

İDRAR PROTEİNİ VE ALBÜMİNİ: ANALİZ VE KLINİK KORELASYON

Dr. Fatma Uçar

Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğt. ve Arş.
Hast.

Tıbbi Biyokimya Kliniği

SUNU PLANI

- Kronik böbrek hastalığı tanı kriterleri
- Proteinüri ve ölçüm yöntemleri
- Albuminüri ve ölçüm yöntemleri
- İdrar albumin ölçümünde standardizasyon çalışmaları

2012 yılı KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes) kılavuzuna göre KBH kriterleri

KBH Kriterleri (en az biri 3 aydan uzun süredir var olmalı)

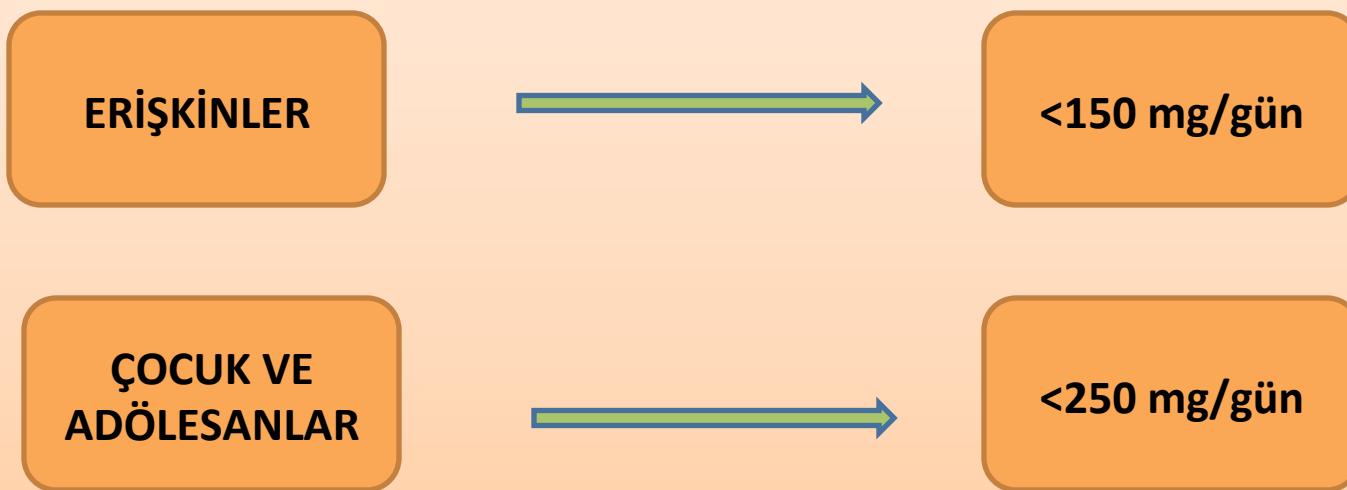
Böbrek hasarının belirteçleri	Albüminüri (AER \geq 30 mg/24 saat;ACR \geq 30 mg/gr) İdrar sediment anormallikleri Tübüler bozukluklara bağlı anormallikler Histolojik olarak saptanmış anormallikler Görüntüleme ile saptanmış yapısal anormallikler Böbrek nakli öyküsü
GFH azalması	GFH <60 ml/dk/ 1.73 m^2

2012 yılı KDIGO kılavuzuna göre KBH' da GFH ve albüminürü kategorileri

GFH Evreleri	GFH (ml/dk/1.73 m ²)	Tanımlar
G1	≥90	Normal veya yüksek
G2	60-89	Hafif azalmış
G3a	45-59	Hafif-orta derecede azalmış
G3b	30-44	Orta-şiddetli derecede azalmış
G4	15-29	Şiddetli azalmış
G5	<15	Böbrek yetmezliği
Albüminürü Evreleri	AER (mg/gün)	Tanımlar
A1	<30	Normal/yüksek normal
A2	30-300	Yüksek
A3	>300	Çok yüksek

PROTEİNÜRİ

- İdrarda normalden fazla miktarda protein bulunması



İDRARDA PROTEİN ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ

İdrarda protein ölçümü seruma göre zor

İdrar proteininin konsantrasyonu düşük (100 - 200 mg/L)

Miktar ve protein kompozisyonu açısından örnekler arası varyasyon yaygın

Protein olmayan interferen edici maddeler, yüksek inorganik iyon konsantrasyonu, değişken metabolit içeriği

İdrarda bulunan protein karışımıları, farklı protein reaktifleriyle farklı oranlarda reaksiyona girerler. Bu durum metodlarının kesinlik ve doğruluğunu etkiler.

İDRARDA PROTEİN ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ

Üriner proteinlerin geniş varyasyonları nedeniyle, var olan otomatik yöntemler, global, kabul edilebilir, bir kalibratörden yoksun olduğu için globülinler ve düşük MA proteinler göz ardı edilmiştir.

Tanımlanmış referans yöntem veya standardize referans materyal yoktur.

İdeal metod bütün proteinlere aynı oranda hassas olmalıdır.

