Razi J Med Sci. 2019;25(12):56-63.

* منتشر این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با [CC BY-NC-SA 1.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/1.0/) صورت گرفته است.



Original Article

The correlation of urine protein measurement using two trichloroacetic acid and benzethonium chloride methods

Seyed Mohammad Masoodian, MSc, Student Research Committee, Department of Medical Laboratory Sciences, School of Allied Medical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran, & Massoud Clinical Laboratory, Tehran, Iran

Mehrzed Nahid, PhD, Massoud Clinical Laboratory, Tehran, Iran. Seyed Mehdi Ebrahimi, PHD, Department of Clinical Biochemistry, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, & Massoud Clinical Laboratory, Tehran, Iran

Abolfazl Omidifar, MSc, Student Research Committee, Department of Medical Laboratory Sciences, school of Allied Medical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Majid Khoshmirsafa, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Farhad Seif, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

ID Mehrnoosh Shanaki: PhD, Department of Medical Laboratory Sciences, school of Allied Medical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran (*Corresponding author) shanaki_m@sbmu.ac.ir

Abstract

Background: Proteinuria is one of the symptoms affecting the functioning of the kidneys and 24-hour urine protein measurement is one of the key methods for diagnosis of renal failure and urinary tract infections. Investigating the relationship between the results of various methods of measuring 24-hour urine protein can increase the efficiency of proteinuria detection using these methods. Turbidometric-based methods such as Trichloroacetic Acid (TCA) and Benzethonium Chloride (BEC) are among the methods used to measure urine protein. The aim of this study was to evaluate the correlation between urine protein measurements with TCA in comparison to BEC.

Methods: This study was performed on 116 patients referring to Massoud medical diagnostic laboratory in Tehran. The 24-hour urine samples were taken. Then, the amount of urine protein was measured by both TCA and BEC method at 495 and 512 nm wavelengths respectively.

Results: The results obtained using Pearson correlation test showed the correlation coefficient for both TCA and BEC methods is 0.914 ($p<0.001$). Passing and Bablok regression analysis showed the average protein concentration of the urine with BEC method was 17.31 ± 19.81 and for the TCA method was 17.40 ± 20.59 mg/dl.

Conclusion: In this study, it was shown that there is no difference between the measured results in the range of 1-150 mg/dl of 24-hour urine protein with both TCA and BEC methods. Also, there was a good agreement in correlation between the results of both TCA and BEC in the range of 1-150 mg. In total, the data from the two methods were in agreement with each other.

Conflicts of interest: None

Funding: Student Research Committee and Vice Chancellor for Research and Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Keywords

Proteinuria,
24-hour urine protein,
Trichloroacetic (TCA),
Benzethonium chloride
(BEC)

Received: 18/10/2018

Accepted: 10/01/2019

Cite this article as:

Masoodian SM, Nahid M, Omidifar A, Khoshmirsafa M, Seif F, Shanaki M. The correlation of urine protein measurement using two trichloroacetic acid and benzethonium chloride methods. Razi J Med Sci. 2019;25(12):56-63.

This work is published under CC BY-NC-SA 1.0 licence.



رسوب داده می‌شوند. با این وجود برخی از روش‌های توربیدومتریک که به صورت دستی انجام می‌شوند، محدودیت‌هایی از قبیل صحت پایین، عدم تکرار پذیری مناسب، اختصاصیت و حساسیت متفاوت نسبت به پروتئین‌های مختلف را دارا هستند (۱۰). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که روش SSSS از روش SSS دقیق‌تر می‌باشد، در حالی که روش TCA حساسیت به مراتب بالاتری نسبت به SSSS داشته است. از روش TCA که به صورت دستی انجام می‌گردد، می‌توان برای غربالگری وضعیت کلیوی جمعیت‌های مستعد به بیماری کلیوی مانند میتلایان به دیابت در راستای بررسی میکروپروتئینوری استفاده نمود (۱۱، ۱۲).

