Archive of SID

مجله دانشکده پزشکی
دانشگاه علوم پزشکی تهران
سال ۶۰، شماره ۶، صفحات ۴۷۰ تا ۴۷۷، (۱۳۸۱)

ارائه روش اصلح در اندازه‌گیری میزان پروتئین ادرار ۲۴ ساعته

زهرا خاتمی، دکتر صغری روحی، آزرم نامی، نزهت شاکری، دکتر محمد عباسی
مرکز تحقیقات و آزمایشگاه های رفرانس ایران، آزمایشگاه بیوشیمی، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

چکیده

مقدمه: با توجه به اهمیت اندازه‌گیری مقدار پروتئین ادرار ۲۴ ساعته در تشخیص، پیشگیری و پیگیری وضعیت بیماران در نارسائی‌های کلیوی و نیاز به مقادیر صحیح و دقیق آن جهت تعیین روند درمانی، سه روش مورد استفاده در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی ایران مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

مواد و روشها: این سه روش عبارت بودند از:

روش ۱- روش اسیدتری‌کلرواستیک (TCA) (کدورت سنجی در طول موج ۴۰۵ نانومتر)

روش ۲- روش اسید تری‌کلرواستیک (TCA) (کدروت سنجی در طول موج ۶۲۰ نانومتر)

روش ۳- روش اسید سولفوسالیسیلیک (SSA) (کدورت سنجی در طول موج ۶۲۰ نانومتر)

این ارزیابی با استفاده از نمونه‌های کنترل و نمونه‌های ادرار جمعیت افراد بیمار و سالم و مواد کالیبراسیون متفاوت انجام شده است.

یافته ها: نتایج حاصله بیانگر کیفیت مناسب روش ۱ برای اندازه‌گیری غلظت‌های mg/l ۷۰۰-۲۵ پروتئین و حداقل تأثیرپذیری در استفاده از مواد کالیبراسیون متفاوت می‌باشد، در حالیکه روش ۳ پایین‌ترین کیفیت را در سنجش مقادیر کمتر از mg/l ۲۰۰ نشان داده و در استفاده از مواد کالیبراسیون مختلف تأثیرپذیری قابل توجهی را داشته است. روش ۲ نیز، دارای کیفیت مناسب در اندازه‌گیری غلظت‌های mg/l ۱۰۰۰-۱۰۰ پروتئین بوده ولی در استفاده از مواد کالیبراسیون متفاوت، تأثیرپذیری بیشتری از روش ۱ را داشته است.

نتیجه گیری و توصیه ها: با توجه به نتایج فوق پیشنهاد می‌شود که استفاده از روش SSA در آزمایشگاه‌ها بطور کلی منسوخ گردد و از روش TCA در طول موج ۶۲۰ نانومتر به منظور اندازه‌گیری روتین و از روش TCA در طول موج ۴۰۵ نانومتر برای غربالگری مقادیر کم پروتئین در جمعیت‌های مستعد به بیماریهای کلیوی، برای تشخیص زودرس استفاده شود.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

پروتئین دفع شده در ادرار ۲۴ ساعته یکی از شاخص‌های اصلی در تشخیص و پیگیری وضعیت بیماران مبتلا به نارسائی‌های کلیوی می‌باشد، از آنجا که میزان پروتئین دفع شده در برخی مواقع نمایانگر مرحله نارسایی است، لذا دستیابی به نتایج قابل اطمینان برای پزشک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. نسبت پروتئین‌های مشاهده شده در ادرار بستگی به جذب آنها توسط توبولهای کلیوی دارد. ۶۰ درصد پروتئین‌های حاضر در ادرار آلبومین می‌باشد، زیرا آلبومین به وسیله توبولهای کلیوی به طور کامل برداشته نمی‌شود (۱). باقیماندهٔ پروتئین‌ها را پروتئین تام هورسفال که ماده زمینه سیلندرها می‌باشد تشکیل می‌دهد. با توجه به اینکه مقدار کمی پروتئین در روز از طریق ادرار دفع می‌شود (mg/d ۱۵۰-۲۰) و بیشتر آن هم آلبومین می‌باشد، اندازه‌گیری پروتئین تام می‌تواند نمایانگر میزان ترشح آلبومین از طریق گلومرولها باشد.