İDRARDA PROTEİN ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ

A) Semikantitatif Yöntemler

1. Strip yöntemi

B) Kantitatif Yöntemler

1. Renk oluşumu
 - Biüre
 - Folin-Lowry
2. Bulanıklık oluşumu (Turbidimetrik)
 - Triklorasetik asit (TCA)
 - Sülfosalisilik asit (SSA)
 - Benzethonyum klorür
3. Boya bağlama
 - Coomassie brilliant blue (Bradford)
 - Pyrogallol red molibdat
 - Ponceau-S
 - Pyrokatekolviolet-molibdat
4. Elektroforez

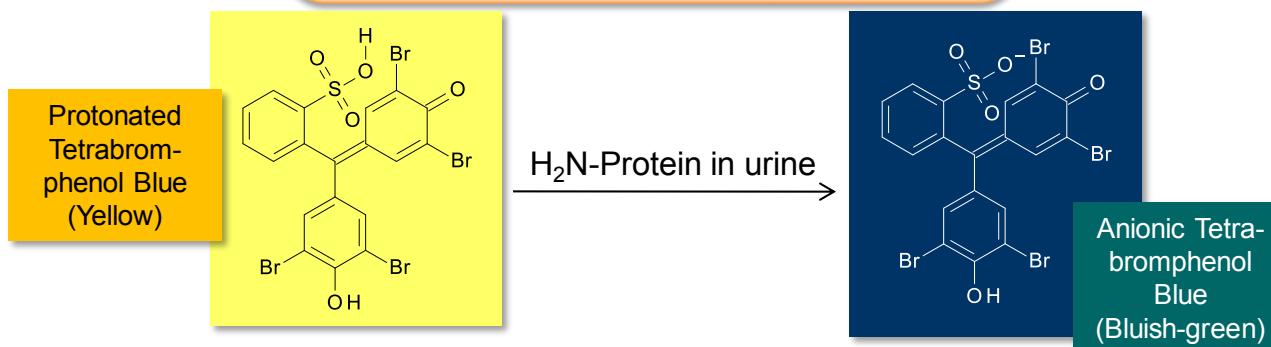
STRİP YÖNTEMİ



İndikatörlerin protein hatası prensibi

Protein varlığında pH 2-3 arasında renk değişimi

Tetrabromfenolblue sıkılıkla kullanılan pH sensitif boyası



Yeşil renk → Düşük protein konsantrasyonu
Mavi renk → Yüksek protein konsantrasyonu

Farklı marka striplerde kullanılan indikatörler ve sensitiviteleri

BRAND AND SENSITIVITY	INDICATOR
AimStick ⁹ (15 mg/dL)	Tetrabromphenol blue
Chemistrip ⁵ (6 mg/dL)	3',3'',5',5''-Tetrachlorophenol-3,4,5,6-Tetrabromsulfo-phthalein
Combi-Screen PLUS ¹⁰ (15 mg/dL)	Tetrabromphenol blue
DiaScreen ¹¹ (5 mg/dL)	Tetrabromphenol blue Citric acid
Dirui H-Series ¹² (0.15–0.3 g/L) →	Tetrabromphenol blue
Mission ¹³ (18–30 mg/dL)	Tetrabromphenol blue
Multistix ² (15 mg/dL)	Tetrabromphenol blue
Self-Stik ¹⁴ (5–10 mg/dL)	Tetrabromphenol blue Citric acid Sodium citrate
URiSCAN ¹⁵ (10 mg/dL albumin)	Tetrabromphenol blue
Uritest 13G ¹⁶ (0.1–0.3 g/L albumin) →	Tetrabromphenol blue
Uro-dip 10C ¹⁷ (not given)	Tetrabromphenol blue
URS ¹⁸ (15 mg/dL)	Tetrabromphenol blue

Note: sensitivities are for albumin.

STRİP YÖNTEMİ



Albumine sensitivitesi yüksek
Globulinlere,
Bence Jones protein,
Tamm-Horsfall mukoprotein
hemoglobine duyarlılığı
düşük



Semikantitatif değerlendirme de
- den ++++ ‘e kadar derecelendirme
yapılır,
0 ile >500 mg/dL lik proteinüriyi
yansıtır.

Yanlış pozitif:

- Yüksek dansite,
- Alkali idrar
- Kuaterner amonyum bileşikleri
- Klorhekzidin glukonat
- Fenazopiridin gibi ilaçlar
- Kan içeren örnek

Yanlış negatif:

- Dilüe idrar
- Albumin harici proteinlerin varlığı

İdrar stripleri proteinüri tayini için uygun mu?



- Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN)' na göre proteinüri tanısı koymurdada çok da güvenilir değil
- National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) rehberi de benzer

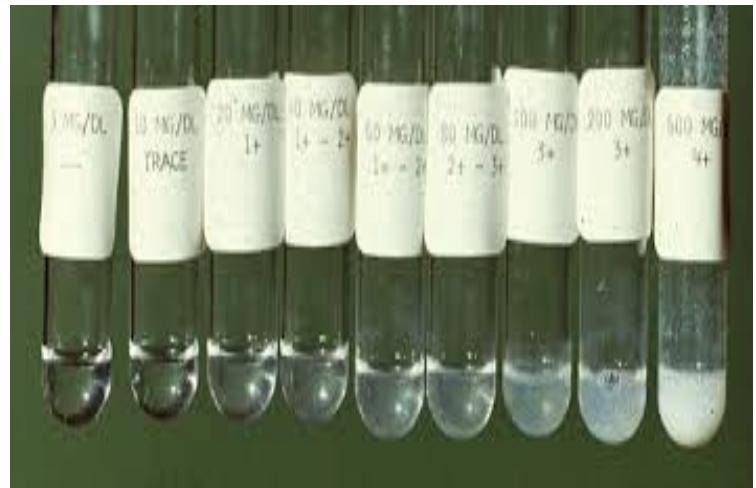
- National Academy of Clinical Biochemistry (NACB)
- Caring for Australasians with renal impairment (CARI) grubu Bu testlerin düşük sensitiviteye sahip olduğunu ve bazı böbrek hastalarını erken evrede saptamada sıkıntılı olduğunu vurgulamaktalar.

