

Studiul influenței tiocianatului de guanidină asupra conservării parametrilor urinari

BIZĂU GABRIELA, ALEXANDRA
UNIVERSITATEA TEHNICĂ DIN CLUJ-NAPOCA
Facultatea de Științe
Specializarea: chimie medicală III
Email: alexandrabizau1@gmail.com

COORDONATOR: PROF. DR. ING. COZMUȚA ANCA MIHALY

Abstract

Această lucrare investighează efectul tiocianatului de guanidină asupra conservării parametrilor urinari în probe stocate la 25°C și 4°C, cu și fără conservant. Analizele au inclus parametri urinari standard, examinarea microscopică, și măsurarea concentrației creatininei și proteinelor urinare. Rezultatele arată că tiocianatul de guanidină conservă nivelurile parametrilor urinari, în special la 25°C, comparativ cu probele fără conservant. Tiocianatul de guanidină demonstrează astfel eficiență în conservarea probelor urinare în diverse condiții de stocare.

Cuvinte cheie: tiocianat de guanidină, conservare urinară, parametri urinari, spectrofotometrie, analiza proteinelor, creatininei, glucozei.



Introducere

Scopul acestei lucrări este de a evalua efectul conservării cu tiocianat de guanidină asupra parametrilor urinari, prin compararea probelor de urină păstrate cu și fără agent de conservare la diferite temperaturi de depozitare. Conservarea adecvată a probelor de urină este crucială pentru acuratețea analizei clinice, deoarece multe componente urinare sunt susceptibile la degradare [1]. În literatura de specialitate, diverse substanțe conservante au fost testate pentru a prelungi stabilitatea parametrilor urinari. Tiocianatul de guanidină este cunoscut pentru proprietățile sale denaturante și stabilizatoare, fiind utilizat în diverse aplicații biochimice [2]. În această lucrare, evaluăm eficiența tiocianatului de guanidină în conservarea probelor de urină prin monitorizarea unor parametri urinari specifici, folosind metode standardizate și echipamente automate [3].

Echipamente și metode

Pentru a asigura integritatea și fiabilitatea datelor, procedurile de colectare a probelor de urină au respectat cu strictețe normele de igienă și protocoalele standard. Instrucțiunile detaliate au fost furnizate pentru a ghida recoltarea corectă a mostrei, minimizând astfel riscul de contaminare. După ce au fost colectate, eprubetele au fost sigilate și etichetate în mod corespunzător pentru a indica dacă conțin sau nu conservant. Probele au fost codate astfel: C25 – probe de urină depozitate în flacon cu conservant la 25°C; FC25 – probe de urină depozitate în flacon fără conservant la 25°C; C4 – probe de urină depozitate în flacon cu conservant la 4°C; FC4 – probe de urină depozitate în flacon fără conservant la 4°C.

Pentru analiza parametrilor urinari, inclusiv urobilinogenul, glucoza, bilirubina, corpii cetonici, densitatea, hematii, pH-ul, proteinele, nitriții și leucocitele, am utilizat benzi de test Cybow. Aceste benzi au fost introduse în probele de urină conservate la temperaturi de 4°C și 25°C. Apoi, valorile rezultate au fost comparate cu scala de culori standard pentru a determina concentrațiile corespunzătoare ale fiecărui parametru. Acest proces a contribuit la evaluarea precisă a stării urinei în funcție de condițiile de depozitare și de prezența conservantului.

Eficiența și nivelul de automatizare în analiza proteinelor, creatininei și glucozei din urină sunt garantate de echipamentul avansat BIOSYSTEMS BTS-350.

Pentru determinarea creatininei, s-a folosit metoda Jaffé, unde creatinina din probă reacționează cu acidul picric într-un mediu alcalin, formând un complex colorat galben-roșu, a cărui intensitate este evaluată spectrofotometric [4].

Analiza proteinelor urinare s-a bazat pe o reacție în mediu acid între proteinele din urină și pirogalol, rezultând un complex colorat violet, al cărui grad de colorație este direct proporțional cu concentrația de proteine [5].

