جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقالهٔ پژوهشی

تجسس میکروآبینوری در افراد دیابتیک با استفاده از روش ساده آگلوتیناسیون غیر مستقیم

دکتر سید عباس حسینی تقوی[1]

چکیده

مقدمه : میزان ترشح آلبومین در ادرار افراد دیابتی افزایش می‌یابد ولی مقدار آن در محدوهٔ اندازه‌گیری روش‌های معمولی پروتئین ادرار نیست (۵۰ mg/ ۲۴ hrs) این آلبومین را میکروآلبومین اوری می‌نامند.

مواد و روش: از ذرات پلی استرن (لاتکس) و آلبومین انسانی سوسپانسیون ۱٪ تهیه نموده وبا انتخاب آنتی‌بادی پلی‌کلنال مناسب و با روش Indiect Agglutination و توربیدومتری نمونه‌ها را مورد بررسی قرار دادیم.

نتایج : نتایج به‌دست آمده از ۱۴۴ نمونه ادرار (شامل نمونه‌های بیماران دیابتی ، افراد سالم و همچنین نمونه‌هائی که دستی به آنها آلبومین اضافه شده بود) حاکی از درستی و اثبات Detected Limit در حد کمتر از ۲۵mg/L آلبومین در ادرار می‌نماید.

بحث : مشاهدهٔ آگلوتیناسیون کامل در مقادیر زیر Cut-off یعنی ۲۵mg/L که نشانهٔ عدم وجود آلبومین در ادرار می‌باشد، همچنین عدم مشاهدهٔ آگلوتیناسیون در مقادیر بالاتر از حد Cut off، عامل جالب توجه جهت تشخیص پروتئین ادراری در بیماران دیابتی است.

گل واژگان : ادرار، آگلوتیناسیون غیرمستقیم، آلبومینوری، میکروآلبومینوری

مجلهٔ پزشکی ارومیه، سال سیزدهم، شمارهٔ سوم، ص ۱۸۳-۱۷۹، پاییز ۱۳۸۱

۱ - استادیار مرکز تحقیقات آزمایشگاه‌های رفرانس کشور

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

افزایش مقدار آلبومین ادرار از ۵۰mg/24hrs نشانه‌ای از علایم کلینیکی پروتئین اوری در بیماران دیابت نوع II است(۶، ۱۱). مقدار کمتر از آن، میکروآلبومین اوری نامیده می‌شود (۲،۴، ۱۰) چنین افزایشی برگشت‌ناپذیر است و در صورت کنترل می‌تواند کاهش یابد (۵، ۶) مبتلایان به دیابت شیرین از نوع I در معرض آسیب کلیوی می‌باشند اگرچه نفروپاتی در تیپ II کمتر اتفاق می‌افتد ولی به‌دلیل شیوع بالاتر این دیابت، در صد نفروپاتی در این گروه بیشتر دیده می‌شود. پروتئینوری مداوم که باروش‌های معمولی قابل شناسایی هستند سرعت (Urmy Albumin Excretion) بیشتر یا مساوی ۲۰۰μg/min بیانگر نفروپاتی دیابت است در جریان نفروپاتی، نارسایی کلیه به سرعت پیش می‌آید و قبل از رسیدن به‌این مرحله UAE با روش‌های روتین قابل تشخیص نیست این محدوده ۲۰ الی ۲۰۰ میکروگرم/دقیقه یا ۳۰ الی ۳۰ میلی‌گرم در ۲۴ ساعت می‌باشد. افزایش UAE تااین حد، میکرو آلبومینوری نامیده می‌شود، که نشان‌دهندهٔ افزایش فیلتراسیون مویرگی آلبومین و بیماری عروقی مویرگی است UAE بیش از ۲۰μg/min خطر نفروپاتی را ۲۰ برابر افزایش می‌دهد (۱۲، ۱۴).