Aslında pozitif sonuçların takibinde kullanılmalı ve negatif testin hastalığı ekarte etirmediği ise unutulmamalı

TURBİDİMETRİK YÖNTEMLER

Ölçümü etkileyen faktörler:

- Asit presipitatlarının kimyasal yapısı
- Protein tipi
- Asit konsantrasyonu,
- Sıcaklık,
- Asit eklenmesinin hızı
- Asitin içinde kalma süreci



Dezavantajı:

- Fazla miktarda örnek hacmi (çocuklarda)
- İmpresizyonu yüksek
- Ig hafif zincirleri açısından sensitivitesi düşük
- Laboratuvarlar arası uyumsuzluk
(Farklı proteinlerle oluşan farklı reaktiviteden dolayı TCA ve SSA metodları arasında farklılıklar var)

Serum albümin örneklerinden carry-over ihtimali

Benzothonyum klorür

Alkalen solüsyonda amonyum tuzlarının proteinle etkileşimi sonucu bulanıklık oluşması. İdrarda alkalen solüsyonda protein olmayan içerikler (Ca, Mg gibi) türbidite oluşturur ve interfere eder. Tetra sodyum EDTA kullanılır

BOYA BAĞLAYICI YÖNTEMLER

- Coomassie brilliant blue
Pyrogallol red molibdat
Ponceau-S
Pyrokatekolviolet-molibdat
- Turbidimetrik yöntemlere göre daha güvenilir
- Hızlı, basit ve kolay otomatize
- Dezavantajı; farlı proteinlere farklı oranda cevap oluşturmazı

- Brilliant blue, kullanım sırasında küvetleri boyadığı için otomasyona uyarlanması zordur.



- Pyrogallol Red son yıllarda kullanımı artan, otomatize kitleri bulunan bir yöntemdir.

Strip analizlerinde olduğu gibi turbidimetrik ve boyama bağlama metotları tüm proteinler için eşit analitik sensitivite ve spesifiteye sahip değil. Daha çok albuminle reaksiyona girmeye meyilliler. Sodyum dodesil sülfat (SDS) ilavesi ile pyragallol red reaktifi için bu durum biraz azaltılmıştır.

Bazı idrar protein ölçüm yöntemlerinin analitik sensitivite ve lineariteleri

Ölçüm Metodu	Sensitivite
Biüret (Modifiye)	5-17 mg/L
Lowry	10 mg/L
Turbidimetrik (Benzothonyum klorür)	10 mg/L
Turbidimetrik (SSA)	10-25 mg/L
Turbidimetrik (TCA)	20 mg/L
Boya Bağlama (Ponceau S)	20 mg/L
Boya Bağlama (Brilliant blue)	2.5 mg/L
Boya Bağlama (Pyrogallol Red)	10 mg/L
İdrar Stripleri	150 mg/L

ALBUMİNÜRİ

- Albuminin birim zamanda idrar yolu ile atılım miktarı
- İdrarda albumin tayini için aslında hala gold standart:

24 s lik idrar toplanması

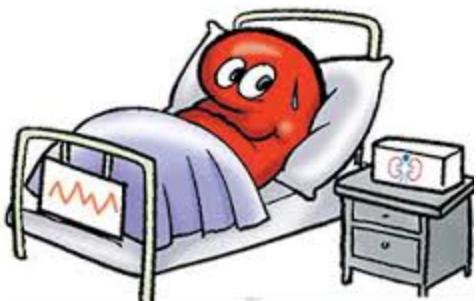
- 24 s lik idrarda normal değeri <30mg/gün
- Kadında ACR ≥ 3.5 mg/mmol (25 mg/g)
Erkekte ACR ≥ 2.5 mg/mmol (17 mg/g)

Atılımin yüksek olduğunu gösterir

- ~~Mikroalbuminüri~~ → Orta derecede artmış albuminüri
- ~~Makroalbuminüri~~ → İleri derecede artmış albuminüri

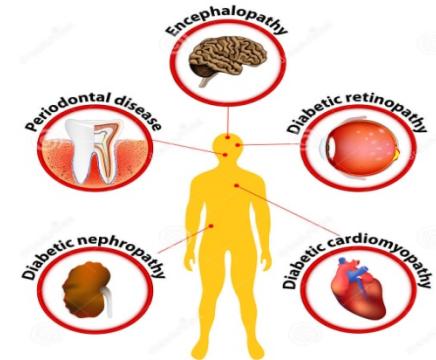
ALBUMİNÜRİ

Böbrek hasarı ile beraber böbrek hastalığının progresyonunu gösterir



Kardiyovasküler hastalık için bir risk faktörü

Diyabetik nefropatinin en erken bulgularından birisi



Albuminüri ve proteinüri kategorileri arasındaki ilişkiler

Ölçüt	Kategoriler		
	Normal - hafif artmış (A1)	Orta derecede artmış (A2)	İleri derecede artmış (A3)
AIH (mg/24 saat)	<30	30 - 300	>300
PIH (mg/24 saat)	<150	150 - 500	>500
AKO (mg/mmol) (mg/g)	<3 <30	3 – 30 30 - 300	>30 >300
PKO (mg/mmol) (mg/g)	<15 <150	15 – 50 150 - 500	>50 >500
İdrar şeridi	Negatif - çok düşük	Çok düşük - 1 pozitif	1 pozitif - daha yüksek

AIH: Albümin itrah hızı; PIH: Protein itrah hızı; AKO: Albümin/kreatinin oranı; PKO: Protein/kreatinin oranı; A1, A2 ve A3: Albüminüri kategorileri.