اساس اندازه‌گیری پروتئین در ادرار، به صورت کمی، نیمه کمی و کیفی بر پایه روشهای ایمونوشیمی، کدورت سنجی و شیمیایی با استفاده از نوار می‌باشد. در این بین روش کدورت سنجی به دلیل ساده بودن و مقرون به صرفه بودن در آزمایشگاه‌ها کاربرد دارد. روش ایمونوشیمی به خاطر ابزار و مواد اختصاص و هزینه نسبتاً بالا رایج نبوده و روش نوار به خاطر کیفی بودن نتایج حاصله برای ادرار ۲۴ ساعته مورد استفاده قرار نمی‌گیرد. مقایسه روشهای مختلف در تحقیقات انجام شده توسط Dilena و Mc Ldeny آمده است (۲،۳).

همانطور که ذکر شد اساس اندازه‌گیری رایج کدورت سنجی است که با استفاده از روشهای ۱- اسید تری‌کلرواستیک در طول موج ۴۰۵ نانومتر، ۲- اسید تری‌کلرواستیک در طول موج ۶۲۰ نانومتر، ۳- اسید سولفوسالیسیلیک در طول موج ۶۲۰ نانومتر انجام می‌شوند.

نکات مورد توجه در معرفی روش اصلح عبارتند از :

۱- کیفیت قابل قبول نتایج آزمایش

۲- توجه به روشهای رایج اندازه‌گیری

۳- سهولت دسترسی به مواد و ابزار مورد نیاز

۴- امکانات بیمار در تقبل هزینه‌های آزمایش.

در ضمن در بررسی روشها عوامل کیفیتی شامل صحت، دقت، محدوده اندازه‌گیری، خطی بودن و یکنواختی نتایج در استفاده از کالیبراتورهای متفاوت، تعیین گردیده و سپس روش اصلح انتخاب شده است (۴).

مواد و روشها

ابزار و مواد مورد استفاده- قرائت جذب نوری کلیه آزمایش‌ها با استفاده از فیلتر فتومتر اپندرف مدل ۶۱۲۰ مجهز به کووت‌کوارتز چهارگوش همراه با سیستم مکش انجام شد. مواد اولیه شامل اسید تری‌کلرواستیک اسید، اسید سولفوسالیسیلیک، کلرور سدیم با خلوص انالیتیکال از شرکت مرک تهیه شد.

کنترل و کالیبراتورهای مورد استفاده عبارتند از:

۱- محلول gr/dl ۵ آلبومین گاوی مرک (Fraction V)، رقت مورد استفاده mg/dl ۲۵ و ۵۰

۲- Percinorm شرکت بهرینگر مانهایم با شماره سری ساخت ۱۹۳۶۶۴۰۹، رقت مورد استفاده mg/dl ۲۴/۹ و ۴۹/۸

۳- Percipath شرکت بهرینگر مانهایم با شماره سری ساخت ۱۹۲۰۱۹۱۴، رقت مورد استفاده mg/dl ۲۴/۷ و ۴۹/۳

۴- Setpoint شرکت تکنیکان با شماره سری ساخت V ۸۰۰۱۹، رقت مورد استفاده mg/dl ۳۲/۵ و ۶۵

۵- HSN شرکت مرک با شماره سری ساخت A ۴۲۱، رقت مورد استفاده mg/dl ۳۱/۸ و ۶۳/۵

۶- BIORAD شرکت بیورد با شماره سری ساخت ۱۴۰۵۱، رقت مورد استفاده mg/dl ۳۲/۲ و ۶۴/۴

لازم به ذکر است که تهیه رقت از مواد کالیبراسیون و کنترل با استفاده از سرم فیزیولوژی (۰/۸۵ درصد کلرور سدیم در آب‌مقطر) انجام گرفت.

