

sebia

HYDRAGEL 5 PROTEINURIE

Ref. 4115

IVD

CE

2013/01

ESPECIFICACIONES DE USO

El kit HYDRAGEL 5 PROTEINURIE está diseñado para la clasificación de proteinurias en orinas no concentradas. El kit se utiliza junto con el instrumento semiautomático HYDRASYS. La electroforesis en geles de SDS-agarosa tamponados neutralmente separa las proteínas urinarias según su peso molecular y distingue claramente las proteínas de origen tubular y glomerular. Los patrones electroforéticos resultantes, teñidos con violeta ácido, son comparados visualmente con marcadores proteicos de peso molecular en la pista de referencia para identificar las proteínas urinarias individuales y clasificar de esta forma la proteinuria.

Cada gel de agarosa en el kit HYDRAGEL 5 PROTEINURIE está diseñado para procesar 5 muestras.

Para Uso Diagnóstico *In Vitro*.

NOTA : En estas instrucciones, el nombre "HYDRASYS" es usado para designar los sistemas semiautomáticos HYDRASYS e HYDRASYS 2, SEBIA.

PRINCIPIO DEL TEST ¹⁻¹³

En un exceso del detergente aniónico sodio dodecil sulfato (SDS), las proteínas se transforman en complejos SDS-proteína. En estos complejos, la conformación nativa de las proteínas se ve alterada, y todas adoptan la misma conformación y la misma carga negativa por unidad de masa. Cuando tales complejos SDS-proteína son sometidos a electroforesis en un medio con las propiedades de filtrado apropiadas, como las de los geles HYDRAGEL 5 PROTEINURIE, que contienen una elevada concentración de agarosa, se separan según su peso molecular.

En los geles HYDRAGEL 5 PROTEINURIE, las proteínas individuales de origen tubular (esto es, con un peso molecular < 65 - 70 kDa) y de origen glomerular (esto es, > 65 - 70 kDa) son separadas claramente. Por lo tanto, no sólo se puede detectar la proteinuria, sino que también puede clasificarse según las proteínas que se detecten (por ejemplo, glomerular, tubular y mixta). Los parámetros del procedimiento y la sensibilidad de la tinción con violeta ácido permiten la detección de proteínas sin ninguna concentración previa de la orina.

El nivel de detección mínimo está alrededor de 15 mg/l por fracción.

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS EN EL KIT HYDRAGEL 5 PROTEINURIE

ATENCIÓN : Ver las fichas de datos de seguridad.

ARTÍCULO	PN 4115
Geles de Agarosa (listos para usar)	10 geles
Espojas Tamponadas (listas para usar)	10 bolsas de 2
Colorante Violeta Ácido (solución stock)	1 vial, 75 ml
Diluyente (listo para usar)	1 vial, 1 ml
Tiras de papel de Filtro	1 bolsa de 10

PARA OBTENER RESULTADOS ÓPTIMOS :

Los elementos de un mismo kit deben utilizarse conjuntamente y según las instrucciones incluidas.

LEER ATENTAMENTE LAS INSTRUCCIONES.

1. GELES DE AGAROSA

Preparación

Los geles de agarosa están listos para usar. Cada gel contiene : agarosa ; tampón pH 7,0 ± 0,5 ; componentes inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

Uso

Medio de soporte para la electroforesis de proteínas urinarias.

Almacenamiento, estabilidad y señales de deterioro

Almacenar los geles en posición horizontal en sus recipientes protectores originales a temperatura ambiente (15 a 30 °C). (La flecha situada en la cara frontal de la caja del kit debe apuntar hacia arriba). NO REFRIGERAR NI CONGELAR. Son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit o en las etiquetas de sus recipientes. Evitar el almacenaje en un lugar cercano a una ventana o a una fuente de calor. Evitar variaciones de temperatura importantes durante el almacenamiento.