***Kronik Böbrek Hastalığı Konusunda Tıbbi Laboratuvar Hizmetine Yönelik Kısa Klavuz,
Türk Biyokimya Derneği**

PCR ve ACR

- Spot idrarda ACR ve PCR oranları zamanlı idrar örneklerindeki albumin ve protein itrah hızı ile yüksek oranda koreledir.
- Bazı sınırlamalar vardır;
-



Kas kitlesi fazla olan kişilerde
günlük ortalama kreatinin atılımı ↑



Kaşektik kişilerde ise kreatinin atılımı
normalden az

- Üriner protein atılımı gün içinde değişken



PCR ve ACR

- Estimated albumin excretion rate (eAER)
- Estimated protein excretion rate (ePER)
- $eAER = \frac{\text{Spot urine albumin}}{\text{Spot urine creatinine}} \times \text{Estimated creatinine excretion rate}$

$$eCER (\text{mg}/24 \text{ h}) = 879.89 + 12.51 \times \text{weight (kg)} - 6.19 \times \text{age} + (34.51 \text{ if black}) - (379.42 \text{ if female})$$

AJKD
Original Investigation

Estimated Albumin Excretion Rate Versus Urine Albumin-Creatinine Ratio for the Estimation of Measured Albumin Excretion Rate: Derivation and Validation of an Estimated Albumin Excretion Rate Equation

James Fotheringham, MRCP,^{1,2} Michael J. Campbell, PhD,²
Damian G. Fogarty, FRCP, PhD,³ Meguid El Nahas, FRCP, PhD,^{1,4} and
Timothy Ellam, MRCP^{1,5}

İdrar Albuminin Moleküler Yapısı

Heterojenik

Plazmadan
farklı

pH
Üre
Askorbik asit
Glukoz kons.



İdrar Albuminin Moleküler Yapısı

İntakt
Albumin

Modifiye
Albumin

Fragmanter
formları
(> 5 kDA)

KBH

Diyabet

Sağlıklarda

Nondiyabetik
hastalıklarda

-20 C°
depolama
sonrası

İdrarda Albumin Ölçüm Yöntemleri

- Strip
- Presipitasyon
- Boya Bağlama (biuret, tetrabromfenol, albümin-blue-580)
- Immünokimyasal metodlar:
 - Immunoturbidimetry
 - Immunonephelometry
 - Radioimmunoassay
 - Enzyme Immunoassay
 - Fluoroimmunoassay
 - Chemiluminescence
 - Electrochemiluminescence
- Size-Exclusion High Performance Liquid Chromatography
- Elektroforez
- LC-MS/MS

İdrarda Albumin Ölçüm Yöntemleri

- Strip yöntemi;
 - Albumin için immunokimyasal yöntemle dayalı ölçüm yapanlar
 - ACR oranını hesaplayabilmek için kreatinin ölçüebilen albumin spesifik stripler



İdrarda Albumin Ölçüm Yöntemleri

- Nefelometre ve turbidimetrik yöntemler yaygın
- Düşük konsantrasyon için yeterli sensitiviteye sahip (2-10 mg/L).

Poliklonal veya monoklonal ab kullanan yöntemlerin sensitiviteleri modifiye ve fragmente albumin formlarından etkilenirler.

NKDEP ve IFCC çalışma grubu poliklonal ab kullanan immunoassayları primer metod olarak kabul etmekte

İdrarda Albumin Ölçüm Yöntemleri

İmmun yöntemler idrar albuminin tüm fraksiyonlarını ölçemez.

Nonimmunoreaktif albuminin özellikleri albumininkine benzer ve albuminle birlikte elüe olur.

SE-HPLC yöntemi immun yöntemlere göre daha yüksek sonuçlar verir.

Nedeni tartışmalı:

- Albuminle aynı boyutta olan diğer idrar proteinlerini de ölçmesi
- Immunoreaktif ve nonimmunoreaktif albuminin her ikisini de ölçmesi

- Her ikisini birden tespit eden ölçümlerin diyabetik nefropati, kvs olaylar ve mortalite riskini belirlemede daha etkin olduğu öne süren çalışmalar
- PREVEND ve HOPE çalışmaları ise HPLC ve geleneksel immun yöntemler arasında kvs olayları tahmin etmede fark yok

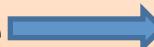
Albuminüri tespitinde immünkimyasal metodların ve SE-HPLC metodunun özellikleri*

Properties	Immunochemical Methods				SE-HPLC
	Radioimmunoassay	Immunonephelometry	Immunoturbidimetry		
Type of intact albumin detected	Immune-reactive	Immune-reactive	Immune-reactive		Immune-reactive, and Immune-unreactive
Molecular weight of albumin fragments detected	>12 kDa	>12 kDa	>12 kDa		>12 kDa
Detection limit (for immune-reactive albumin in immunochemical methods and for total albumin in SE-HPLC)	0.1-0.3 mg/L	0.5-1 mg/L	5-8 mg/L		2 mg/L
False negatives vs SE-HPLC for detection of microalbuminuria	23%	No data	36%		Reference
False positives vs SE-HPLC for detection of microalbuminuria	0%	No date	0%		Reference
Inter-assay coefficients of variation	9.2% at 12.2 mg/L 4.8% at 33 mg/L	4.2% at 12.1 mg/L 5.3% at 45 mg/L	8.5% at 8 mg/L 3.4% at 35 mg/L		5.6% at 44.7 mg/L 6.0% at 141 mg/L
Percentage of patients with normoalbuminuria by immunochemical methods reclassified as having microalbuminuria by SE-HPLC	16%	17%	No data		Reference
Ability to predict vascular outcomes and death	+	+	+		++

