مجله علوم پزشکی رازی دوره ۲۵، شماره ۱۲، اسفند ۱۳۹۷ http://rjms.iums.ac.ir

مقاله پژوهشی

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

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، دانشکده پزشکی، 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

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 کلراید (BEC) از جمله روش‌های مورد استفاده در اندازه‌گیری پروتئین ادرار هستند. هدف از این مطالعه بررسی همبستگی اندازه‌گیری پروتئین ادرار با روش تری کلرواستیک اسید (TCA) در مقایسه با روش دستگاهی بنزاتونیوم کلراید (BEC) می‌باشد.

روش کار: این مطالعه بر روی ۱۱۶ فرد از مراجعه‌کنندگان 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 کلراید (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 کلراید (BEC) برابر با ۰/۹۱۴ ($p<0/001$) است. آنالیز رگرسیون Passing و Bablok نشان داد که میانگین غلظت پروتئین ادرار با روش بنزاتونیوم کلراید (BEC) برابر با ۱۹/۸۸ ± ۱۷/۳۱ و برای روش تری کلرواستیک اسید (TCA) برابر با ۲۰/۵۹ ± ۱۷/۴۰ میلی گرم در دسی‌لیتر است.

نتیجه‌گیری: دراین مطالعه نشان داده شد که میان نتایج اندازه‌گیری شده در محدوده ۱۵۰-۱ میلی‌لیتر پروتئین ادرار ۲۴ ساعته با دو روش تری کلرواستیک اسید (TCA) و بنزاتونیوم کلراید (BEC) تفاوت وجود ندارد و همبستگی به نسبت مناسبی میان نتایج دو روش تری کلرواستیک اسید (TCA) و بنزاتونیوم کلراید (BEC) در محدوده ۱۵۰-۱ میلی‌گرم 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

کلیدواژه‌ها

پروتئینوری،
پروتئین ادرار ۲۴ ساعته،
تری کلرواستیک اسید (TCA)،
بنزاتونیوم کلراید (BEC)

تاریخ دریافت: ۹۷/۸/۲۷
تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۲۰

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.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 1.0 صورت گرفته است.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.22287043.1397.25.12.11.6]

Razi Journal of Medical Sciences.2019;25(12):56-63. http://rjms.iums.ac.ir

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
Mehrzad 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
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. Turboidometric-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.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.22287043.1397.25.12.11.6]

مقدمه

کلیه‌ها از اعضای مهم و حیاتی هستند که اعمال مختلفی را در بدن انجام می‌دهند (۱). یکی از مهم‌ترین نشانه های نقص در عملکرد کلیه، افزایش دفع پروتئین در ادرار (Proteinuria) بوده، به‌طوری‌که 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 نفروپاتی 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 بیماری های مختلف می‌باشد که پایش میزان پروتئین ادرار یکی از روش‌های غربالگری در بیماری‌های کلیوی است (۴).

به طور کلی، اساس اندازه گیری پروتئین در ادرار به صورت کمی، نیمه کمی و کیفی و بر پایه روش های ایمونوشیمی، کدورت سنجی و شیمیایی می‌باشد (۵). متداول‌ترین این روش‌ها عبارتند از: تست نوار ادراری، روش های مبتنی بر رسوب دادن (توربیدومتریک) از قبیل سولفاسیلیک اسید (Sulfosalicylic acid)، سولفاسیلیک اسید به همراه سدیم (SSSS)، تری کلرواستیک اسید (Trichloroacetic acid) و بنزاتونیوم کلراید (Benzethonium chloride) و یا روش‌های مبتنی بر اتصال به رنگ‌ها از قبیل پیروگالل مولیبدات قرمز (Pyrogallol red-molybdate) و کوماسی بلو (Coomassie Brilliant Blue). روش‌های ایمونوشیمی 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 (۹-۶). 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 مقرون‌به‌صرفه بودن در آزمایشگاه‌ها کاربرد بیشتری دارد. در این روش پروتئین‌ها براساس اندازه آن‌ها رسوب داده می‌شوند. با این وجود برخی از روش‌های توربیدومتریک که به صورت دستی انجام می شوند، محدودیت‌هایی از قبیل صحت پایین، عدم تکرارپذیری مناسب، اختصاصیت و حساسیت متفاوت نسبت به پروتئین‌های مختلف را دارا هستند (۱۰). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که روش SSSS از روش SSS دقیق‌تر می باشد، درحالی که روش TCA حساسیت به مراتب بالاتری نسبت به SSSS داشته است. از روش TCA که به صورت دستی انجام می گردد، می توان برای غربالگری وضعیت کلیوی جمعیت‌های مستعد به بیماری کلیوی مانند مبتلایان به دیابت در راستای بررسی میکروپروتئینوری استفاده نمود (۷، ۱۱).