Deshechar el gel cuando:

- (i) haya cristales o precipitados en la superficie del gel o su textura sea muy blanda (consecuencias de la congelación del gel o por haberlo conservado a una temperatura fría),
- (ii) se observe crecimiento bacteriano o fúngico,
- (iii) haya una cantidad de líquido excesiva en la caja del gel (como resultado de la exudación del tampón debida a un almacenamiento inadecuado).

2. ESPONJAS TAMPONADAS

Preparación

Las esponjas tamponadas están listas para usar. Cada esponja tamponada contiene : tampón pH 7,0 ± 0,5 ; componentes inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

Uso

Las esponjas tamponadas funcionan como reservorio del tampón de electroforesis y aseguran el contacto entre el gel y los electrodos.

Almacenamiento, estabilidad y señales de deterioro

Almacenar las esponjas a temperatura ambiente.

Deben ser conservadas horizontalmente en su bolsa protectora (la flecha situada en la parte frontal del kit debe apuntar hacia arriba).

Son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el kit o en su bolsa protectora. NO LAS CONGELE.

Desheche las esponjas tamponadas si la bolsa está abierta o si las esponjas están secas.

3. COLORANTE VIOLETA ÁCIDO

Preparación

El vial del colorante violeta ácido concentrado debe completarse hasta 300 mL con agua destilada o desionizada.

Después de la dilución, la solución colorante contiene : solución ácida pH ≈ 2 ; violeta ácido ; etilén-glicol ; componentes inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

Uso

Para la tinción de geles con separación electroforética de proteínas.

IMPORTANTE: El colorante está destinado para la coloración de 10 geles. Cambie el colorante después de su utilización en 10 coloraciones.

Almacenamiento, estabilidad y señales de deterioro

Almacenar las soluciones stock y de trabajo del colorante temperatura ambiente o refrigeradas en contenedores cerrados para evitar la evaporación. La solución stock del colorante es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit o en las etiquetas del vial. La solución de trabajo del colorante es estable durante 6 meses.

4. DILUYENTE

Preparación

El diluyente está listo para usar. Contiene : tampón pH 7,0 ± 0,5 ; azul de bromofenol ; componentes inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

Uso

Para el tratamiento de las muestras de orina. El azul de bromofenol actúa como marcador de aplicación y migración.

Almacenamiento, estabilidad y señales de deterioro

Almacenar el diluyente a temperatura ambiente. Es estable hasta la 0 caducidad indicada en la caja del kit o en las etiquetas del vial.

El diluyente debe estar exento de precipitados.

5. PAPELES DE FILTRO

Uso

Papeles de filtro finos absorbentes precortados, de un solo uso, para secar el exceso de humedad de la superficie del gel antes de la aplicación de la muestra.

REACTIVOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

ATENCIÓN : Ver las fichas de datos de seguridad.

1. SALINA

Preparación

Preparar una solución de NaCl 0.15 M (9 g/l) con agua destilada o desionizada.

Uso

Para diluir las muestras de orina con una concentración de proteínas > 2 g/l.

Almacenamiento, estabilidad y señales de deterioro

Almacenar a temperatura ambiente o refrigerada. Desechar después de 3 meses o si cambia su aspecto, por ejemplo, se vuelve turbia debido a contaminación microbiana. Para períodos de almacenaje más prolongados, añadir azida sódica, 1 g/l.

2. SOLUCIÓN DECOLORANTE

Preparación

Cada vial de la Solución Decolorante stock (SEBIA, PN 4540, 10 viales de 100 ml) se diluye hasta 100 litros con agua destilada o desionizada. Es conveniente diluir sólo 5 ml de la solución stock hasta 5 litros, el volumen del contenedor de la solución decolorante.

Después de la dilución, la solución decolorante contiene una solución ácida pH ≈ 2.

Uso

Para decolorar, esto es, la eliminación del exceso de tinción y la coloración de fondo de los geles y para enjuagar la cámara de tinción después de la limpieza con solución de lavado. Para neutralizar la acidez del decolorante, introduzca dentro del contenedor de desechos vacío 15 ml de sosa al 50 % (solución comercial).