*Viswanathan G, Upadhyay A. Assessment of proteinuria. Advances in Chronic Kidney Disease, 18(4);2011:243-8

İdrar Albumin Ölçümünün Standardizasyonu

- National Kidney Disease Education Program Laboratory Working Group (LWG/NKDEP)
- National Institute of Standards and Technology (NIST)
- The International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC)

Dr. John Lieske  LC-IDMS

Internal standart :
Rekombinant serum
albuminin N terminal 24
aminoasit fragmanını

Normal ve patolojik idrar bu spesifik idrar albumin fragmanını ne kadar ihtiva etmekte?

İdrar Albumin Ölçümünün Standardizasyonu

Ölçüm sonuçlarının harmonizasyonunu sağlamak ve serum proteinlerinin ölçümünde laboratuvarlar arası variabiliteyi azaltmak için IFCC **CRM470** materyalini geliştirdi.
1993' te sertifiye etti ve 1994' te CAP tarafından yayınlandı.
2010' da **ERM-DA470k/IFCC** adını aldı.

Japon Klinik Kimya kuruluşu ve Klinik laboratuvar standardizasyon komitesi idrar albumini için sekonder referans materyal geliştirmek amacıyla koordine oldular.
>%95 saf albümin içermekte, onaylanması için bu materyal JCTLM (The Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine) gönderildi.

İdrar Albumin Ölçümünün Standardizasyonu

- İdrar albumin ölçümünün kalibrasyonu için 2 yaklaşım var:

Dilüe ERM-DA470k/IFCC serum referans materyali
Konsantrasyonu 37.2 g/L
1/100 ile 1/10000 dilüsyon

Saf albümin solüsyonu hazırlamak ve molar absorbtivite katsayısını kullanarak konsantrasyon hesaplama

İdrar Albumin Ölçümünün Standardizasyonu

NIST **SRM 2925** rekombinant human serum albumin içeren solüsyon ID-LC-MS/MS yöntemine dayalı sekonder ölçüm metodları için kalibratör haz.

NIST **SRM 3666** sekonder referans materyali (4 düzey: ≤ 10 , 10-50, 50-200 ve 200-400 mg/L)

Rutin ölçüm metodları

İdrar Albumin Ölçümünün Standardizasyonu

- 17 idrar albumin ölçüm metodu ile IDMS metodunun karşılaştırılmış
- Çoğu metot -35% ile +34% arasında bias
- Hata nedeni
 - Bazı metotlar yeterli kalibratör içermemesi
 - Dilüentlerin kalibratör matriksini etkilemesi
 - Örneklerin dilüsyonunda kullanılan dilüent ile örneğin matriksinin etkileşimi
- Bu nedenle bazı üretici firmaların metotlarını, maksimum dilüsyon değerlerini performans kriterlerini karşılayacak ölçüde valide etmeleri gerekmektedir.

Clinical Chemistry 60:3
471–480 (2014)

General Clinical Chemistry

State of the Art for Measurement of Urine Albumin: Comparison of Routine Measurement Procedures to Isotope Dilution Tandem Mass Spectrometry

Lorin M. Bachmann,^{1*} Goran Nilsson,² David E. Bruns,³ Matthew J. McQueen,⁴ John C. Lieske,⁵ Jack J. Zakowski,⁶ and W. Greg Miller¹

BACKGROUND: Urine albumin is the primary biomarker for detection and monitoring of kidney damage. Because fixed decision criteria are used to identify patients with increased values, we investigated if commonly used routine measurement procedures gave comparable results.

CONCLUSIONS: Bias was the dominant source of disagreement among routine measurement procedures. Consequently, standardization efforts will improve agreement among results. Variation of bias with concentration needs to be addressed by manufacturers.
© 2013 American Association for Clinical Chemistry

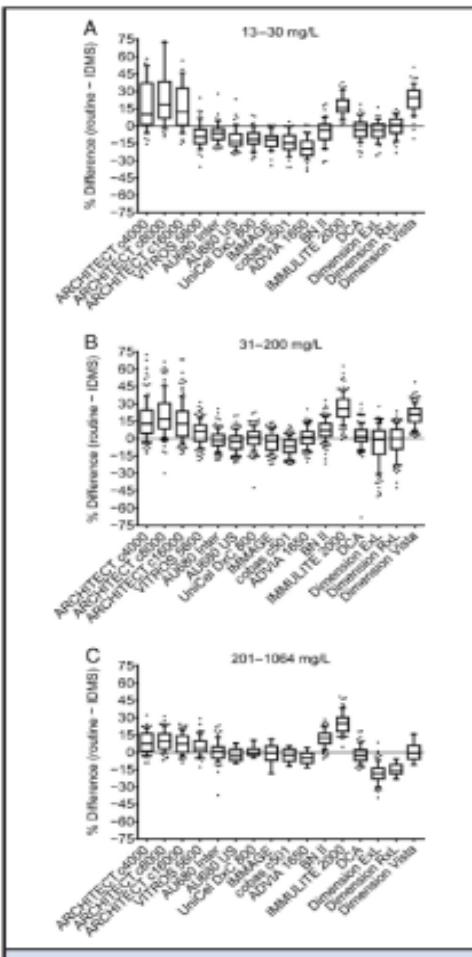


Fig. 1. Box-and-whisker plots of percent differences for routine measurement procedures vs the IDMS procedure by use of the means of replicate values. Boxes represent the median and 25th and 75th percentiles; whiskers represent the 10th and 90th percentiles. (A), Urine albumin concentration interval 12–30 mg/L [differences (%) not shown: ARCHITECT c4000: +81.8, +126.2; ARCHITECT c8000: +76.4, +97.0, +129.8; ARCHITECT c1600: +98.2, +119.8]. (B), Concentration interval 31–200 mg/L [differences (%) not shown: ARCHITECT c8000: +76.0, +78.0]. (C), Concentration interval 201–1064 mg/L.