بنابراین، اندازه‌گیری میکروآلبومین روش خوبی جهت شناسایی بیماران دیابتی در معرض ابتلا به‌بیماری کلیوی است. روش‌های متفاوت دیگری هم برای اندازه‌گیری میکروآلبومین موجود است مانند: RIA و ELISA و Turbidometry ولی هیچ‌کدام سریع بربالین بیمار قابل اجرا نیست (۱، ۷، ۱۳).

روش آگلوتیناسیون غیر مستقیم ارائه شده دارای حساسیت کافی (Cut-off 25mg/L) می‌باشد و فاقد پدیدهٔ پروزون بوده و چون روش Indirect است تیتر آن طوری تنظیم شده است که تمام سایت‌های آنتی‌بادی در غلظت ۲۵mg/L یا بیشتر آلبومین اشغال می‌شود سایت‌های اتصال آلبومین انسانی به‌وسیلهٔ افزودن یک قطره لاتکس پوشیده شده با آلبومین شناسایی می‌شود و جواب بیمار در مدت ۵ دقیقه مشخص می‌شود.

مواد و روش

محلولی از ذرات پلی استرن (لاتکس) را با آلبومین انسانی پوشانده و بعداز شستشوی لاتکس وحذف آلبومین غیر کونژوگه با لاتکس سوسپانسیون ۱٪ تهیه نموده (۱۳) سپس با انتخاب آنتی‌بادی پلی‌کلونال مناسب ضد آلبومین انسانی می‌توان حساسیت تست را انجام داد در ضمن محلول لاتکس ۸m-m/. به نسبت ۱٪ در بافر محلول لاتکس شده و مقدار ۲۰۰mg/L آلبومین حل شده در بافر گلیسین با حجم مساوی اضافه می‌نمائیم و یک ساعت در حرارت آزمایشگاه قرار داده در این مدت، هر ۱۰ دقیقه محلول را تکان می‌دهیم بعد از زمان معینی مخلوط را سانتریفوژ نموده و محلول روئی را دور ریخته و معادل دور ریخته از محلول بافر که در آن نسبت ۵۹/۱، ژلاتین وجود دارد اضافه نماییم.

آنتی‌بادی: آنتی‌بادی ضد آلبومین انسانی تهیه شده از خرگوش، اختصاصی بودن آن با روش رادیال Immunodiffusion دوبل بر علیه IgG و ترانسفرین انسانی بررسی گردید (۹).

روش تهیه و کنترل محلول‌ها: بافر یا ۱/. Mol/l PH=8.2 گلیسین، Nacl 1.5 mmol/l آلبومین انسانی خالص ۹۸٪، خلوص آن رابا روش الکتروفورز مشخص می‌نمائیم (۱، ۱۳).

روش انجام آزمایش: ده میکرو نمونه (ادرار با استاندارد) ۵۰ میکرولیتر سرم روی یک صفحهٔ سیاه شیشه‌ای قرار داده مخلوط می‌نمائیم و ۳۰ ثانیه تکان می‌دهیم سپس یک قطره لاتکس (۵۰ لامبدا) اضافه نموده و آن را روی Shaker قرار می‌دهیم بعداز ۲ تا۴ دقیقه نتیجه مورد بررسی قرار می‌گیرد.

اندازه‌گیری بر روی ۱۰۰ نمونه ادرار انجام شد از این تعداد، ۵۰ نمونه منفی‌که با روش کدورت سنجی Turbidometry کمتر از ۲۵ mg/L بود و ۵۰ نمونه که با همین روش بالاتر از ۲۵mg/L

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بود (۲) تعداد ۴۲ نمونه ادرار منفی را به‌طور دستی آلبومین انسانی اضافه نمودیم، ۷ نمونه mg/L ۲۰۰ و ۸ نمونه mg/L۱۰۰، ۱۰ نمونه mg/L ۵۰ و ۱۲ نمونه mg/L۲۵ و ۷ نمونه mg/L ۲۵ براین اساس که نمونه‌هایی زیر Cut-off و بالای Cut-off و Detected یا حد اندازه‌گیری محلول‌ها را بررسی نمائیم.

