

Новая тест-система быстрого определения протеинурии

Ф. Левин, В. Байер, В. Герберц

Лаборатория биотехнологии Нижнерейнского Института, Крефельд, Германия

Описанный в данной работе метод определения протеинурии позволяет распознавать концентрации белка, начиная с 20 мг/л. Собственно рабочее время анализа занимает всего 10 секунд, результат может быть получен уже через 5-10 минут. Результат полуколичественного анализа определяется с помощью входящей в набор фотошкалы и не зависит от потенциальных факторов воздействия, как, например, соли, кислоты, уровень pH в диапазоне 3-10, легкая мутность. Повышенные концентрации микроглобулина и иммуноглобулина, а также гемоглобина образуют нетипичные преципитаты, то есть тест выявляет не только монопротеинурию (например, альбуминурию), но и другие присутствующие в моче белки.

Определение протеинурии входит в рутинную практику лабораторного анализа. Чаще всего для этой цели практикующие врачи используют различные тест-полоски, значительно реже, в случае необходимости, выполняют дорогостоящие количественные анализы. Однако применяемые для определения белка в моче тест-полоски зачастую обладают недостаточно высокой чувствительностью. Кроме того, полученные результаты могут быть подвержены воздействию определенных солей и кислот, а также влиянию pH среды. В представленной тест-системе быстрого определения протеинурии (1) используется сухая реагентная смесь в форме таблетки на солевой и кислотной основе (гранулят) для осаждения белка из растворов. При реакции над тест-гранулятом в пробирке возникает осадок в форме кольца.

Материалы и методы

В данной работе параллельно проводились исследования проб мочи с помощью тест-системы для быстрого определения протеинурии и с помощью стандартного лабораторного метода для определения концентрации общего белка с использованием СБК (натриевая соль бензойной кислоты) на автоматическом анализаторе Hitachi 717, а также лазерной нефелометрии для определения концен-

трации альфа-1-микроглобулина и иммуноглобулина G с помощью тест-системы Bectman Array 360 System).

К 0,5-1 мл мочи добавляют одну реагентную таблетку. Спустя 5-10 мин появляется белое кольцо, которое сравнивают с фотошкалой для полуколичественного определения белка (рис. 1). Пробы мочи могут храниться в холодильнике. При этом собственно рабочее время анализа занимает примерно 10 секунд. Анализ проводится при комнатной температуре.

Результаты и обсуждение

Предварительные исследования были проведены с водными растворами белков различной молекулярной массы (человеческий сывороточный альбумин, бычий сывороточный альбумин, гамма-глобулин, лактоглобулин и лизацим из яичного белка, трипсин и рибонуклеаза из поджелудочной железы быка (фирм Serva и Sigma) в концентрации 20-30 мг/л. Во всех случаях через 10-20 минут возникали похожие белковые кольца. Данный тест-гранулят позволяет также выявить белок Бенс-Джонса, что было показано на 20 пробах мочи с различным разведением.

Хлорид кальция, сульфат магния, хлорид натрия, фосфат натрия, аскорбиновая кислота, уксусная кислота и глюкоза, добавленные в концентраци-

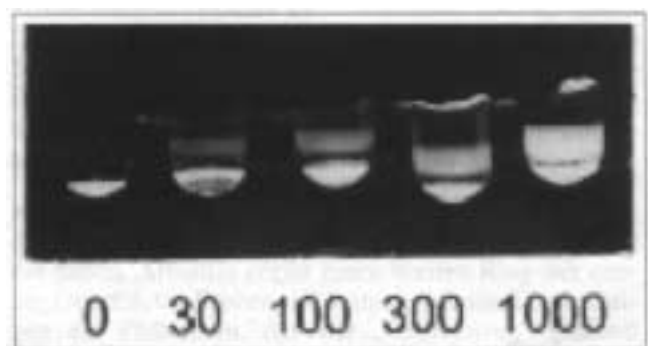


Рис. 1. Фотошкала для полуколичественного определения белка, мг/л

Таблица 1. Сравнение результатов при определении белка в моче с помощью тест-системы Granulat и тест-системы Micral (Roche), мг/л

Данные Micral-теста	n	отрицательные	Данные Granulat-теста		
			следы-30	30-100	100-300
< 20 (отрицательн.)	70	70			
20-50	364		196	168	
50-100	217			177	40
> 100	69				60

Таблица 2. Сравнение полуколичественного определения белка в пробах мочи с результатами определения количественного теста – СБК (натриевая соль бензойной к-ты)

Данные СБК-теста	n	Оценка с помощью фотошкалы			
		30	100	300	1000
20-50	10	10			
128-164	10		10		
241-389	10		1	9	
873-1310	5				5

Таблица 3. Зависимость белкового кольца от отношений альфа-1-микροглобулин/общий белок (α1МГ/ОБ), мг/л

Отношение α1МГ/ОБ	Пробы с одним белковым кольцом		Пробы с двумя белковыми кольцами	
	случаи	%	случаи	%
50	28	93	2	7
50-100	6	60	4	40
160	2	20	8	80

Таблица 4. Результаты исследования проб мочи с разным содержанием иммуноглобулина G (общее содержание белка от 300 до 6000 мг/л, время реакции 1 час).