İdrar Albumin Ölçümünün Standardizasyonu

- KDIGO klavuzunda → 30 mg/g ACR (yaklaşık 30 mg/L idrar albumin konsantrasyonu)
- 30 mg/L idrar albumin konsantrasyonunda karşılaştırılan metotların 9 tanesinin %10 biası aştiği ve KBH sınıflandırmasında yanlış klasifikasyona neden olduğu gösterilmiştir.
- 3 metot 26 mg/L konsantrasyonunda %10 biası aştiği ve KBH sınıflandırmasında yanlış klasifikasyona neden olmaktadır.
- Yakın zamanda yapılan birçok çalışmada kvs hst riskinin, ileri böbrek hst.ları ve mortalite riskinin aslında **10 mg/L lik idrar albumin** konsantrasyonunda başladığı ortaya konulmuştur.

İdrar Albumin Ölçümünün Standardizasyonu

- Bu nedenle idrar albumin ölçümünde yöntem performanslarının iyileştirilmesi ve standardizasyonun sağlanması açısından özellikle düşük idrar albumin konsantrasyonu için **eşik değerlerin yeniden tanımlanmasını** da içermelidir.
- İdrar albumin ölçümleri için total hata, bias ve impresizyon değerleri açısından belirlenmiş ortak analitik hedefler yok.
- Bireyiçi biyolojik varyasyon değerleri **%4-103'** e kadar geniş bir aralıktır. Bu nedenle de analitik performans hedeflerini belirlemek zor gözükmektedir.



KDIGO Recommendations for Evaluation of Albuminuria*

General recommendations	
	Use untimed urine specimens for initial assessment
	Use repeat untimed urine specimens or timed urine specimens for confirmatory testing in specific circumstances when single measurements of untimed urine specimens are less accurate
Initial Testing Using Untimed Urine Specimens	
Recommendations to clinicians	<p>Use the following measurements for initial testing of proteinuria (in descending order of preference, in all cases an early morning urine sample is preferred) (2B):</p> <ul style="list-style-type: none"> (1)urine albumin-to-creatinine ratio (ACR); (2)urine protein-to-creatinine ratio (PCR); (3)reagent strip urinalysis for total protein with automated reading; (4)reagent strip urinalysis for total protein with manual reading.
Recommendations to clinical laboratories	<p>Report ACR and PCR in untimed urine samples in addition to albumin concentration or proteinuria concentrations rather than the concentrations alone (1B).</p> <p>The term microalbuminuria should no longer be used by laboratories (Not Graded).</p>
Confirmatory Testing, Using Repeat Measurements of Untimed Urine Specimens or Timed Urine Specimens	
Recommendations to clinicians	<p>Understand clinical settings that may affect interpretation of measurements of albuminuria and order confirmatory tests as indicated (Not Graded). See Table 3.</p> <p>Confirm reagent strip positive albuminuria and proteinuria by quantitative laboratory measurement and express as a ratio to creatinine wherever possible.</p> <p>Confirm ACR ≥ 30 mg/g (≥ 3mg/mmol) on a random untimed urine with a subsequent early morning urine sample.</p> <p>If a more accurate estimate of albuminuria or total proteinuria is required, measure albumin excretion rate or total protein excretion rate in a timed urine sample.</p>
Confirmatory Testing for Non-Albumin Proteinuria	
Recommendations to clinicians	If significant non-albumin proteinuria is suspected, use assays for specific urine proteins (e.g., al-microglobulin, monoclonal heavy or light chains, [known in some countries as “Bence Jones”proteins]) (Not Graded).

* KDIGO recommendations 1.4.4.1-4. From KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. Kidney Int Suppl. 2013 Jan; 3(1): 1-150. Within each recommendation, the strength of recommendation is indicated as Level 1 (“We recommend...”), Level 2 (“We suggest...”), or Not Graded, and the quality of the supporting evidence is shown as A (high), B (moderate), C (low), or D (very low).



Table 1. Current guidelines pertaining to evaluation of albuminuria/proteinuria in different countries around the world.

Aspect of Proteinuria Evaluation	Guideline	Recommendation
Who should be screened for proteinuria?	KCAT ¹⁴	At-risk individuals (diabetic, hypertensive, obese, smoker, Indigenous, family history of CKD, age >50 years).
	CARI ¹⁵	At-risk individuals (diabetic, hypertensive, Indigenous, family history of CKD, known vascular disease).
	RACGP ¹³	At-risk individuals (diabetic, hypertensive, obese, smoker, Indigenous, family history of CKD, age >50 years).
	KDOQI ¹	At-risk individuals.
	NICE ¹⁶	At-risk individuals (diabetes, hypertension, cardiovascular disease, structural renal tract disease, renal calculi, prostatic hypertrophy, multisystem diseases e.g. systemic lupus erythematosus, family history of stage 5 CKD or hereditary kidney disease, opportunistic detection of haematuria).
	SIGN ¹⁷	At-risk individuals (diabetics or non-diabetics with a high prevalence of proteinuria).
	CSN ²⁹	At-risk individuals (diabetes, hypertension, vascular disease, autoimmune disease, estimated glomerular filtration rate <60 mL/min/1.73m ² or oedema).
	ERBP ³⁰	No recommendations.
	KDIGO ¹⁹	At-risk individuals (hypertension, diabetes, cardiovascular disease, family history of CKD, hyperlipidaemia, obesity, metabolic syndrome, smokers, treatment with potentially nephrotoxic drugs, some chronic infectious diseases and cancers, age >60 years).