نمونه‌ها- نمونه ادرار Random ۱۱۰ نفر از مراجعین سرپایی سالم بیماران، با ریسک بیماری کلیوی (مبتلا به دیابت با سابقه بیش از ۵ سال) و بیماران قطعی کلیوی بدون ماده محافظ گرفته شد. کلیه نمونه‌ها تا زمان آزمایش در یخچال ^{o}C ۴-۲ نگهداری شدند و قبل از آزمایش به مدت ۱۰ دقیقه در دور rpm ۳۰۰۰ سانتریفوژ شده و از محلول رویی برای اندازه‌گیری میزان غلظت پروتئین استفاده گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

روش کار

۱- روش اسید تری‌کلرواستیک ۱۲/۵ درصد در طول موج ۴۰۵ نانومتر (۵):

۱۲/۵ گرم از پودر TCA را در مقدار کمی آب مقطر حل کرده و سپس حجم را به ۱۰۰ ml می‌رسانیم. برای انجام آزمایش به ترتیب جدول شماره ۱ عمل می‌کنیم:

جدول شماره ۱- روش اسید تری‌کلرواستیک ۱۲/۵ درصد در طول موج ۴۰۵ نانومتر

	T	Bt	St	C	B
نمونه ادرار	۱/۶	۱/۶	—	—	—
نمونه استاندارد	—	—	۱/۶	—	—
نمونه کنترل	—	—	—	۱/۶	—
سرم فیزیولوژی	—	—	—	—	۱/۶
٪۱۲/۵ TCA	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴

مدت انکوباسیون ۳۵ دقیقه در حرارت اطاق است. نمونه‌های شاهد تست (BT) بعد از این مدت در دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفوژ می‌گردد. جذب نوری همه لوله‌ها در مقابل نمونه شاهد (B) در طول موج ۴۰۵ mm قرائت شده، سپس با استفاده از فرمول زیر غلظت پروتئین موجود در نمونه‌ها محاسبه می‌شود.

$$\text{mg/dl } Con.T = \frac{0.DT - 0.DBT}{0.Dst} \times Con.st$$

لازم به ذکر است که این روش تا ۵۰ mg/dl خطی می‌باشد بنابراین نمونه‌ها اعم از ادرار یا استاندارد باید طوری رقیق شود که غلظت پروتئین موجود در آنها زیر ۵۰ mg/dl شود (ضریب رقت باید در هنگام محاسبه در فرمول مدنظر قرار بگیرد).

۲- روش تری‌کلرواستیک اسید ۱۲/۵ درصد در طول موج ۶۲۰ نانومتر (۱)

تمام مراحل کار مثل روش قبلی بوده، با این تفاوت که مدت انکوباسیون ۱۰ دقیقه و طول موج مورد استفاده ۶۲۰ نانومتر است. نکته قابل توجه اینکه این روش تا ۱۰۰ mg/dl خطی می‌باشد.

۳- روش اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد: (۶)

سه گرم از پودر SSA را در کمی آب مقطر حل کرده و سپس حجم را به ۱۰۰ml می‌رسانیم. به ۰/۵ ml استاندارد، کنترل، نمونه، مقدار ۲/۵ ml سولفوسالیسیلیک اضافه کرده و پس از مخلوط کردن به مدت ۱۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه صبر کرده و سپس نمونه‌های آزمایش را در مقابل نمونه شاهد در طول موج ۶۲۰ nm قرائت می‌کنیم.

روش مقایسه و ارزیابی

با انجام آزمایش در غلظت‌های **مختلف کنترل‌های** ذکر شده، میزان ضریب انحراف، درصد تورش، دامنه تجزیه و نوع کالیبراسیون مناسب هر روش تعیین شد. پس از تعیین کیفیت عملکردی هر روش، ۱۵ نمونه ادرار افراد بیمار و ۱۹ نمونه ادرار افراد سالم با هر سه روش تعیین مقدار شده و نتایج با استفاده از تست‌های آماری مورد مقایسه قرار گرفت. با مشاهده توانمندی روش TCA در طول موج ۴۰۵ نانومتر برای تعیین مقادیر پایین پروتئین (۲۰۰-۲۰ mg/l)، ۳۸ نمونه ادرار افراد سالم و ۳۸ نمونه ادرار افراد دیابتی با سابقه بیش از ۵ سال و بدون تظاهرات بیماری کلیوی مورد سنجش و بررسی قرار داده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

یافته ها

مجموعه یافته های این مطالعه در جداول شماره ۱ تا ۴ به نمایش در آمده است :

جدول شماره ۱- تکرارپذیری نمونه کنترل تجاری setpoint در غلظت‌های مختلف و تکرار ۱۰گانه در سه نوبت (نتایج بر اساس جذب نوری مشخص شده‌اند).