امروزه استفاده از روش‌های توربیدومتری مبتنی بر اتوماسیون و استفاده از دستگاه‌های اتوآنالایزر در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی و بیمارستان‌ها مورد استقبال قرار گرفته است. کیت‌های متعددی برای سنجش پروتئین ادرار به صورت دستگاهی وجود دارد که اساس آزمایش در بیشتر آن‌ها مشابه بوده و بر مبنای ایجاد رنگ و سنجش میزان آن می‌باشد. یکی از روش‌های مورد استفاده اندازه‌گیری پروتئین ادرار با استفاده از معرف بنزاتونیوم کلراید (BEC) است که مبتنی بر رسوب پروتئینی و خوانش محلول در طول موج مشخص می‌باشد. از مزایای استفاده از این روش در مقابل روش دستی تری کلرواستیک اسید (TCA)، حساسیت بیشتر نسبت به پروتئین‌های مختلف از قبیل بنز جونز و آلفا میکروگلوبین و همچنین تکرار پذیری بالاتر می‌باشد. از جمله اتوآنالایزرهای مورداستفاده برای، این روش Cobas integra 400 plus است که از روش ارتقاء‌یافته‌ی بنزاتونیوم کلراید (BEC) استفاده می‌کند، به طوری که کدورت ایجاد شده در این روش پایداری بیشتری داشته و همچنین با یون‌های منیزیم حاصل از افزودن EDTA تداخل ایجاد نمی‌کند (۱۲، ۱۳).

بررسی وجود ارتباط میان نتایج حاصل از روش‌های مختلف اندازه‌گیری پروتئین ادرار ۲۴ ساعته (دستی و یا دستگاهی) و تعیین رابطه موجود میان آن‌ها می‌تواند

کلیه‌ها از اعضای مهم و حیاتی هستند که اعمال مختلفی را در بدن انجام می‌دهند (۱). یکی از مهم‌ترین نشانه‌های نقص در عملکرد کلیه، افزایش دفع پروتئین در ادرار (Proteinuria) بوده، به‌طوری که اندازه‌گیری میزان پروتئین دفع شده در ادرار، از روش‌های تشخیص نارسایی کلیوی و عفونت مجاری ادرار می‌باشد (۲). افزون براین، بررسی پروتئینوری، در تشخیص و پیش‌آگهی بیماری‌ها و اختلالات مختلفی از قبیل نفropاتی دیابتی، لوپوس اریتماتوز سیستمیک، آمیلوئیدوز، گلومرولونفریت عفونی، فشارخون و اکلامپسی در طول دوران بارداری از اهمیت بسزایی برخوردار است (۳). غربالگری یکی از ابزارهای مهم در تشخیص و پیشگیری اختلالات و بیماری‌های مختلف می‌باشد که پایش میزان پروتئین ادرار یکی از روش‌های غربالگری در بیماری‌های کلیوی است (۴).

به طور کلی، اساس اندازه‌گیری پروتئین در ادرار به صورت کمی، نیمه کمی و کیفی و بر پایه روش‌های ایمونوژیمی، کدورت سنجی و شیمیایی می‌باشد (۵). متدائل ترین این روش‌ها عبارتند از: تست نوار ادراری، روش‌های مبتنی بر رسوب دادن (توربیدومتریک) از قبیل سولفاسیلیک اسید (Sulfosalicylic acid)، سولفاسیلیک اسید به همراه سدیم (SSSS)، تری کلرواستیک اسید (Trichloroacetic acid) و بنزاتونیوم (Benzethonium chloride) و یا روش‌های کلراید (Pyrogallol red-molybdate) و کوماسی بلو (Coomassie Brilliant Blue) مبتنی بر اتصال به رنگ‌ها از قبیل پیروگالل مولیبدات به دلیل ابزار و مواد اختصاصی و هزینه به نسبت بالا در مقایسه با سایر روش‌ها به صورت معمول در آزمایشگاه‌ها مورد استفاده قرار نمی‌گیرند (۶-۹). همچنین، استفاده از نوار ادرار به خاطر کیفی بودن نتایج برای ادرار ۲۴ ساعته کارایی ندارد. در این میان، روش توربیدومتری (کدورت سنجی) به علت ساده و مقرن به صرفه بودن در آزمایشگاه‌ها کاربرد بیشتری دارد. در این روش پروتئین‌ها براساس اندازه آن‌ها