Almacenamiento, estabilidad y señales de deterioro

Almacenar la solución decolorante stock a temperatura ambiente o refrigerada. Es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit o en las etiquetas del vial. La solución decolorante de trabajo es estable durante una semana a temperatura ambiente en una botella cerrada. No añadir azida sódica.

Desechar la solución decolorante de trabajo si cambia su aspecto, por ejemplo, se vuelve turbia debido a contaminación microbiana.

Para evitar la proliferación microbiana en la solución decolorante diluida que se vaya a almacenar durante más de una semana, añada 5 µL/DL de ProClin 300.

El decolorante diluido al que se ha añadido ProClin es estable en un contenedor cerrado a temperatura ambiente o en la nevera hasta la fecha de caducidad indicada en el kit o en la etiqueta del vial de decolorante.

3. SOLUCIÓN DE LAVADO HYDRASYS

Preparación

Cada vial de la Solución de Lavado HYDRASYS stock (SEBIA, PN 4541, 10 viales de 80 ml) se diluye hasta 5 litros con agua destilada o desionizada.

Después de la dilución, la solución de lavado contiene : tampón pH 8,7 ± 0,5.

Uso

Sirve para limpiar el Compartimento de Tinción del HYDRASYS. Usar periódicamente, por ejemplo, si el instrumento se utiliza diariamente, lavar el compartimento de tinción semanalmente.

Ver la hoja de instrucciones para conocer el modo de empleo.

Almacenamiento, estabilidad y señales de deterioro

Almacenar las soluciones de lavado stock y de trabajo en contenedores cerrados a temperatura ambiente o refrigeradas. Son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial.

Desearchar la solución de lavado de trabajo si cambia su aspecto, por ejemplo, se vuelve turbia debido a contaminación microbiana.

4. SOLUCIÓN DE ALMACENAMIENTO**Preparación**

Preparar una solución de glicerina al 15 % con agua destilada o desionizada (vol. / vol.).

Uso

Para tratar los geles con el fin de evitar que se encojan y se rompan durante la etapa de secado final.

Almacenamiento, estabilidad y señales de deterioro

Almacenar la solución de almacenamiento temperatura ambiente (15 a 30 °C) o refrigerada (2 a 8 °C) en una botella cerrada. Se puede utilizar la misma solución de almacenamiento para 3 geles.

Desearchar si cambia su aspecto, por ejemplo, se vuelve turbia debido a contaminación microbiana.

NOTAS :

Las pruebas realizadas durante la validación de los reactivos muestran que, para las diferentes soluciones y usando material adaptado al volumen a reconstituir, una variación del volumen final de un ± 5 % no tiene ningún efecto adverso en el análisis.

El agua destilada o desionizada, usada para la reconstitución de las soluciones, debe estar exenta de contaminación bacteriana o fúngica (use un filtro de 0,22 µm) y debe tener una resistividad superior a 10 Megohms x cm.

EQUIPAMIENTO Y ACCESORIOS NECESARIOS

1. Sistema HYDRASYS SEBIA : HYDRASYS 2 SCAN PN 1200, HYDRASYS 2 PN 1201, HYDRASYS 2 SCAN FOCUSING PN 1202, HYDRASYS 2 FOCUSING PN 1203, HYDRASYS PN 1210 o PN 1211 o HYDRASYS FOCUSING PN 1212.
2. Kit de Contenedores suministrado con el HYDRASYS.
3. Soporte de gel universal HYDRASYS para la coloración de geles pequeños SEBIA, referencia n° 1278, en HYDRASYS e HYDRASYS 2.
4. Pipetas: 5 µl, 20 µl y 200 µl.
5. Control de Masa Molecular SEBIA, PN 4781.