Determinarea glucozei se bazează pe reacția glucozei din probă cu enzimele glucoxidază și peroxidază, generând un complex colorat, a cărui intensitate este direct proporțională cu concentrația de glucoză. Complexul rezultat este apoi măsurat spectrofotometric pentru a determina concentrația de glucoză în probă [6].

Rezultate experimentale și discuții

Tabelul 1. Rezultatele indicate de stripurile urinare pentru probele păstrate la 25°C

Parametrul analizat	Durata de depozitare							
	0		2h		24h		72h	
	C25	FC25	C25	FC25	C25	FC25	C25	FC25
Leucocite	125++	125++	70+- 125++	> 125++	70+ - 125++	> 125++	70+	> 125++
Nitriți	-	-	-	-	-	++	-	++
Urobilinogen	-	-	-	-	-	-	-	-
Proteine	15 – 30	15 – 30	100++	30+	30+ - 100++	15 – 30+	30+ - 100+	30+
pH	6,80	5,51	6,74	5,49	6,59	5,34	6,30	4,83
Eritrocite	-	-	-	-	-	-	-	-

Densitate, g/cm ³	< 1,30	< 1,30	1,010	1,11	1	<1	1	1
Corpi cetonici	15 – 40	15 – 40	-	-	5 – 15	15 – 40	5 – 15	5 – 15
Bilirubină	-	-	-	-	-	-	-	-

În probele de urină FC 25, observăm o tendință de creștere a concentrației de leucocite în timp, mai ales la intervalele de 24 de ore și 72 de ore. Această creștere este mai pronunțată în cazul nutriției, fiind mai evidentă în probele FC 25.

De asemenea, se constată că concentrația proteinelor crește semnificativ în timp, în special în cazul probelor de tip C 25. Acest fenomen sugerează o posibilă influență a factorilor nutriționali asupra concentrației de proteine în urină.

În ceea ce privește componentele precum urobilinogenul, eritrocitele și rubina, acestea sunt absente în probele analizate. Acest lucru poate fi semnificativ în diagnosticul și evaluarea stării pacientului.

Valorile pH-ului și ale corpurilor cetonice au tendința de a scădea în timp, reflectând posibile schimbări metabolice sau de echilibru acido-bazic în organism.

Densitatea urinei variază în timp, iar aceste variații pot fi importante în interpretarea rezultatelor testelor. Cu toate acestea, în general, densitatea rămâne în limitele normale, sugerând o funcționare adecvată a rinichilor și a sistemului urinar în ansamblu.

Tabelul 2. Rezultatele indicate de stripurile urinare pentru probele păstrate la 4°C

Parametrul analizat	Durata de depozitare						
	0	2h		24h		72h	
	C4, FC4	C4	FC4	C4	FC4	C4	FC4
Leucocite	125++	70+ - 125++	125++	70+ - 125++	125++	70+ - 125++	> 125++
Nitriți	-	-	-	-	-	-	-
Urobilinogen	-	-	-	-	-	-	-
pH	5,42	6,75	5,4	6,8	5,52	-	-
Eritrocite	-	-	-	-	-	-	-
Densitate, g/cm ³	1,015	1,00	1	1	1,05	-	-

Corpi cetonici	15 – 40	-	-	<5	<5	<5	<5
Bilirubină	-	-	-	-	-	-	-
Glucoză	-	-	-	-	-	-	-

În toate intervalele de timp, se observă o creștere a valorilor leucocitelor în urină, sugerând posibilitatea unei infecții urinare. Absența nitriților, urobilinogenului, eritrocitelor, bilirubinei și glucozei indică absența unor potențiale probleme metabolice sau hepatice.

Valorile pH-ului variază, fiind mai mari în probele C4 ^ 2, mai ales până la intervalul de 24 de ore. Densitatea urinei rămâne în limite normale, indicând o funcționare corespunzătoare a rinichilor, cu excepția intervalului de 72 de ore, unde aceasta lipsește.