اساس اندازه‌گیری بصورت توربیدومتریک است. در این روش ابتدا نمونه ادرار با محلول بازی حاوی EDTA انکوبه شد تا پروتئین آن دناتوره و به یون منیزیم متصل شود، سپس بنزاتونیوم کلراید اضافه شده تا کدورت ایجاد شود. در نهایت کدورت ایجاد شده در طول موج ۵۱۲ نانومتر خوانده شد (۱۲).

اندازه‌گیری پروتئین تام با روش TCA: برای تهیه تری کلرواستیک اسید (TCA) ۱۲/۵ درصد، مقدار ۵۰ گرم از پودر خالص تری کلرواستیک اسید در ۴۰۰ میلی لیتر آب دو بار تقطیر حل شد و به مدت ۳۰ دقیقه روی دستگاه همزن مغناطیسی قرار داده شد. همچنین از آلبومین گاوی تجاری ۰/۲۲٪ از شرکت پالایش و پژوهش خون جهت تهیه استاندارد استفاده شد. با توجه به جدول زیر جذب نمونه‌های بیماران در حضور بلانک در طول موج ۴۹۵ نانومتر خوانش شد (۱۱). غلظت پروتئین ادرار بیماران از فرمول زیر محاسبه شد:

$$Pr_t = \frac{OD_{sample} - OD_{blank}}{OD_{standard}} \times Cons_{standard}$$

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌ها توسط نرم افزار MedCalc ورژن ۱۷ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. همچنین نمودارها نیز توسط این نرم افزار ارائه شدند. عدم دقت (Imprecision) روش‌ها بصورت ضریب تغیرات گزارش شدند. برای مقایسه بین روش‌ها ابتدا آنالیز همبستگی پیرسون (Correlation) انجام شد. از آنجایی که ضریب همبستگی تنها قدرت و جهت ارتباط بین دو روش را اندازه‌گیری می‌کند و میزان توافق (Agreement) بین روش‌ها بررسی نمی‌شود؛ بدین منظور از آنالیز Bland و Altman و در ادامه رگرسیون Bablok و Passing استفاده شد.

یافته‌ها

تعداد ۱۱۶ فرد با میانگین سنی $52/87 \pm 17/1$ سال، در دو گروه مساوی زن (۵۸ فرد) و مرد (۵۸ فرد) در این مطالعه شرکت کرده اند. حداقل و حدکثر سن شرکت کنندگان به ترتیب ۵ و ۸۵ سال بود. اندازه‌گیری عدم دقت (Imprecision) روش تری

با کاهش تناقصات موجود (مثبت کاذب و منفی کاذب) باعث افزایش کارایی در تشخیص پروتئینوری با استفاده از این روش‌ها شود. دستیابی به روشی دقیق، ارزان، تکرارپذیر، خطی و با حساسیت بالا در تشخیص پروتئین موجود در ادرار یکی از چالش‌های مهم حوزه آزمایشگاه‌های تشخیصی است. در واقع چالش اصلی در آزمایشگاه و امر تشخیص بالینی، معرفی روشی است که نتایج آن کیفیت و دقت قابل قبولی داشته باشند و همچنین دسترسی به ابزار و مواد مورد نیاز آن آسان و ارزان باشد (۵). در مطالعات مختلف، دو روش تری کلرواستیک اسید (TCA) و بنزاتونیوم کلراید (BEC) با یکدیگر مقایسه شده اند. همچنین در برخی از موارد در غلظت‌های مختلف، ارتباط خطی این دو روش مورد بحث قرار گرفته است (۱۵، ۱۴، ۹). هدف از مطالعه حاضر بررسی همبستگی و تطابق نتایج اندازه‌گیری پروتئین ادرار ۲۴ ساعته با دو روش بنزاتونیوم کلراید (BEC) مبتنی بر اتماسیون و روش دستی تری کلرواستیک اسید (TCA) می‌باشد.