نتایج

آگلوتیناسیون کامل در مقادیر زیر mg/L۲۵ که نشانهٔ عدم وجود آلبومین می‌باشد ملاحظه می‌شود و در مقادیر بالاتر از mg/L۲۵ آگلوتیناسیون ایجاد نمی‌شود.

هم‌چنین، در بررسی بر روی نمونه‌هایی که به‌صورت دستی گلوکز و IgG اضافه شده بودند، گلوکز در حد gr/l۵ و IgG در حد gr/l۰/۹ بر روی نتیجهٔ آزمایش اثری ملاحظه نگردید در مقایسه با روش کدورت سنجی کیت Sclave، حساسیت برابر ۹۸٪ است و ویژگی تست برابر ۱۰۰٪ است که از روش ارائه شده توسط NCCIS (۸) محاسبه گردیده است که به تعداد ۱۰۰ نمونه ادرار حاوی آلبومین و فاقد آلبومین حساسیت و ویژگی اندازه‌گیری شده است.

بحث

در روش‌های غربالی جهت جستجوی میکروآلبومین اوری بحث‌های زیادی صورت گرفته است (۵، ۱۱) روشی که در این مطالعه انتخاب شده است Cut-off برابر mg/l۲۵ است که عامل پیشگویی برای پروتئین اوری در بیماران دیابتی می‌باشد و افراد کم تجربه نیز می‌توانند تست را انجام دهند.

انتخاب روش غیرمستقیم در این تجربه پدیدهٔ پروزون را منتفی می‌نماید و نیازی به رقیق کردن نمونه وجود ندارد.

آلبومین ادرار هر فرد در مواقع مختلف متفاوت است ورزش و تغذیه عوامل موثر در این تغییرات هستند، بنابراین، اندازه‌گیری در زمان‌های مختلف لازم است واز نسبت آلبومین به کراتینین می‌توان تا حدی از نوسان‌ها کاست، تهیهٔ ادرار اول صبح و نسبت آلبومین کراتینین هر دو مناسب هستند ولی ایراداتی بر هردوی آنها وارد است این تست به‌علت سرعت، دقت و حساسیت مناسب، محاسبه شده و به جهت عدم نیاز به ابزار لازم و گرانقیمت روش مناسبی است.

افراد دیابتی مقدار بسیار کمی آلبومین از طریق ادرار دفع می‌کنند (۴، ۱۰) میکروآلبومین اوری با روش‌های معمول قابل اندازه‌گیری نیست یعنی با روش سولفوسالیسیلیک و نوار تست‌ها در حد کمتر از روش hrs ۲۴/mg۵۰ می‌باشد روش آگلوتیناسیون غیر مستقیم ارائه شده دارای روش سریع Cut off<25mg کافی می‌باشد و فاقد پدیدهٔ پروزون می‌باشد این بوده و جواب آزمایش در مدت ۵ دقیقه مشخص می‌شود و نسبت به روش‌های دیگر برتر است حساسیت زیرا با ۱۰ میکرولیتر از نمونه ادرار می‌توان این تست را انجام داد. در این صورت وجود آگلوتیناسیون (میکروآلبومینوری منتفی است).

بنابراین، اندازه‌گیری میکروآلبومین در ادرار تست مناسبی برای مشخص نمودن بیمارانی است که در معرض اختلال کلیوی هستند و حد طبیعی آلبومین اوری کمتر از ۱۵ میلی گرم در ۲۴ ساعت و در بیماران Diabetic Nephropathy مقدار آلبومین دفع شده در دقیقه بیشتر از ۲۰۰ میکروگرم و حد آلبومین دفع شده در ۲۴ ساعت بیشتر از ۳۰۰ میلی‌گرم می‌باشد (۱۳، ۱۴).

References

1. Amino H, Lipo A, Pauli V: Rapid and sensitive immunoassay for albumin determintion in urnine. Clin Chem Acta, 1985, 149: 269-274.