How often should proteinuria screening be performed?

KCAT ¹⁴	Annually.
CARI ¹⁵	Not specified.
RACGP ¹³	Annually (diabetic) or every 5 years (age >50 years or smoker) or every 3 years (hypertension, obesity, family history of kidney disease, or Indigenous).
KDOQI ¹	Not specified.
NICE ¹⁶	At least annually.
SIGN ¹⁷	Not specified.
CSN ²⁹	Not specified.
ERBP ³⁰	According to available guidelines and the target group to be tested. In absence of specific recommendations, testing need not be more frequent than once per year.





Dipstick versus laboratory?

- KCAT¹⁴ Initial dipstick proteinuria testing for non-diabetics, followed by UPCR if dipstick protein $\geq 1+$. Initial UACR for diabetics.
- CARI¹⁵ Do not use dipstick.
- RACGP¹³ Initial dipstick proteinuria testing for non-diabetics, followed by laboratory quantitation if dipstick protein $\geq 1+$. Initial UACR for diabetics.
- KDOQI¹ If appropriate, should undergo periodic repeat evaluation.
- NICE¹⁶ Do not use dipstick.
- SIGN¹⁷ Dipstick cannot be reliably used in isolation.
- CSN²⁹ Do not use dipstick.
- ERBP³⁰ Not specified.
- KDIGO¹⁹ Favour laboratory measurement.



Which specific laboratory test of albuminuria or proteinuria?

KCAT ¹⁴	PCR for non-diabetics. ACR for diabetics.
CARI ¹⁵	PCR for non-diabetics. ACR for diabetics or high ethnic risk.
RACGP ¹³	Albuminuria for diabetics. No recommendations for non-diabetics.
KDOQI ¹	Albuminuria preferred to proteinuria, except in non-diabetic children.
NICE ¹⁶	Use ACR in preference to PCR for all patients.
SIGN ¹⁷	PCR for non-diabetics. ACR for diabetics.
CSN ²⁹	ACR for diabetics. ACR or PCR for non-diabetics.
ERBP ³⁰	No recommendations.
KDIGO ¹⁹	Albuminuria preferred to proteinuria.



Aspect of Proteinuria Evaluation	Guideline	Recommendation
Timed or 'spot' (single void) urine collection?	KCAT ¹⁴	ACR or PCR on first morning void preferred, but random acceptable.
	CARI ¹⁵	ACR or PCR on first morning void preferred, but random acceptable. Timed required for confirmation and monitoring.
	RACGP ¹³	No recommendation.
	KDOQI ¹	ACR or PCR. First morning specimens preferred, but random acceptable.
	NICE ¹⁶	ACR, preferably on first morning void.
	SIGN ¹⁷	ACR, preferably on first morning void.
	CSN ²⁹	ACR or PCR on random urine.
	ERBP ³⁰	No recommendation.
	KDIGO ¹⁹	ACR on spot urine (no recommendation re first morning void or random).

**Table 2.** Definitions of normal, microalbuminuria and proteinuria, according to different guideline recommendations.

Parameter	Guideline	Normal	Microalbuminuria	Proteinuria (Macroalbuminuria)
Albumin/creatinine ratio (ACR)	Diabetes Management in General Practice ¹¹	0–2.5 mg/mmol (M) 0–3.5 mg/mmol (F)	2.6–25 mg/mmol (M) 3.6–35 mg/mmol (F)	>25 mg/mmol (M) >35 mg/mmol (F)
	KCAT ¹⁴	0–2.6 mg/mmol (M) 0–3.6 mg/mmol (F)	2.6–25 mg/mmol (M) 3.6–35 mg/mmol (F)	>25 mg/mmol (M) >35 mg/mmol (F)
	CARI ¹⁵	≤17 mg/g (≤1.9 mg/mmol) (M) ≤25 mg/g (≤2.8 mg/mmol) (F)	>17–250 mg/g (2.0–28 mg/mmol) (M) ≥25.1–355 mg/g (2.9–40 mg/mmol) (F)	>250 mg/g (>28 mg/mmol) (M) >355 mg/g (>40 mg/mmol) (F)
	RACGP ¹³	<2.5 mg/mmol (M) <3.5 mg/mmol (F)	2.5–25 mg/mmol (M) 3.5–25 mg/mmol (F)	>25 mg/mmol (M) >25 mg/mmol (F)
	National Guide to Preventive Health Assessment in Aboriginal and Torres Strait Islander Peoples ³¹	<2.5 mg/mmol (M) <3.5 mg/mmol (F)	2.5–25 mg/mmol (M) 3.5–25 mg/mmol (F)	>25 mg/mmol
	KDOQI ¹	<25 mg/g (F) <17 mg/g (M)	25–355 mg/g (F) 17–250 mg/g (M)	>355 mg/g (F) >250 mg/g (M)
	NICE ¹⁶	≤3.5 mg/mmol (F) ≤2.5 mg/mmol (M)	>3.5–30 mg/mmol (F) >2.5–30 mg/mmol (M)	>30 mg/mmol
Protein/creatinine ratio (PCR)	K/DOQI ¹	≤200 mg/g	NA	>200 mg/g
	NICE ¹⁶	≤45 mg/mmol	NA	>45 mg/mmol
Urinary albumin excretion (UAE)	Diabetes Management in General Practice ¹¹	<20 µg/min	20–200 µg/min	>200 µg/min
	KDOQI ¹	<30 mg/day	30–300 mg/day	>300 mg/day
Albumin-specific dipstick	CARI ¹⁵	≤3 mg/dL	>3 mg/dL	NA
	KDOQI ¹	≤3 mg/dL	>3 mg/dL	NA
Dipstick protein	CARI ¹⁵	≤30 mg/dL	NA	>30 mg/dL
	KDOQI ¹	≤30 mg/dL	NA	>30 mg/dL
	National Guide to Preventive Health Assessment in Aboriginal and Torres Strait Islander Peoples ³¹	≤30 mg/dL	NA	>30 mg/dL or ≥1+protein
24-hour urinary total protein	CARI ¹⁵	<30 mg/day	30–150 mg/day	150 mg/day
	KDOQI ¹	<300 mg/day	NA	>300 mg/day
	National Guide to Preventive Health Assessment in Aboriginal and Torres Strait Islander Peoples ³¹	<30 mg/day	30–299 mg/day	≥300 mg/day