امروزه استفاده از روش‌های توربیدومتری مبتنی بر اتوماسیون و استفاده از دستگاه‌های اتوآنالایزر در آزمایشگاه های تشخیص طبی و بیمارستان ها 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 روش های 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 پروتئین های مختلف از قبیل بنس جونز و آلفا میکروگلوبین و همچنین تکرار پذیری بالاتر می باشد. از جمله اتوآنالایزرهای مورداستفاده برای، این روش Cobas integra 400 plus است که از روش ارتقاءیافته‌ی بنزاتونیوم کلراید (BEC) استفاده می کند، به‌طوری 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 روش های مختلف اندازه‌گیری پروتئین ادرار ۲۴ ساعته (دستی و یا دستگاهی) و تعیین رابطه موجود میان آن ها می تواند

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]
[DOR: 20.1001.1.22287043.1397.25.12.11.6]

با کاهش تناقضات 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 غلظت های مختلف، ارتباط خطی این دو روش مورد بحث قرار گرفته است (۹, ۱۴, ۱۵). هدف از مطالعه حاضر بررسی همبستگی و تطابق نتایج اندازه‌گیری پروتئین ادرار ۲۴ ساعته با دو روش بنزاتونیوم کلراید (BEC) مبتنی بر اتوماسیون 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.RETECH.REC.1396.1109) تایید گردید. همچنین از شرکت کنندگان درمطالعه رضایت شفاهی و آگاهانه اخذ گردید. در این پژوهش، نمونه های 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، نمونه ها ازلحاظ حجم اندازه‌گیری شد، تقسیم شد و برای انجام تست پروتئین ادرار به بخش مربوطه منتقل شدند. در ابتدای هر دو روش نمونه ها به مدت ۵ دقیقه و در دور ۳۰۰۰g سانتریفیوژ شدند.

اندازه‌گیری پروتئین تام با روش بنزاتونیوم کلراید: اندازه گیری پروتئین تام ادرار با دستگاه کوباس اینتگرا ۴۰۰ پلاس ساخت سوئد و از کیت پروتیین TPUC3 از شرکت Roche آلمان و به روش توربیدومتری انجام شد. کنترل ها و کالیبراتور مورد استفاده به ترتیب Precinorm PUC و C.f.a.s PUC از شرکت می‌باشد. اساس اندازه گیری 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).

اندازه گیری 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 ۲۲٪ از شرکت پالایش و پژوهش خون جهت تهیه استاندارد استفاده شد. با توجه به جدول زیر جذب نمونه های بیماران در حضور بلانک در طول موج ۴۹۵ نانومتر خوانش شد (۱۱). غلظت پروتئین ادرار بیماران از فرمول زیر محاسبه شد:

$$Prt=\frac{OD\ sample-OD\ blank}{OD\ standard}\times Cons_{standard}$$

تجزیه و تحلیل آماری: داده ها 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 نمی شود؛ بدین منظور از آنالیز Bland و Altman و در ادامه رگرسیون Passing و Bablok استفاده شد.