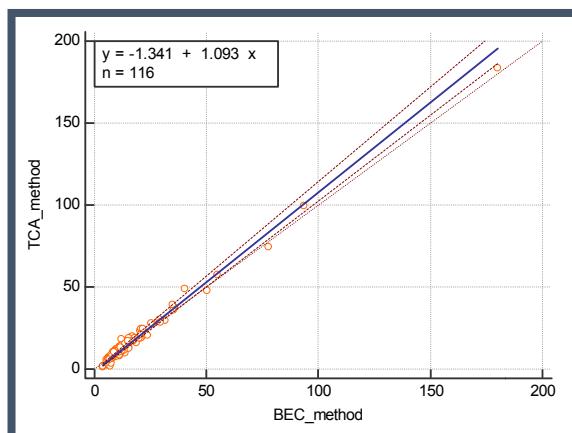
روش کار

این یک مطالعه آزمایشگاهی تجربی بود که در سال ۱۳۹۶ در آزمایشگاه تشخیص طبی مسعود تهران انجام شد. این پژوهش توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی (IR.SBMU.) تایید گردید. همچنین از شرکت کنندگان در مطالعه رضایت شفاهی و آگاهانه اخذ گردید. در این پژوهش، نمونه‌های ۱۱۶ فرد از اشخاصی که ادرار ۲۴ ساعته آنها جمع اوری شده بود، مورد مطالعه قرار گرفت. پس از جمع اوری ادرار ۲۴ ساعته توسط فرد، نمونه‌ها از لحاظ حجم اندازه‌گیری شد، تقسیم شد و برای انجام تست پروتئین ادرار به بخش مربوطه منتقل شدند. در ابتدای هر دو روش نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه و در دور ۳۰۰۰ g سانتریفیوژ شدند.

اندازه‌گیری پروتئین تام با روش بنزاتونیوم کلراید: اندازه‌گیری پروتئین تام ادرار با دستگاه کوباس اینتگرا ۴۰۰ پلاس ساخت سوئد و از کیت پروتئین TPUC3 از شرکت Roche آلمان و به روش توربیدومتری انجام شد. کنترل‌ها و کالیبراتور مورد استفاده به ترتیب

روش وجود ندارد (شکل ۲). بر اساس آنالیز رگرسیون Passing و Bablok میانگین غلطت پرتوئین ادرار (BEC) ($SD \pm mean$) با روش بنزاتونیوم کلراید (BEC) ($SD \pm mean$) تغییرات (CV) برای روش تری کلرواستیک اسید (TCA) و برای روش بنزاتونیوم کلراید (BEC) تعیین گردید. ضریب تغییرات به درصد از محاسبه انحراف از معیار خوانش ها تقسیم بر میانگین آن ها محاسبه شد. اندازه گیری عدم صحت (Inaccuracy) روش تری کلرواستیک اسید و بنزاتیونیوم کلراید: در ابتدا پرتوئین ادرار ۱۱۶ نمونه با هر دو روش تری کلرواستیک اسید و بنزاتیونیوم کلراید اندازه گیری شد. نتایج بدست آمده با استفاده از تست همبستگی پیرسون مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. ضریب همبستگی (r) برای دو روش تری کلرواستیک اسید و بنزاتیونیوم کلراید برابر با 0.914 ($p < 0.001$) می باشد. نتایج بدست آمده نشان دهنده همبستگی خوب (Good Correlation) بین دو روش است (شکل ۱ و جدول ۱). با استفاده از آنالیز معناداری از حالت خطی مشاهده نمی شود ($p = 0.62$). همچنین، $1/96 \pm 1/29$ نا- $3/29$ - است و بیانگر آنست که 95% تفاوت های تصادفی موجود در این محدوده قرار می گیرند و در نتیجه نتایج حاصل از روش های