CARI, Caring for Australasians with Renal Insufficiency; KCAT, Kidney Check Australia Taskforce; KDOQI, Kidney Disease Outcome Quality Initiative; RACGP, Royal Australian College of General Practitioners; F, female; M, male; NA, not available.

Total Protein (İdrar)	Beckman Coulter	Siemens(Advia)	Abbott	Roche (Cobas)
Ölçüm prensibi	Boya Bağlama (Pyrogallol Red Molybdate)	Boya Bağlama (Pyrogallol Red Molybdate)	Turbidimetrik (Benzethonium chloride)	Turbidimetrik (Benzethonium chloride)
Reaksiyon Tipi	End point	End point	End point	End point (2 noktalı)
İzlenebilirlik	Reaktif derecesinde insan serum albumin ile gravimetrik olarak hazırlanmış birincil standarda göre	Yüksek saflıkta materyal kullanılarak yapılmış internal standarda göre	NIST SRM 927c.	NIST'e göre izlenebilir birincil bir standarda göre
LOD	0.007 g/L (7 mg/L)	?	67.5 mg/L (LOQ)	40 mg/L
Analitik Aralık	10-2000 mg/L	10-1250 mg/L	68-2000 mg/L	40-2000 mg/L
Referans Aralığı	50-80 mg/gün (istirahat)	50-80 mg/gün (istirahat)	50-80 mg/gün (istirahat)	140 mg/gün

Albumin (İdrar)	Beckman Coulter	Siemens (Advia)	Abbott	Roche (Cobas)
Ölçüm prensibi	Immuno-Turbidimetrik (keçi kaynaklı antihuman antikor)	Immuno-Turbidimetrik (PEG güçlendirmeli)	Immuno-turbidimetrik(keçi kaynaklı antihuman antikor)	Immuno-Turbidimetrik(Koyun kaynaklı poliklonal antihuman antikor)
Reaksiyon Tipi	End point	End point	End point	End point (2 noktalı)
İzlenebilirlik	Birincil albumin standardına göre	Yüksek saflıkta materyal kullanılarak yapılmış internal standarda göre	CRM470 primer standartı	ERM - DA470k/IFCC'ye göre standardize
LOD	0.46 mg/L	?	1 mg/L	3 mg/L
Analitik Aralık	5 - 300 mg/L	3-(380-420) mg/L (Kalibratör içi alb. konst.' a göre 380 veya 400mg/L)	5 - 500 mg/L	3-400 mg/L (cobas c501/502) 3-200mg/L (cobas c311)
Referans Aralığı	< 30 mg/gün	< 30 mg/gün	< 30 mg/gün	< 30 mg/gün

İleri Araştırma Gerektiren Konular

- Taze idrarda albuminin moleküler formlarının etkisi
- Farklı saklama koşullarında albumin degradasyonu
- İdrar albumin ölçümünde izin verilebilecek Total Hata
- Referans ölçüm metodunun geliştirilmesi
- İdrar albumin ölçümü için referans materyallerin geliştirilmesi
- Kalibrasyon izlenebilirliğinin ayrıntıları, dilüsyon protokolünün standardizasyonu
- Karar limitlerinin tespit edilebileceği klinik çalışmalar için standardize ölçüm metodları
- ACR' nı yaş, cinsiyet ve etnik köken alt gruplarına göre karar limitlerinin belirlenmesi
- Hipertansiyon, diyabet ve Kardiyovasküler hastalık gibi yüksek risk grupları için karar limitlerinin belirlenmesi
- eAER' nın kullanılabilirliğinin belirlenmesi

Aklımızda Kalması Gerekenler



- Mikroalbumin yerine idrar albumin terimi kullanalım
- Ölçümde sabah ilk idrarörneğini ve taze örnek tercih edelim
- Albumin mg/L olarak konsantrasyonunu tek başına raporlamayalım
- ACR ve PCR oranları raporlarımızda yer alsın
- Ortak birim kullanalım

TEŞEKKÜRLER