یافته‌ها

تعداد ۱۱۶ فرد با میانگین سنی ۱۷/۱±۵۲/۸۷ سال، در دو گروه مساوی زن (۵۸ فرد) و مرد (۵۸ فرد) در این مطالعه شرکت کرده اند. حداقل و حداکثر سن شرکت کنندگان به ترتیب ۵ و ۸۵ سال بود.

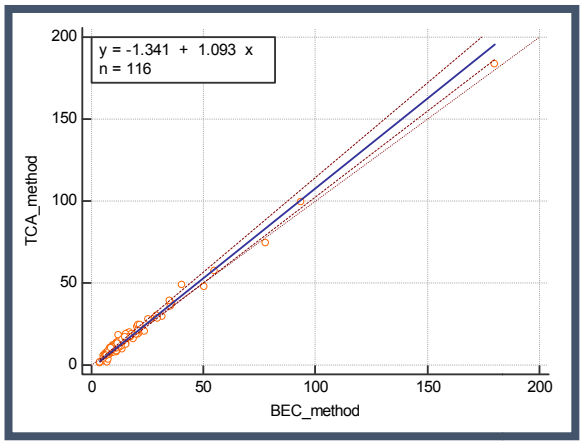
اندازه‌گیری عدم دقت (Imprecision) روش تری

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.22287043.1397.25.12.11.6]

کلرواستیک اسید و بنزاتونیوم کلراید: با استفاده از نمونه استاندارد که ۲۰ بار مورد خوانش قرار گرفت. ضریب تغیرات (CV) برای روش تری کلرواستیک اسید (TCA) و برای روش بنزاتونیوم کلراید (BEC) تعین گردید. ضریب تغیرات به درصد از محاسبه انحراف از معیار خوانش ها تقسیم بر میانگین آن‌ها محاسبه شد.

اندازه‌گیری عدم صحت (Inaccuracy) روش تری کلرواستیک اسید و بنزاتیونیوم کلراید: در ابتدا پروتئین ادرار ۱۱۶ نمونه با هر دو روش تری کلرواستیک اسید و بنزاتیونیوم کلراید اندازه‌گیری 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 ۰/۹۱۴ (p< ۰/۰۰۱) می‌باشد. نتایج بدست آمده نشان دهنده همبستگی خوب (Good Correlation) بین دو روش است (شکل ۱ و جدول ۱). با استفاده از آنالیز Bland و Altman نشان داده شد که تفاوت میانگین میان بین دو روش ۰/۱ می باشد. همچنین خط برابری (Line of Equality) در محدوده اطمینان ۹۵٪ (95%CI) تفاوت میانگین ها (differences Mean) نشان داد تغییرات معنادار سیستماتیکی بین نتایج دو روش وجود ندارد (شکل ۲). بر اساس آنالیز رگرسیون Passing و Bablok میانگین غلظت پروتئین ادرار (SD±mean) با روش روش بنزاتونیوم کلراید (BEC) برابر با ۱۹/۸۸ ± ۱۷/۳۱ و برای روش تری کلرواستیک اسید (TCA) برابر با ۲۰/۵۹±۱۷/۴۰ میلی گرم در دسی لیتر است. فاصله اطمینان ۹۵٪ برای عرض از مبدا (Intercept A) برابر با ۰/۶ تا ۱/۲ و برای شیب خط (Slope) برابر با ۰/۸۶ تا ۰/۹۵ می‌باشد. می‌توان نتیجه گرفت با توجه به عدم انحراف معنادار، توافق خوبی (Good agreement) میان نتایج دو روش وجود دارد. همچنین شکل ۳ نشان دهنده نمودار مقادیر باقی مانده است که توزیع تفاوت های موجود در خط رگرسیون Passing و Balbok برای دو روش بنزاتونیوم کلراید (BEC) و تری کلرواستیک اسید (TCA) را با استفاده آزمون Linearity CUSUM مورد بررسی قرار می دهد که نتایج حاکی از آن است که انحراف معناداری از حالت خطی مشاهده نمی شود (p=۰/۶۲). همچنین، ۱/۹۶ ± انحراف معیار مقادیر باقی مانده برابر با ۱/۶۷ و از ۳/۲۹+ تا ۳/۲۹- است و بیانگر آنست که ۹۵٪ تفاوت های تصادفی موجود در این محدوده قرار می‌گیرند و در نتیجه نتایج حاصل از روش‌های