Concentrația corpurilor cetonice scade sub 5% după două ore și rămâne constantă la intervalele ulterioare, ceea ce poate indica un metabolism adecvat al carbohidraților și lipidelor. Aceste constatări sunt relevante pentru evaluarea stării pacientului și pentru identificarea oricăror afecțiuni urinare sau metabolice.

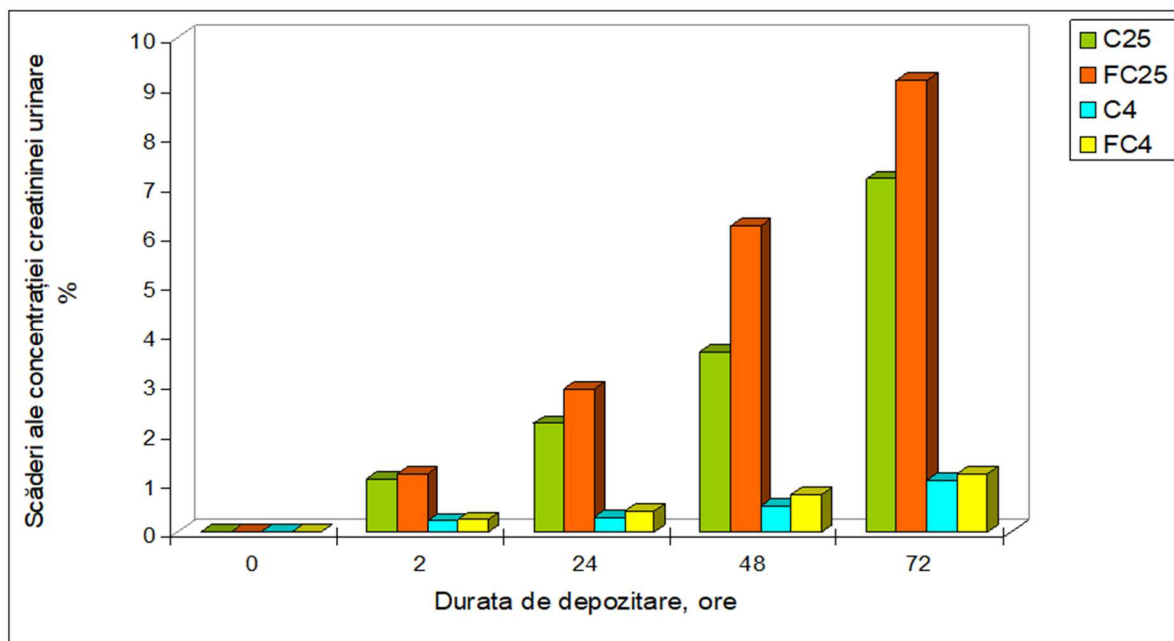


Fig.1. Scăderi ale valorilor creatininei urinare pe durata depozitării probelor

Analiza valorilor creatininei relevă că acestea înregistrează scăderi sub 5% pe durata depozitării la 25°C, indiferent dacă probele de urină sunt stocate în vacutainere cu sau fără conservant. Aceste scăderi sunt influențate de durata și temperatura depozitării, precum și de tipul de vacutainer utilizat. Variațiile înregistrate sunt între 1,01% și 9,14% la 25°C și între 0,22% și 1,19% la 4°C.

În special, se observă că scăderile sunt mai reduse în cazul probelor de urină stocate în vacutainerele cu conservant, indiferent de temperatura la care au fost depozitate. Acest lucru sugerează că prezența conservantului contribuie la încetinirea ritmului de degradare a creatininei în timpul depozitării. De exemplu, după o perioadă de depozitare de 2 ore, se constată că scăderea nivelului de creatinină în probele cu conservant este de 1,09%, comparativ cu 1,19% în probele fără conservant. Același trend este observat și după 72 de ore, unde scăderile sunt de 7,16% în probele cu conservant față de 9,14% în cele fără conservant [7].