Иммуноглобулин G (мг/л)	n	Случаи с «гористым кольцом»	
		n	%
0-50	64	5	7,8
50-100	23	13	56,5
>100	39	35	89,7

ях в 10 раз превышающих верхние значения нормы, не оказывали никакого влияния на результаты анализа. Это было также справедливо для различных значений рН среды в диапазоне от 3 до 11 единиц (при испытании альбумина в концентрации 200 мг/л мочи).

Для выявления аналитической чувствительности теста были использованы растворы человеческого сывороточного альбумина, причем положительные результаты были показаны уже при концентрации 20 мг/л (n = 405). Таким образом, предложенный тест способен выявлять также физиологическую микропротеинурию. Случаев ложно негативных результатов установлено не было

(табл. 1). Результаты полуколичественного анализа, полученные с помощью фотошкалы, совпадали с результатами количественного анализа, проведенного в стационарной лаборатории (табл. 2). При исследовании 50 проб мочи в 14 случаях наблюдались нетипичные преципитаты, состоящие из двух колец. Большинство этих проб показывали повышенное содержание альфа-1-микροглобулина (табл. 3, рис. 2).

Исследования модельных растворов (альбумин и альбумин + гамма-глобулин) показали образование различных осадков. Альбумин образует широкое кольцо с ровной поверхностью, тогда как пробы с гамма-глобулином показывают специфич-



Рис. 2. Изображение четырех проб мочи с двумя кольцами белка (слева) и 2 проб с одним кольцом (справа)

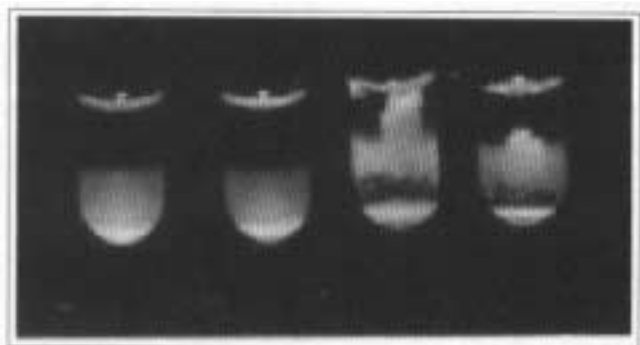


Рис. 3. Изображение белковых колец белковых растворов: альбумин (2,5 г/л), слева; альбумин (2,5 г/л) + γ -глобулин (0,1 г/л), справа

ную форму преципитата, которую мы назвали «гористым кольцом» (рис. 3). Пробы мочи с повышенным содержанием иммуноглобулина показали аналогичные результаты (рис. 4). При содержании иммуноглобулина от 100 мг/л наблюдается появление преципитата в виде «гористого кольца» в 90% случаев (табл.4). Примесь гемоглобина также показывает изменение картины кольцевого преципитата (рис. 5), под альбуминовым кольцом появляется гемоглибиновая зона (узкое кольцо красного цвета). Гемоглобин выявляется при содержании в моче примерно от 300 мкл крови/л мочи.

Описанный в этой работе простой тест может быть использован в лабораторной практике:

а) для определения протеинурии (в первую очередь альбуминурии);

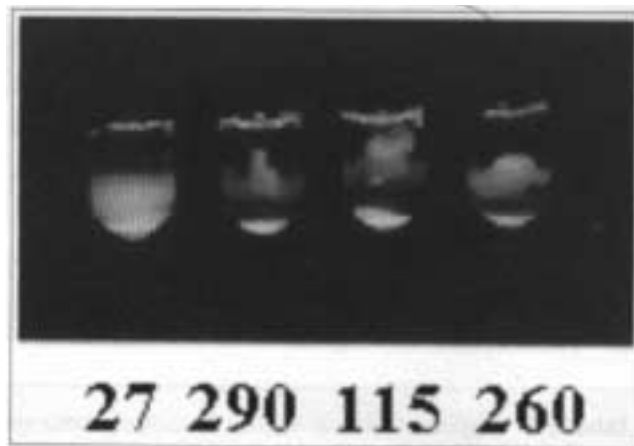


Рис. 4. Изображение белковых колец в пробах мочи с разным содержанием иммуноглобулина G, мг/л

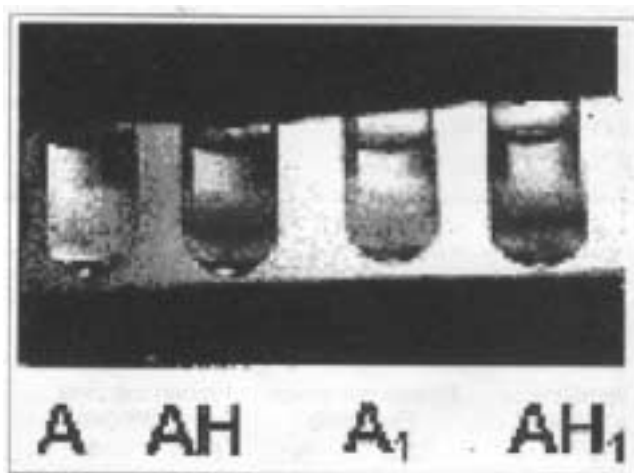


Рис. 5. Изображение белковых колец с чистым раствором альбумина (A и A1) и при смешивании с гемоглибином (AH и AH1)

б) для выявления присутствия белков, обладающих большим или меньшим молекулярным весом по сравнению с альбумином.

Таким образом, с помощью этого теста можно проводить начальную дифференциальную диагностику уже на ранних стадиях заболевания.