غلظت mg/l		TCA ۴۰۵ nm	slop	TCA۶۲۰ nm	slop	SSA	slop
۶۵۰۰	X	0.D		0.D		0.D	
	SD	>۲		>۲		>۲	
	CV	0.D		0.D		0.D	
۵۴۱۷	X	0.D		0.D		0.D	
	SD	>۲		>۲		>۲	
	CV	0.D		0.D		0.D	
*۲۷۰۸	X	0.D		0.D		۱/۳۱۴	
	SD	>۲		>۲		۰/۰۶	۰/۹۴
	CV	0.D		0.D		٪۴/۵	
*۱۳۵۴	X	0.D		0.D		*۰/۶۱۸	
	SD	>۲		>۲		۰/ ۰۲	
	CV	0.D		0.D		۰/٤	
*۶۷۷	X	۱/۶۰۲		۰/۸۶۴		۰/۲۷۵	
	SD	۰/۰۵	۱/۰۶	۰/۰۲۵	۰/۹۷	۰/۰۱۴۸	
	CV	٪۳		٪۳		٪۵	
*۳۳۸	X	۰/۸۴۹		*۰/۴۱۸		۰/۱۲۴	۱/۲٤
	SD	۰/۰۴	۱/۰۰	۰/۰۲		۰/۰۰۶	۱/۱۴
	CV	٪۵		٪۶		٪۵	
*۱۶۹	X	*۰/۴۲۵		۰/۱۹۴		۰/۰۶	
	SD	۰/۰۱۵		۰/۰۰۸۷	۱/۰۷	۰/۰۰۵۶	۱/۲۴
	CV	٪۳/۵		٪۵		٪۹	
*۸۵	X	۰/۲۱		۰/۰۹۴		۰/۰۲۹	
	SD	۰/۰۱۱	۱/۰۱	۰/۰۰۷	۱/۱۱	۰/۰۰۲۷	۱/۳۳
	CV	٪۵		٪۷		٪۹	
*۴۸/۶	X	۰/۰۹۸					
	SD	۰/۰۰۰۹		—		—	
	CV	~٪۱					
*۲۴/۳	X	۰/۰۴۵					
	SD	۰/۰۰۱۷	۱/۰۸	—		—	
	CV	٪۴					

+ نتایج از نوسان درون سه روند تجزیه

* نتایج از نوسان درون یک روند تجزیه

× مبنای بررسی sl op

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- مقایسه پراکندگی فاکتورهای حاصله از استفاده کالیبراتورهای متفاوت در اندازه گیری پروتئین ادراری (F فاکتور حاصل تقسیم غلظت استاندارد به جذب نوری استاندارد ساست). پراکندگی در قالب ضریب انحراف محاسبه شده است.

نوع کالیبراتور	غلظت mg/l	F.TCA ۴۰۵	F.TCA ۶۲۰	F.SSA
استاندارد آلبومین	۵۰۰	۴۰ ،۳۹	۸۵ ،۸۲	۹۷ ،۹۲
	۲۵۰	۳۷ ،۴۱	۹۳ ،۹۲	۱۰۰ ،۱۰۸
کنترل Set point	۶۵۰	۴۳ ،۴۳	۹۱ ،۸۸	۲۴۶ ،۲۹۸
	۳۲۵	۴۲ ،۳۹	۱۰۲ ،۸۸	۲۸۳ ،۳۰۴
کنترل HSN	۶۳۵	۴۸ ،۵۰	۱۰۹ ،۱۰۲	۲۲۳ ،۲۷۴
	۳۱۸	۴۹ ،۴۷	۱۱۵ ،۱۱۲	۲۶۴ ،۲۹۹
کنترل Percipalh	۴۸۶	۴۵ ،۴۶	۱۰۰ ،۱۰۳	۲۰۲ ،۲۶۵
	۲۴۳	۴۶، ۴۷	۱۱۴ ،۱۱۱	۲۵۴ ،۲۹۰
$\bar{X}$		۴۳/۹	۹۹/۲	۲۲۵
SD		۳/۹۵	۱۰/۷	۸۰
CV		٪۹	٪۱۱	*٪۳۵
* با حذف کالیبراسیون آلبومین		CV=٪۱۲		