MUESTRAS PARA ANÁLISIS**Extracción y almacenamiento de muestras**

El análisis se realiza con orina fresca recogida durante 24 horas. Si es necesario, almacenar las muestras entre 2 y 8 °C durante una semana. Para períodos de almacenamiento más prolongados, almacene las muestras congeladas (son estables durante un mes al menos).

Congelar orina con HEPES 0.1 M (pH 6.75) y azida sódica, 0.2 g/l, mejora la estabilidad del almacenaje.

IMPORTANTE: No utilizar ácido bórico como conservante.

Las muestras descongeladas pueden dar lugar a ligeras marcas de aplicación debidas a la desnaturalización de proteínas.

Preparación de las muestras

Pipetear 20 µl de diluyente (esta solución es viscosa ; asegurarse de que no se formen burbujas de aire durante el pipeteo). Dispensarlo en el fondo de un microtubo ; asegurarse de que el líquido viscoso no se adhiera a la pared del microtubo. Añadir 80 µl de orina. Agitar en el vórtex durante unos 5 segundos.

Si la proteinuria es > 2 g/l, diluir la muestra con salina para obtener alrededor de 2 g/l de proteínas. Seguir entonces con el procedimiento habitual.

NOTA : En caso de orinas turbias (concentradas o no), se recomienda eliminar las partículas, centrifugando las muestras (durante 10 minutos a 3000 rpm) o por filtración (en un filtro de 0,45 µm) para obtener una buena difusión.

PROCEDIMIENTO

El sistema HYDRASYS es un instrumento semiautomático multiparamétrico. Las etapas automáticas incluyen el procesado de los geles de agarosa HYDRAGEL en la secuencia siguiente: migración electroforética, secado, tinción, decoloración y secado final. Las etapas manuales incluyen el manejo de las muestras y los geles, la aplicación de la muestra y la puesta en marcha del instrumento para la operación.

LEER CUIDADOSAMENTE EL MANUAL DE INSTRUCCIONES DEL HYDRASYS / HYDRASYS 2.

I. PUESTA EN MARCHA DE LA MIGRACIÓN

1. Encender el HYDRASYS.
2. Sacar el gel de su envoltorio. El gel puede colocarse encima de su caja cerrada.
3. Absorber de manera suave y rápida el exceso de líquido de los pocillos con una tira de papel de filtro. Centrar la tira de manera que esté alineada con los pocillos.
4. Aplicar cuidadosamente 5 µl de muestra de orina tratada en cada pocillo sin formar burbujas de aire. Limpiar la punta de la pipeta antes de cada aplicación. No tocar el fondo del pocillo durante la aplicación.
5. Abrir la tapa del Módulo de Migración y elevar los soportes de los electrodos y los aplicadores.

ATENCIÓN: ¡Nunca cerrar la tapa cuando los soportes están elevados!

6. Seleccione el programa de migración "1*5 PROTEINURIE" para un gel o el programa de migración "2*5 PROTEINURIE" para dos geles en el menú del instrumento (lado izquierdo del teclado).
7. Extraer las esponjas tamponadas de su envoltorio ; asírlas por los extremos de plástico. Engarzar los extremos de plástico agujereados con las puntas metálicas del soporte de los electrodos ; los extremos de plástico deben quedar encarrados al soporte (Fig. 1).

8. Dispense 120 μ l de agua destilada o desionizada en la parte inferior del centro del marco impreso en la Placa de Control de la Temperatura del módulo de migración al trabajar con un gel, ó 2 veces 100 μ l en la parte inferior de la mitad derecha y de la mitad izquierda al trabajar con 2 geles.
 - Colocar el gel (con el lado de agarosa hacia arriba) con su borde inferior en contacto con el tope inferior del marco serigrabiado (Fig. 2).
 - Aplicar el gel en la superficie, haciéndolo contactar con el agua (Fig. 2). Asegurarse de que no haya burbujas de aire, de que el agua esté extendida bajo toda la superficie del gel y de que el gel esté alineado con el marco serigrabiado.
9. Devolver ambos soportes a su posición original. En esta posición ñas esponjas tamponadas no tocan el gel. **NO FORZAR LOS SOPORTES HACIA ABAJO.**
10. Cerrar la tapa del módulo de migración.
11. Iniciar el procedimiento inmediatamente presionando la tecla "START" (flecha verde) del lado izquierdo del teclado.