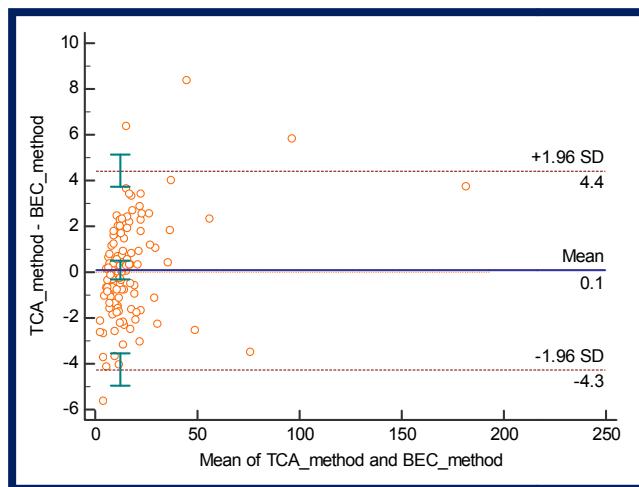
کلرواستیک اسید و بنزاتونیوم کلراید: با استفاده از نمونه استاندارد که ۲۰ بار مورد خوانش قرار گرفت. ضریب تغییرات (CV) برای روش تری کلرواستیک اسید (TCA) و برای روش بنزاتونیوم کلراید (BEC) تعیین گردید. ضریب تغییرات به درصد از محاسبه انحراف از معیار خوانش ها تقسیم بر میانگین آن ها محاسبه شد. اندازه گیری عدم صحت (Inaccuracy) روش تری کلرواستیک اسید و بنزاتیونیوم کلراید: در ابتدا پرتوئین ادرار ۱۱۶ نمونه با هر دو روش تری کلرواستیک اسید و بنزاتیونیوم کلراید اندازه گیری شد. نتایج بدست آمده با استفاده از تست همبستگی پیرسون مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. ضریب همبستگی (r) برای دو روش تری کلرواستیک اسید و بنزاتیونیوم کلراید برابر با 0.914 ($p < 0.001$) می باشد. نتایج بدست آمده نشان دهنده همبستگی خوب (Good Correlation) بین دو روش است (شکل ۱ و جدول ۱). با استفاده از آنالیز معناداری از حالت خطی مشاهده نمی شود ($p = 0.62$). همچنین خط برابری میان بین دو روش $1/1$ می باشد. همچنین خط برابری $1/95$ در محدوده اطمینان $95\%CI$ (Line of Equality) تفاوت میانگین ها (differences Mean) نشان داد تغییرات معنادار سیستماتیکی بین نتایج دو



شکل ۱- مقایسه نتایج بدست آمده از دو روش تری کلرواستیک اسید (TCA) و بنزاتونیوم کلراید (BEC) با استفاده از همبستگی پیرسون.

جدول ۱- محلول های مورد استفاده در روش TCA

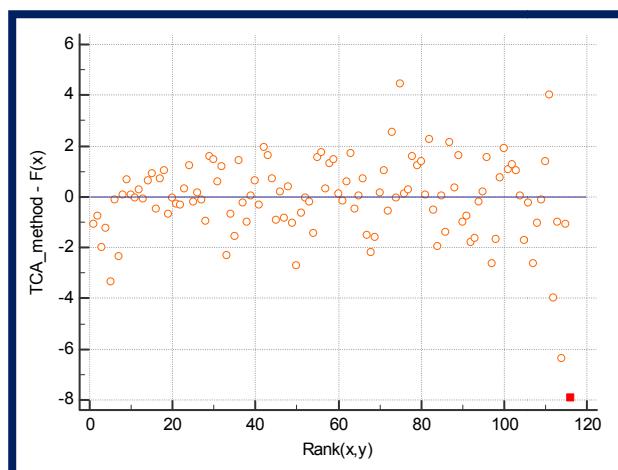
نمونه	استاندارد	بلانک	ماده مورد استفاده
-	-	۲ میلی لیتر	آب مقطّر
۰/۵ میلی لیتر	۰/۵ میلی لیتر	۰/۵ میلی لیتر	TCA 12.5%
۲ میلی لیتر	-	-	نمونه ادرار بیمار
-	۲ میلی لیتر	-	استاندارد