جدول شماره ۳- میانگین و دامنه نتایج به دست آمده از آزمایش ۱۹ نمونه سالم و ۱۵ نمونه بیمار با استفاده از کالیبراتورهای مختلف در سه روش

نوع کالیبراتور	Pereipath				Albumin			
روش	TCA ۴۰۵		TCA ۶۲۰		SSA		TCA ۶۲۰	
نمونه	دامنه	میانگین	دامنه	میانگین	دامنه	میانگین	دامنه	میانگین
افراد بیمار	۹۲-۳۱۲۰	۹۷۰	۷۷-۲۸۴۰	۸۹۹	۷۸-۴۱۸۰	۱۱۰۰	۷۸-۲۶۶۰	۸۲۱
افراد سالم	۰/۵-۸۶	۱۰/۵	۰/۵-۴۸	۹/۱	۰/۵-۲۳	۶/۶	۰/۵-۷۰	۸/۹

نوع کالیبراتور	Albumin			
روش	TCA ۶۲۰		SSA	
نمونه	دامنه	میانگین	دامنه	میانگین
افراد بیمار	۷۷-۲۸۵۰	۸۹۳	۲۸-۱۶۶۰	۴۰۲
افراد سالم	۰/۵-۴۳	۸/۱	۰/۵-۹	۲/۸

بحث

همانگونه که از جدول ۱ مشخص می‌شود روش TCA در طول موج ۴۰۵ nm خطی‌ترین روش بوده و دامنه‌ای در حدود ۲۵-۷۰۰ mg/l را دربرمی‌گیرد. روش TCA در طول موج ۶۲۰ نانومتر دامنه‌ای از حدود ۱۰۰-۱۰۰۰ mg/l را در برمی‌گیرد. لازم به ذکر است که در غلظت‌های بالای ۱۰۰۰ mg/l تجمع ذرات به صورت توده‌ای مانع از قرائت صحیح کدورت می‌شود. در روش اسید سولفوسالیسیلیک دامنه آزمایش قابل تخمین دقیق نمی‌باشد زیرا مقادیر عدم صحت (slop = نسبت جذب به غلظت مورد انتظار) بیش از حد قابل قبول مشاهده می‌شود و تنها در غلظت ۱۳۰۰ mg/l به ۲۷۰۰ mg/l ارتباط خطی قابل قبول نشان می‌دهد.

مقادیر جذب نوری در روشهای TCA در طول موج ۴۰۵ نانومتر و ۶۲۰ نانومتر نیز تأیید می‌نماید که توانایی روش اول در قرائت مقادیر کمتر نسبت به روش دوم بیشتر می‌باشد (بالا بودن جذب نوری در غلظت‌های کمتر از ۱۰۰ mg/l و شیب مناسب منحنی روش نمودار ۱).

همچنین نتایج حاصله از جدول ۱ نمایانگر این مسئله است که روش اسید تری‌کلرواستیک امکان اندازه‌گیری در غلظت‌های ۲۰ mg/l را با دقت قابل قبول و غلظت ۴۰ mg/l را با دقت و صحت قابل قبول فراهم می‌نماید. با توجه به تغییرات

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شماره ۴- نتایج به دست آمده از نمونه ادرار افراد دیابتی و افراد سالم بر حسب mg/l با استفاده از روش TCA در طول موج ۴۰۵ نانومتر