IMPORTANTE: Asegurarse de que la toma de aire situada en el lado derecho del instrumento no está bloqueada.

MIGRACIÓN - DESCRIPCIÓN DE LAS ETAPAS AUTOMÁTICAS

- Difusión de las muestras en el gel durante 10 minutos.
- Los dos soportes descienden, con lo cual las esponjas tamponadas contactan con la superficie del gel.
- La migración se realiza a potencia constante de 10 W para un gel, o a potencia constante de 20 W para dos geles, a 20 °C controlados por efecto Peltier, hasta que se hayan acumulado 60 Vh, durante unos 15 minutos.
- El soporte de los electrodos se eleva para desconectar los electrodos.
- Un pitido audible indica que la tapa del módulo de migración se desbloquea.

NOTA: La tapa del módulo de migración permanece cerrada durante todas las etapas de la migración.

II. PUESTA EN MARCHA DEL PROCESADO DEL GEL

1. Abrir la tapa del módulo de migración.
2. Elevar ambos soportes, extraer las esponjas tamponadas por sus extremos de plástico y desechar.
3. Extraer el gel para su procesamiento posterior.
4. Después de cada uso, limpiar los electrodos y la superficie de control de temperatura con un pañuelo de papel suave humedecido, después de lo cual puede iniciarse una nueva migración.
5. Abrir el soporte del Gel. Colocar el gel húmedo (con el lado de agarosa hacia arriba) en los orificios de las dos varillas y cerrar el soporte. Comprobar que el gel esté correctamente colocado dentro del soporte (Fig. 3).

IMPORTANTE: Para la coloración de uno o dos geles HYDRAGEL 5 PROTEINURIE en el HYDRASYS 2, use el soporte de gel universal HYDRASYS, SEBIA, referencia nº 1278.

6. Colocar el soporte del gel dentro del Módulo de Procesado/Tinción.

IMPORTANTE: Antes de iniciar el programa de procesado/tinción del gel, comprobar los siguiente:

 - el contenedor de colorante contiene 300 ml de colorante ;
 - el contenedor de decolorante contiene al menos 1 litro de solución decolorante ;
 - el contenedor de la solución de almacenamiento contiene 300 ml de solución de almacenamiento ;
 - el contenedor de deshechos está vacío.

Para conocer en qué posiciones conectar los reactivos: consultar la información que aparece en la pantalla del instrumento (escoger la tecla: VER CANALES).

IMPORTANTE: No olvidar bloquear los canales no utilizados.

7. Seleccionar el programa de tinción "PROTEINURIE" en el menú del instrumento e iniciar el procedimiento presionando la tecla "START" (flecha verde situada en el lado derecho del teclado).

Durante las etapas de tinción, decoloración y secado, el compartimento permanece bloqueado.

Después de la etapa de enfriamiento, un pitido audible indica que el compartimento se desbloquea (la ventilación se mantiene hasta que se saca el soporte del gel).

III. FINALIZACIÓN DEL PROCESADO DEL GEL

1. Retirar el soporte del gel del compartimento, abrirlo y sacar el gel seco.
2. Si es necesario, limpiar el respaldo (el lado de soporte de plástico) del gel seco con un papel suave y húmedo.

CONTROL DE CALIDAD

Se aconseja incluir un control de peso molecular valorado en cada procesado de muestras.

RESULTADOS

Interpretación¹⁻¹³

La interpretación es cualitativa. Para ayudas en la interpretación consultar la BIBLIOGRAFÍA.