شکل ۲- نمودار آنالیز Bland و Altman برای دو روش تری کلرواستیک اسید(TCA) و بنزاتونیوم کلرايد(BEC)

جدول ۲- آزمون همبستگی پیرسون و

معادله خط	$Y = 1.22 + 0.91X$
Intercept A (عرض از مبدأ)	۱/۲۲۶۸
%۹۵ CI	.۶۵۰۰-۱/۷۸۷۲
Slope B (شیب خط)	.۹۱۴۷
%۹۵ CI	.۹۵-۰/۸۶
انحراف معیار مقادیر باقی مانده	
(RSD)	۱/۶۷۹۶
$\pm ۱/۹۷ RSD$	-۳/۱۹۲۰-۳/۱۹۲
Cusum آزمون	P=0.62*
* عدم وجود انحراف از حالت خطی	



شکل ۳- نمودار مقادیر باقیمانده ها با استفاده از آنالیز خطی کیوسام

بحث و نتیجه‌گیری

اندازه‌گیری میزان پروتئین ادرار یکی از شاخص‌های مناسب در بررسی اختلالات کلیوی است و به طور کلی

بنزاتونیوم کلرايد (BEC) و تری کلرواستیک اسید (TCA) اختلاف معناداری با یکدیگر نداشته و نتایج همگرایی دارند.

گرفته است (۱۳). نتایج این مطالعه حاکی از آن بود که دو روش تری کلرواستیک اسید (TCA) و بنزاتونیوم کلراید (BEC) صحت و تکرارپذیری بیشتری نسبت به SSS داشته و نتایج حاصل از این دو روش با یکدیگر هم خوانی دارند که در واقع نتایج حاصل از این مطالعه همسو با نتایج مطالعه حاضر بود. Funaba و همکاران نیز در مطالعه‌ای نتایج حاصل از روش‌های مختلف توربیدومتریک را با یکدیگر مقایسه کردند. در این مطالعه نشان داده شد که در محدوده پاتولوژیک روش بنزاتونیوم کلراید (BEC) و تری کلرواستیک اسید (TCA) توافق نسبتاً خوبی با یکدیگر دارند اما نتایج در غلظت‌های پایین و در محدوده نرمال با یکدیگر هم خوانی ندارند (۷). برخلاف مطالعه Funaba در مطالعه حاضر نشان داده شد که نتایج دو روش بنزاتونیوم کلراید (BEC) و تری کلرواستیک اسید (TCA) در محدوده نرمال توافق مناسبی با یکدیگر دارند.

امروزه به دلیل افزایش روز افرون جمعیت و همچنین ابتلا به بیماری‌های مختلف، روش‌های سریع، با دقیق و در عین حال ارزان قیمت جهت تشخیص مارکرهای مختلف بیماری درآزمایشگاه‌های تشخیص طبی مورد نیاز می‌باشد. روش بنزاتونیوم کلراید (BEC) یکی از روش‌های توربیدومتریک است که در اندازه‌گیری میزان پروتئین ادرار مورد استفاده قرار می‌گیرد. این روش مبتنی بر استفاده از آتو‌اناالایزر است که با سرعت و دقت بالا می‌تواند در اندازه‌گیری پروتئین ادرار مورد استفاده قرار بگیرد. روش دستی تری کلرواستیک اسید نیز در اندازه‌گیری پروتئین ادرار مورد استفاده قرار می‌گیرد. با این حال یکی از محدودیت‌های این روش زمان بر بودن و همچنین نیاز به حجم نمونه بیشتر در مقایسه با روش بنزاتونیوم کلراید (BEC) می‌باشد.