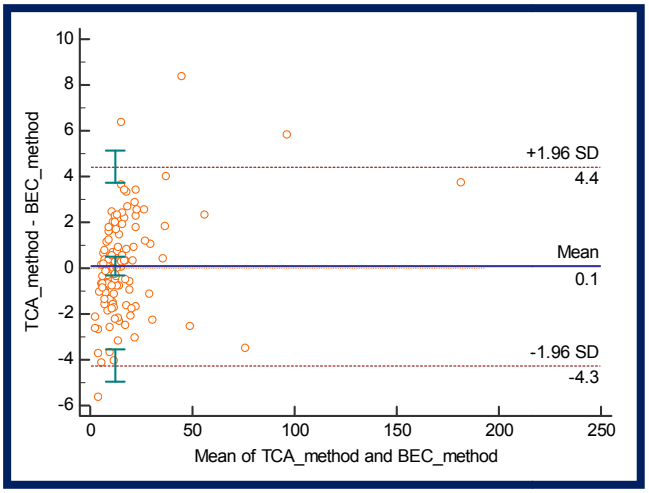


شکل ۱- مقایسه نتایج بدست آمده از دو روش تری کلرواستیک اسید (TCA) و بنزاتونیوم کلراید (BEC) با استفاده از همبستگی پیرسون.

جدول ۱- محلول های مورد استفاده در روش TCA

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

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]
[DOR: 20.1001.1.22287043.1397.25.12.11.6]

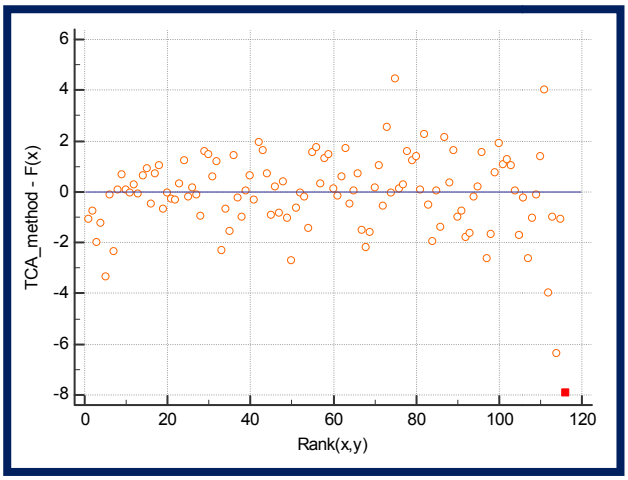


شکل ۲- نمودار آنالیز Bland وAltman برای دو روش تری کلرواستیک اسید(TCA) و بنزاتیونیوم کلراید(BEC)

جدول ۲- آزمون همبستگی پیرسون و Cusum

معادله خط	Y=1.22+0.91X
Intercept A (عرض از مبدا)	۱/۲۲۶۸
%۹۵ CI	۰/۶۵۰۰-۱/۷۸۷۲
Slope B (شیب خط)	۰/۹۱۴۷
%۹۵ CI	۰/۹۵-۰/۸۶
انحراف معیار مقادیر باقی مانده (RSD)	۱/۶۷۹۶
±۱/۹۶RSD	-۳/۲۹۲۰-۳/۲۹۲۰
آزمون Cusum	P=0.62*

Y=TCA, X=BEC؛ *عدم وجود انحراف از حالت خطی



شکل۳- نمودار مقادیر باقیمانده ها با استفاده از آنالیز خطی کیوسام

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

بحث و نتیجه‌گیری

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

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]
[DOR: 20.1001.1.22287043.1397.25.12.11.6]