Proteinuria fisiológica

Es débil, generalmente inferior a 120 mg / 24 h y no hay diferencias significativas entre hombres y mujeres. La proteína principal es la albúmina asociada con trazas de transferrina e inmunoglobulinas. Una proteinuria superior a 120 mg / 24 h debe ser considerada como patológica.

Una proteinuria positiva (> 120 mg / 24 horas) debe ser examinada con más detalle mediante un análisis cualitativo de las proteínas eliminadas.

La proteinuria glomerular está definida por proteínas con un peso molecular > 65 - 70 kDa (por ejemplo, albúmina, transferrina, Ig G) localizadas entre el punto de aplicación de la muestra y la fracción de albúmina. En estos casos, la albúmina es la fracción principal.

La proteinuria tubular está definida por proteínas con un peso molecular < 65 - 70 kDa (por ejemplo, α -1 microglobulina, cadenas ligeras libres monoclonales o policlonales, β -2 microglobulina, RBP (proteína de unión al retinol), lisozima), localizadas entre la fracción de albúmina y el lado anódico del gel. En estos casos, la albúmina es la fracción menor.

Además de monómeros (25 kDa) puede haber dímeros (50 kDa) y/o formas más polimerizadas de cadenas ligeras libres. Raras veces sólo se observa una única banda de cadenas ligeras polimerizadas. Una identificación mediante inmunofijación (kits HYDRAGEL 1/2/4 BENICE JONES SEBIA, PN 4321/4322/4324) es indispensable para diferenciar las cadenas ligeras libres policlonales de las cadenas ligeras libres monoclonales. Para confirmar la presencia de cadenas ligeras en una banda que se sospecha que es un polímero, la muestra debería ser tratada con un agente reductor (por ejemplo, β -mercaptoetanol) para despolimerizar las cadenas ligeras y la electroforesis debería ser respetada. Añadir 5 μ l de β -Mercaptoetanol, previamente diluido 10 veces con agua destilada o desionizada, a 100 μ l de orina, mezclar bien y añadir el diluyente como se ha descrito previamente (ver Preparación de las muestras).

La proteinuria mixta está definida por la presencia de proteínas tubulares y glomerulares.

Limitaciones

Las muestras congeladas y las descongeladas pueden dar lugar a ligeras marcas de aplicación a causa de la desnaturalización de proteínas. Teniendo en cuenta los principios analíticos de las técnicas actuales (principios de la electroforesis de zona, resolución y sensibilidad), no puede darse ninguna garantía respecto a la detección de la totalidad de todos los componente monoclonales.

Resolución de problemas

Llamar al Servicio de Atención Técnica del distribuidor cuando la prueba no funcione pese a haber seguido cuidadosamente las instrucciones para la preparación y almacenamiento de los materiales y para el procedimiento.

Las hojas de seguridad de los diferentes reactivos del kit, así como las informaciones relativas a la eliminación de los desechos, están disponibles en el Servicio de Asistencia Técnica de su distribuidor.

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

Todos los electroforetogramas fueron evaluados visualmente.

Reproducibilidad

Se utilizaron muestras de orina que presentaban proteinuria tubular, glomerular y mixta. Se aplicó un control de peso molecular (Pharmacia) en una pista de cada gel.

Intra geles

Las tres muestras fueron aplicadas cada una en las cuatro pistas de un único gel.

Inter geles

Se aplicaron cuatro muestras diferentes en cada uno de los 10 geles de un mismo lote.

Inter lotes

Se aplicaron cuatro muestras diferentes en las cuatro pistas de un único gel, cada uno procedente de tres lotes diferentes.

No hubo diferencias detectables visualmente entre las repeticiones.