در این مطالعه نشان دادیم که میان نتایج اندازه‌گیری شده در محدوده ۱-۱۵۰ میلی گرم ادرار ۲۴ ساعته با دو روش تری کلرواستیک اسید (TCA) و بنزاتونیوم کلراید (BEC) تنافض وجود ندارد و هردو روش مقادیر پروتئین ادرار را با صحت مناسبی اندازه‌گیری کردند. با این وجود در این مطالعه غلظت‌های بیشتر از ۱۵۰ میلی گرم مورد بررسی قرار نگرفته است. مطالعات بیشتری با حجم نمونه بالاتر نیاز است تا همبستگی نتایج حاصل از این دو روش را در مقادیر پاتولوژیک

میزان پروتئین تام ادرار در افراد سالم کمتر 1 mg/dL ۱۴ و یا کمتر از ۱۵۰ میلی گرم در روز می‌باشد (۷). روش‌های متفاوت کیفی و کمی برای اندازه‌گیری پروتئین ادرار وجود داشته که هر کدام مزايا و معایب خاص خود را دارد هستند. مطالعات مختلف اندازه‌گیری پروتئین ادرار با روش‌های SSS، پیروگالل مولیبدات، BCA و نوار ادرار را با یکدیگر مقایسه کرده‌اند (۴، ۵، ۷، ۱۰، ۱۱) اما تاکنون همبستگی نتایج حاصل از دو روش تری کلرواستیک اسید (TCA) و بنزاتونیوم کلراید (BEC) با یکدیگر مقایسه نشده‌اند. در این مطالعه، همبستگی اندازه‌گیری پروتئین ادرار ۲۴ ساعته با دو روش توربیدومتریک تری کلرو استیک اسید و دستگاهی بنزاتیونیوم کلراید مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز رگرسیون نشان داد که همبستگی مناسبی میان نتایج دو روش در محدوده ۱-۱۵۰ میلی گرم وجود داشته و در کل داده‌های حاصل از دو روش توافق مناسبی با یکدیگر دارند.

روش‌های توربیدومتریک به دلیل سهولت انجام، سادگی، سریع بودن و همچنین آشنایی آزمایشگاه‌های بالینی با این روش‌ها به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند. در میان روش‌های توربیدومتریک، Yalamati و همکاران نشان دادند که روش SSS با RPM همبستگی مناسبی نداشته و همچنین تحت تاثیر نسبت آلبومین-گلوبین قرار می‌گیرد و در نتیجه نتایج را در محدوده بالاتری خواش می‌کند. افزون براین در این مطالعه نشان داده شد که نتایج افزون براین در این مطالعه نشان داده شد که نتایج حاصل از روش SSS با نتایج تری کلرواستیک اسید (TCA) همبستگی ندارد اما روش تری کلرواستیک اسید (TCA) صحت و دقت مناسبی در محدوده نرمال پروتئین ادرار دارد (۱). افزون براین، در مطالعه‌ای نتایج حاصل از دو روش بنزاتونیوم کلراید (BEC) و SSS با یکدیگر مقایسه شده است (۴). یافته‌ها حاکی از آن است که روش بنزاتونیوم کلراید (BEC) حساسیت و تکرار پذیری بالاتری داشته و عوامل مداخله گر کمترین تاثیر را بر نتایج حاصل از روش بنزاتونیوم کلراید (BEC) دارند. در یک مطالعه دیگر، صحت، دقت، و تکرارپذیری روش‌های تری کلرواستیک اسید (TCA)، SSS و بنزاتونیوم کلراید (BEC) (اتوآنالایزر ۷۱۷۰ Hitachi) در نمونه‌های ادرار و CSF مورد بررسی قرار

concentration estimation for biomarker discovery. *Pregnancy Hypertens*; 2013;3:211-4.