2. Dell-Omo G, Pemmo G, Giorgi D, Di Bello V, Mariani M, Pedrinelli R: Association between high-normal albuminuria and risk factors for cardiovascular and renal disease. Am J Kidney Dis, 2002, 40: 1-8.

3. Gary JP, Bakrid GL: Microalbuminuria marker for vascular dysfunction, risk factor for cardiovascular disease. Vasc Med, 2001, 35: 43.

4. Keen H, Chouverrakis C, Fuller J, Jarret TJ: The concoinitant of raised blood sugar Studies in newly detected hyperglycemics: Urinary albumin exceretion, Blood pressure and their relation in blood sugar levels. Guy's Hosp Rep, 1969, 118: 247-254.

5. Mathiesen ER, Oxenbool D, Johnsen K, Svendsen PA, Deckert T: Incipient nephropathy in type I insulin dependent diabetes. Diabetologia, 1984, 26: 406-410.

6. Mogensen CE: Microalbuminuria Predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity onest diabetes. N Engl K Med, 1984, 310: 365-360.

7. Mohamed A, Wilkin T, Leatherdale B, DAvies R: A microenzyme linked immunosorbent assay for urinary albumin, and its comparison with radioimmunoassay. J Immunol Methods, 1984, 17: 22.

8. National cmmittee for clinical laboratory standards (NCCLS): Specification for immunological testing for infections diseases, Approved guideline, 2001, 21(36): 1-15.

9. Ouchteiony O: Diffusion in gel for immunological analysis. Prog Allegry, 1985, 84: 483-486.

10. Parving H H, Jensen HA, Mogensen CE, Evrin PE: Increased urinary albumin excretion. Lancet, 1974, 1: 1190-1992.

11. Viberti GC, Hill rd, Jarret RJ, Argyropoulos A, Mahmud U, Kenn H: Microalbuminuria is a predictor of clinical nephropathy in insulin -dependent diabetes melitus. Lancet, 1982, 1L: 1430-1432.

12. Viberti Gc, Keen H: The patterns of proteinuria in diabetes mellitus relevances to pathogenesis and prevention of diabetic nephropathy Diabetes. 1984, 33: 686-692.

13. Viberti GC, Vergani D:Detection of potentially reversible diabetic albuminuria, A three drop agglutination test urinary - albumin at low cucentratiun. Clin Chem Acta, 1982, 31: 973-975.

۱۴- سقا حمیدرضا: کتاب جامع تجهیزات آزمایشگاهی و فرآورده‌های تشخیصی چاپ اول، تهران انتشارات موسسهٔ فرهنگی انتشاراتی کتاب میر، ۱۳۸۱: ص ۱۸۴۱.

DETECTION OF MICROALBUMINURIA IN DIABETIC AND NONDIABETIC PATIENTS USING A SIMPLE LATEX AGGLUTINATION TEST

A Hosseini Taghavi[1], *Ph.D.*

Abstract

Introduction : *The level of Albumin excretion increase urine in diabetic patients. This amount is not in ordinary detection limit for urine proteins (50mg/24 hrs) and it is called microalbuminuria.*

Methods and materials : *A suspension of (1%) human albumin and polystern particles (latex) was made and tests carried out by indirect agglutination and turbidometry methods using proper polyclonal antibodies.*

Results : *The obtained results indicated the detection limit of < 25mg/l of albumin in 144 urine samples (diabetic patients, healthy persons and normal urines with added albumin.*

Discussion : *Presence of agglutination indicates a content of albumin level lower than 25mg/l (cut-off), level and lack of agglutination indicates albumin in samples equal or greater than 25mg/L, and denotes the presence of albumin in diabetic patints.*

Key Words : *Urine, Indirect agglutiation, Albuminuria, Microalbuminuria.*

Address: *Department of serology, Iran refrence lab, Bu-Ali Hospital, Tehran, Iran.*

Source : *UMJ J 2003; 13(3): 179-183 . ISSN: 1027-3727.*

---

1 - Assistant Professor of Laboratory Sciences, Iran Reference Laberatory