شماره	سالم	دیابتی
۱	<۱۰	۳۰
۲	<۱۰	۴۷
۳	<۱۰	<۱۰
۴	<۱۰	<۱۰
۵	۱۹	۹۰
۶	<۱۰	۷۴
۷	<۱۰	۴۱
۸	۳۶	۱۲
۹	۱۴	۲۲۰
۱۰	<۱۰	۲۳
۱۱	<۱۰	۱۸
۱۲	۵۵	۲۹
۱۳	<۱۰	۳۱
۱۴	<۱۰	۴۸
۱۵	۴۶	۶۰
۱۶	<۱۰	۳۲
۱۷	<۱۰	<۱۰
۱۸	<۱۰	<۱۰
۱۹	<۱۰	۴۸
۲۰	<۱۰	۴۷
۲۱	<۱۰	۲۷
۲۲	۱۵	۲۱
۲۳	<۱۰	۴۲
۲۴	<۱۰	۳۸
۲۵	<۱۰	۸۱
۲۶	<۱۰	۱۳۴
۲۷	۴۶	۷۴
۲۸	<۱۰	<۱۰
۲۹	<۱۰	<۱۰
۳۰	<۱۰	۲۶
۳۱	۲۵۸	<۱۰
۳۲	<۱۰	۲۰
۳۳	<۱۰	۱۵۳
۳۴	<۱۰	۶۱
۳۵	<۱۰	<۱۰
۳۶	<۱۰	۱۲۱
۳۷	<۱۰	۴۱
۳۸	<۱۰	۷۱

بیولوژیک در میزان دفع پروتئین از طریق ادرار، ۱۳ درصد عدم صحت در اندازه‌گیری غلظت‌های کمتر از ۴۵ mg/l قابل اغماض است.

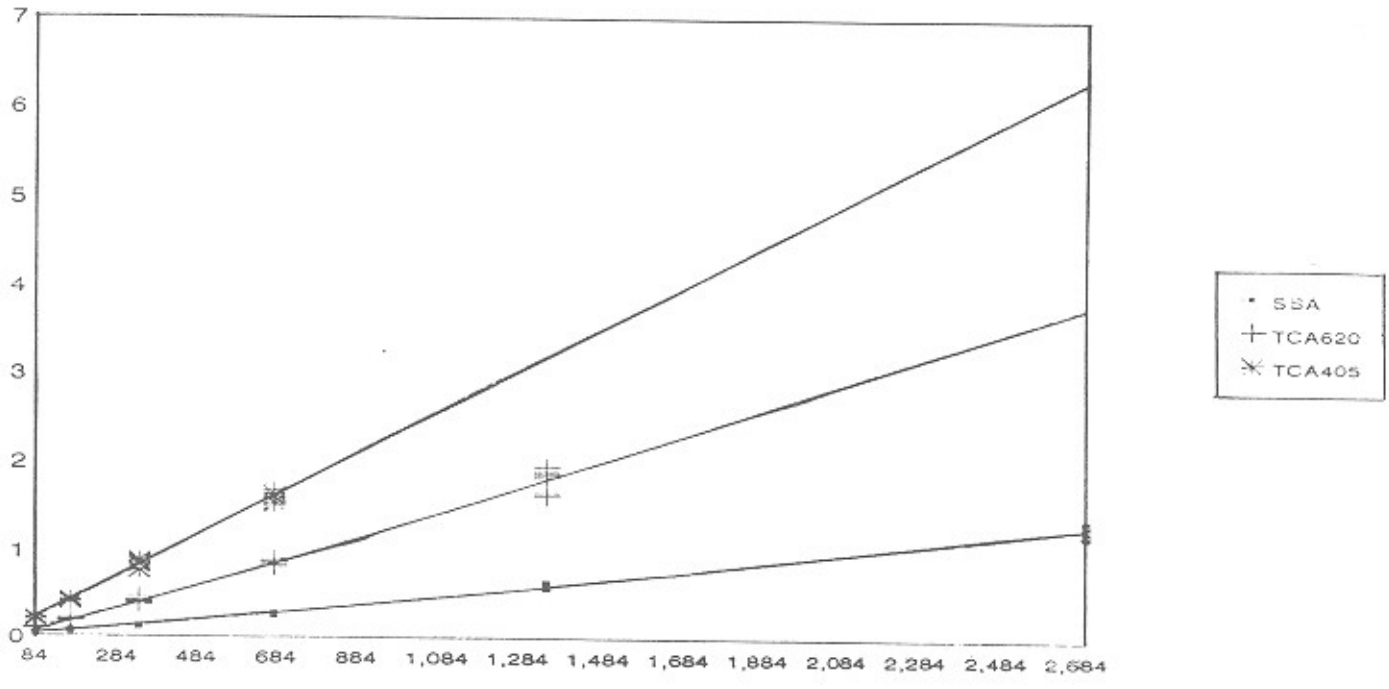
نتایج حاصله از جدول ۲ مشخص می‌نماید که روش اسید سولفوسالیسیلیک بیش از دو روش دیگر تحت تأثیر نوع کالیبراتور می‌باشد سولی در صورت حذف کالیبراسیون آلبومین در روش اسید سولفوسالیسیلیک، ضریب انحراف سایر کالیبراتورها تقریباً مشابه ضریب انحراف موجود در روش TCA در طول موج ۶۲۰ نانومتر می‌باشد. در این بین روش TCA در طول موج ۴۰۵ نانومتر کمترین ضریب انحراف بین کالیبراسیونهای مختلف را نشان می‌دهد (به اعداد فاکتورهای به دست آمده برای هر روش توجه شود).