11. Shahangian SBP, Ash KO. Turbidimetric measurement of total urinary proteins: a revised method. *Am J Clin Pathol*; 1983. 81(5):651-4.

12. Yilmaz FM, Celebi N, Yucel D. Automated Turbidimetric Benzalkonium Chloride Method for Measurement of Protein in Urine and Cerebrospinal Fluid. *Clin Chem*. 2004;50(8):1450.

13. Shephard MD, Whiting MJ. Nephelometric determination of total protein in cerebrospinal fluid and urine using benzalkonium chloride as precipitation reagent. *Ann Clin Biochem*; 1992. 29:411-7.

14. Suzuki Y. Reaction principle of the turbidimetric method for urine protein using cationic detergent. *Jpn J Med Tech*; 2014;63(6):687-93.

15. Yilmaz F, Celebi N, Yucel D. Automated Turbidimetric Benzalkonium Chloride Method for Measurement of Protein in Urine and Cerebrospinal Fluid. *Clin Chem*; 2004. 50(8): 1450-2

بیشتر از ۱۵۰ میلی گرم و همچنین در افراد با سابقه بیماری‌های کلیوی و پروتئینوری مورد ارزیابی قرار دهد.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل طرح مصوب شورای پژوهشی کمیته پژوهشی دانشجویان دانشگاه علوم پزشکی شهرید بهشتی به شماره ثبت ۶۶۹۷۴ ص/۱۳۹۶ می‌باشد. از کمیته پژوهشی دانشجویان و معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی شهرید بهشتی برای حمایت مالی از این مطالعه قدردانی می‌شود.

References

- Yalamati P, Karra ML, Bhongir AV. Comparison of Urinary Total Proteins by Four Different Methods. *Ind J Clin Biochem*; 2016. 31(4):463-7.
- Johnson AM, Rohlfs EM, LM S. Analysis of proteins. In: Burtis CAAE, editor. *Tietz fundamentals of clinical chemistry*.
- Chotayaporn T, Kasitanon N, Sukitawut W, Louthrenoo W. Comparison of Proteinuria Determination by Urine Dipstick, Spot Urine Protein Creatinine Index, and Urine Protein 24 Hours in Lupus Patients. *J Clin Rheumatol*; 2011;17(3).
- Lambers Heerspink HJ, Gansevoort RT, Brenner BM, Cooper ME, Parving HH, Shahinfar S, et al. Comparison of Different Measures of Urinary Protein Excretion for Prediction of Renal Events. *J Am Soc Nephrology*; 2010. 21(8):1355-60.
- Martin H. Laboratory Measurement of Urine Albumin and Urine Total Protein in Screening for Proteinuria in Chronic Kidney Disease. *Clin Biochem Rev*; 2011. 32(2):97-102.
- Sürer H, Özgün T, Yilmaz FM, Yilmaz G. The effect of centrifugation on three urine protein assays: benzethonium chloride, benzalkonium chloride and pyrogallol red. *clin chem lab med*; 2013;52(4):71-3.
- Funaba KMaM. Comparison of various methods for the determination of total protein in urine. *Clin Chem Lab Med*; 2006. 44(9):1161-3.
- Shekarabi M, Khoshmirsafo M, Seif F, Mohsenzadegan M, Najafi M, Mokhtarian K. Circulating microRNAs, valuable biomarkers in biological fluids. *Razi J Med Sci*; 2017. 24(160):0-.
- Yalamati P, Bhongir AV, Karra M, Beedu SR. Comparative Analysis of Urinary Total Proteins by Bicinchoninic Acid and Pyrogallol Red Molybdate Methods. *J Clin Diagn Res*. 2015. 8(9): 1-4.
- Mistry HD, Bramham K, Weston AJ, Ward MA, Thompson AJ, Chappell LC. Urine protein