Exactitud

Se utilizaron especímenes de orina de hospital (n = 90) y orinas de adultos sanos (n = 14). Las proteínas urinarias, escogidas como indicadores del tipo de nefropatías (alfa 1-microglobulina, beta 2-microglobulina, cadenas ligeras kappa libres y unidas y cadenas ligeras lambda libres y unidas para el daño tubular, e Ig G, albúmina y transferrina para el daño glomerular), fueron valoradas cuantitativamente cada una en laboratorios clínicos de hospitales mediante procedimientos de inmunoensayo: nefelometría de velocidad (sistema Beckman Array) o inmunoenzimáticamente (sistema Abbot IMX). Los análisis se realizaron con muestras de orina frescas. Las muestras para el análisis electroforético ciego fueron refrigeradas y utilizadas durante los cuatro días siguientes a la obtención de las mismas. Los resultados de las valoraciones cuantitativas de las proteínas fueron interpretados para cada proteína individual en términos de gravedad del daño tubular, glomerular o mixto (mixta, mixta principalmente tubular o mixta principalmente glomerular): desde ausencia de daño (el valor de la proteína estaba por debajo de o en el valor umbral normal) hasta daño serio (> 5 veces el valor umbral normal). Los electroforetogramas fueron evaluados visualmente. Las fracciones de proteína individuales fueron identificadas mediante su peso molecular. Esto se determinó a partir de una curva de calibración basada en la movilidad de marcadores de peso molecular (Pharmacia). Además, las fracciones fueron semicuantificadas mediante evaluación visual de su intensidad, por ejemplo, banda débil, media y fuerte.

En términos de presencia/ausencia de una nefropatía y su tipo, la interpretación de los resultados de una valoración cuantitativa de proteínas (QPA) y la electroforesis de proteínas en SDS (SDS-EP) fue idéntica en 83 casos (80 %). En 19 casos (18 %) ambos sistemas detectaron proteinuria pero diferían en su clasificación, mayoritariamente por una subclase. La SDS EP proporciona en un solo paso un patrón completo de las proteínas excretadas en la orina, y algunas de ellas son detectadas por esta técnica pero no por la QPA porque no ha sido utilizada para esta comparación (como la lisozima).

Los resultados se resumen abajo.

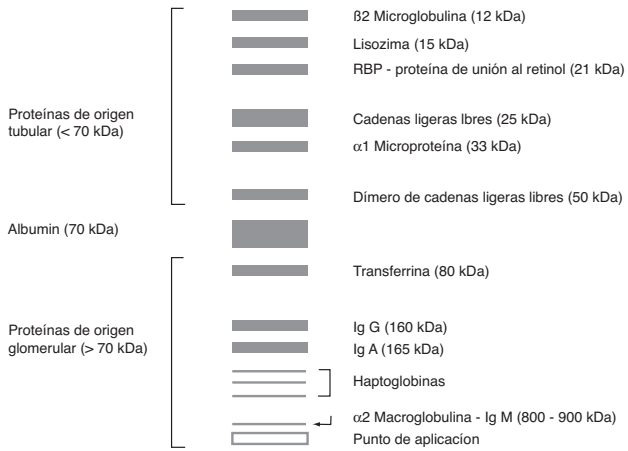
QPA	SDS-EP	No.	%	Note
N	N	21	20.2	idéntica interpretación
T	T	6	5.8	idéntica interpretación
G	G	11	10.6	idéntica interpretación
M	M	22	21.1	idéntica interpretación
M(T)	M(T)	12	11.5	idéntica interpretación
M(G)	M(G)	11	10.6	idéntica interpretación
M	M(G)	6	5.8	idéntica interpretación
N, M(G), o G(2)	T, M(T), M(G) o M	4	3.8	la proteína detectada mediante EP no ha sido medida o está por debajo del límite de detección del QPA
M, M(G) o M(T)	G	9	8.6	detección de proteínas tubulares por EP menos sensible
N	T	1	1	detección del producto de degradación de la proteína mediante EP
T	M(T)	1	1	detección del producto de polimerización de la proteína mediante EP
Total		104	100	

N = normal ; T = tubular ; G = glomerular ; M = mixta ; M(T) = mixta principalmente tubular ; M(G) = mixta principalmente glomerular.

Sensibilidad

La sensibilidad de detección se determinó a partir de la mayor dilución seriada de soluciones de albúmina y lisozima que proporcionaban una banda distinguible a 15 mg/l.