نتایج ذکر شده در جدول ۳ توسط تست آماری paired t-test مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی اختلاف معنی‌دار بین نتایج در روش اسید سولفوسالیسیلیک و دو روش دیگر دیده شد، در صورتی‌که نتایج دو روش اسید تری‌کلرواستیک اختلاف معنی‌داری نشان نمی‌دهند. اختلاف مشاهده شده در صورت استفاده از کالیبراسیون آلبومین برای روش اسید سولفوسالیسیلیک بسیار قابل توجه‌تر از روش اسید تری‌کلرواستیک بوده است. علت این امر، واکنش شدید اسید سولفوسالیسیلیک با آلبومین می‌باشد (۶).

لذا با توجه به نتایج ذکر شده، پیشنهاد می‌شود که روش SSA به لحاظ تأثیرپذیری از نوع کالیبراسیون و عدم توانایی قرائت در غلظت‌های پایین و کمترین ارتباط خطی بین غلظت و جذب نوری، کلاً منسوخ اعلام شده و در راستای همگنی نتایج بین آزمایشگاه‌ها روش TCA برای اندازه‌گیری پروتئین ادرار ۲۴ ساعته استفاده شود. ضمناً با توجه به توانایی روش TCA در طول موج ۴۰۵ نانومتر برای سنجش مقادیر کم از پروتئین از این روش برای غربالگری وضعیت کلیوی جمعیت‌های مستعد به بیماریهای کلیوی مانند دیابتی‌ها در چهارچوب میکروپروتئینوری استفاده شود. نتایج به دست آمده از آزمایش ۳۸ نمونه ادرار افراد دیابتی با سابقه بیش از ۵ سال و بدون بیماری کلیوی و ۳۸ نمونه افراد سالم در جدول ۴ نشان داده شده است. همه اعداد به دست آمده توانمندی روش TCA در طول موج ۴۰۵ نانومتر را در اندازه‌گیری غلظت‌های پایین پروتئین نشان می‌دهد.

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار شماره یک ـ توزیع غلظت پروتئین برحسب O.D نمونه کنترل set point براساس جدول یک

منابع

1.Tietz textbook of clinical chemistry 1994 edition. Proteins in urine. P: 717-23.

2. Dilena BA et al. Six methods for determining urinary protein compared. Clin Chem, 1983; 29: 1533-57.

3. McEldeny LA, Tarbit et al. Six methods of urinary proteins compared. Clin Chem 1982; 28: 256-60.

4. Logan JE et al. Principles and recommendations on evaluation of reagent sets in Health laboratories with limited resources. WHO/ICSH/IFCC publication. WHO/LAB/89.2.

5. Shahangian Sh et al. Turbidimetric measurement of total urinary proteins. American Journal of clinical pathology 1984; 651-54.

6. Henry JB. Clinical and diagnosis management by laboratory methods 1991 edition; p: 400-4.

www.SID.ir