میزان پروتئین تام ادرار در افراد سالم کمتر mg/dL ۱۰۰-۱۴ 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 مزایا و معایب خاص خود را دارا هستند. مطالعات مختلفی اندازه گیری پروتئین ادرار با روش های 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 نشده اند. 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 ۱۵۰-۱ میلی گرم وجود داشته و در کل داده های 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 روش ها به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می گیرند. در میان روش‌های توربیدومتریک، Yalamati و همکاران نشان دادند که روش SSS با روش RPM همبستگی مناسبی نداشته و همچنین تحت تاثیر نسبت آلبومین-گلوبین قرار می‌گیرد و در نتیجه نتایج را در محدوده بالاتری خوانش می کند. 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 مطالعه ای نتایج حاصل از دو روش بنزاتونیوم کلراید (BEC) و SSS با یکدیگر مقایسه شده است (۴). یافته ها حاکی از آن است که روش بنزاتونیوم کلراید (BEC) حساسیت و تکرار پذیری بالاتری داشته و عوامل مداخله گر کمترین تاثیر را برنتایج 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 نمونه های ادرار و CSF مورد بررسی قرار 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 مطالعه ای 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 نسبتا خوبی با یکدیگر دارند اما نتایج در غلظت های 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 افزون جمعیت و همچنین ابتلا به بیماری‌های مختلف، روش‌های سریع، با دقت و در عین حال ارزان قیمت جهت تشخیص مارکرهای مختلف بیماری درآزمایشگاه های تشخیص طبی مورد نیاز می‌باشد. روش بنزاتونیوم کلراید (BEC)BEC یکی از روش های توربیدومتریک است که در اندازه گیری میزان پروتئین ادرار مورد استفاده قرار می گیرد. این روش مبتنی بر استفاده از آتو انالایزر است که با سرعت و دقت بالا می‌تواند در اندازه‌گیری پروتئین ادرار مورد استفاده قرار بگیرد. روش دستی تری کلرواستیک اسید نیز در اندازه گیری پروتئین ادرار مورد استفاده قرار می‌گیرد. با این حال یکی از محدودیت های 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 اندازه گیری شده در محدوده ۱۵۰-۱ میلی گرم ادرار ۲۴ ساعته با دو روش تری کلرواستیک اسید (TCA) و بنزاتونیوم کلراید (BEC) تناقض وجود ندارد و هردو روش مقادیر پروتئین ادرار را با صحت مناسبی اندازه‌گیری کردند. با این وجود در این مطالعه غلظت های 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

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.22287043.1397.25.12.11.6]

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 شهید بهشتی به شماره ثبت ۶۶۹۷۴ ص/ ۱۳۹۶ می‌باشد. از کمیته پژوهشی دانشجویان و معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی برای حمایت مالی از این مطالعه قدردانی می شود.

References

1. Yalamati P, Karra ML, Bhongir AV. Comparison of Urinary Total Proteins by Four Different Methods. Ind J Clin Biochem; 2016. 31(4):463-7.

2. Johnson AM, Rohlfs EM, LM S. Analysis of proteins. In: Burtis CAAE, editor. Tietz fundamentals of clinical chemistry.

3. 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; 201117(3).

4. 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.

5 .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.

6 . 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.

7 .Funaba KMaM. Comparison of various methods for the determination of total protein in urine. Clin Chem Lab Med; 2006. 44(9):1161-3.

8 .Shekarabi M, Khoshmirsafa M, Seif F, Mohsenzadegan M, Najafi M, Mokhtarian K. Circulating microRNAs, valuable biomarkers in biological fluids. Razi J Med Sci; 2017. 24(160):0-.

9 .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.

10. Mistry HD, Bramham K, Weston AJ, Ward MA, Thompson AJ, Chappell LC. Urine protein 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 .Yılmaz FM, Çelebi N, Yücel 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

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.22287043.1397.25.12.11.6]