PATRÓN DE MIGRACIÓN



BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAPHY

1. Cameron JS. 1987. The nephrotic syndrome. *Am J Kidney Dis*, 10 : 157-171.
2. Chopin N. 1991. Étude de la protéinurie. *Inf Tech Biol*, 1 : 23-28.
3. Cohen R, François B, Sabot JF, Bernard P, Picq JP, Adeleine P. Étude comparative de l'immunoélectrophorèse urinaire et de quatre index de sélectivité glomérulaire au cours des glomérulopathies chroniques. 1985. *Path Biol*, 33 : 23-26.
4. Joachim GR, Cameron JS, Chwartz M, Belker EL. 1964. Selectivity of protein excretion in patients with the nephrotic syndrome. *J Clin Invest*, 43, 2332-2346.
5. Laemli U.K., Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227 : 680-685.
6. Le Bricon T, Erlich D, Bengoufa D, Dussaucy M, Garnier JP, Bousquet B. 1998. SDS-agarose gel electrophoresis of urinary proteins : Application to multiple myeloma. *Clin Chem*, 44 : 1991-1997.
7. Le Carrer D. 1990. Protéinuries : Mise au point sur leur exploration biologique en 1990. *LEurobiologiste*, 190 : 395-405.
8. Le Carrer D, Chopin N. 1994. Profil protéique urinaire : Proposition d'un protocole d'exploration biologique des protéinuries. *Revue française des laboratoires*, 269 : 29-37.
9. Le Carrer D, Nicolas A, Ducasse L. 1992. L'analyse des protéinuries au laboratoire de biologie en 1992. *Revue française des laboratoires*, 225 : 41-47.
10. Linstedt G, Lindberg PA. 1974. Loss of tubular proteinuria pattern during urine concentration with a commercial membrane filter cell. *Clin Chem Acta*, 56 : 125-126.
11. Philipon C. 1989. Protéines urinaires : Intérêt clinique et interprétation. *Technique et Biologie*, 6 : 239-249.
12. Waller KV, Ward KM, Mahan JD, Wismatt DK. 1989. Current concepts in proteinuria. *Clin Chem*, 35 : 755-765.
13. Westemeier R., "Electrophoresis in Practice. A Guide to Theory and Practice", *VCH Publishers*, New York, NY, 1993.
14. Umbreit A, Wiedemann G. 2000. Determination of urinary protein fractions. A comparison with different electrophoretic methods and quantitatively determined protein concentrations. *Clinica Chimica Acta*, 297 : 163-172.
15. Wendling A. Procédures de diagnostic ou de dépistage : Justification et validité d'un test de diagnostic ou de dépistage-sensibilité-spécificité. *Impact-Internat*, 1986 ; Sept : 93-97.

SCHÉMAS / FIGURES

Figure 1

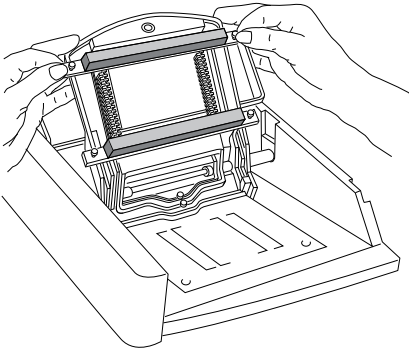


Figure 2

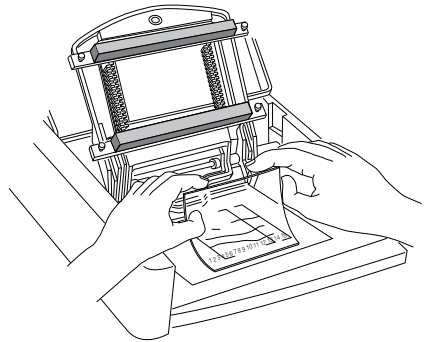


Figure 3