Mai mult, este important de remarcat că pierderile mai ridicate înregistrate în probele analizate pot fi explicate prin prezența unei încărcături bacteriene mai mari în urina inițială, lucru care poate conduce la degradarea creatininei. Aceste constatări pun în evidență importanța condițiilor de stocare și a tipului de recipient utilizat în conservarea corectă a probelor de urină destinate analizelor ulterioare.

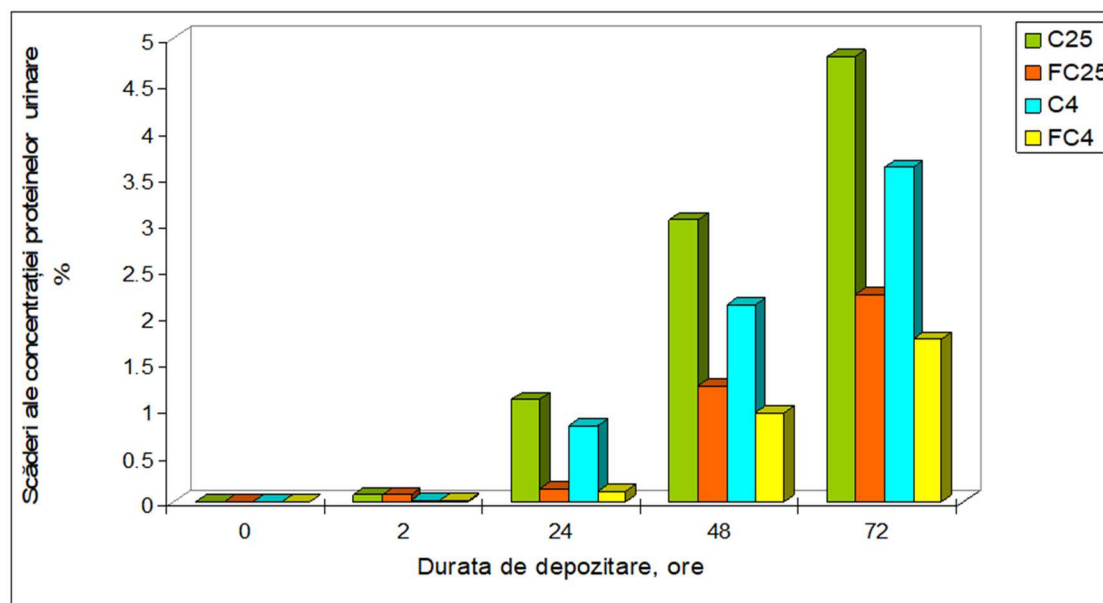


Fig. 2. Scăderi ale valorilor proteinelor urinare pe durata depozitării probelor.

Datele experimentale din Figura 2 evidențiază scăderi ale nivelului de proteine urinare în intervalul cuprins între 0,08% și 4,8% la temperatura de 25°C, și chiar mai reduse, între 0,01% și 3,6%, în cazul probelor depozitate la 4°C.

Nu s-au observat diferențe semnificative între nivelurile proteinelor urinare în primele două ore de depozitare între vacutainerele cu conservant și cele fără conservant. Totuși, diferențele devin notabile după 24 de ore, 48 de ore și 72 de ore de depozitare, prezența conservantului influențând negativ nivelul proteinelor urinare. De exemplu, după 24 de ore de depozitare, scăderile concentrațiilor proteinelor urinare au fost de 0,14% și 1,1% în cazul probelor cu și fără conservant la 25°C, și respectiv 0,11% și 0,82% la 4°C. După 72 de ore de depozitare, reducerea este de 2,24% și 4,8% la 25°C, și 1,75% și 3,6% la 4°C.

Scăderea concentrației proteinelor în urină este determinată de prezența inhibitorilor de protează, cum ar fi uropepsina, care inhibă acțiunea proteazelor ce descompun proteinele. Aceste enzime acționează optim la un pH acid, iar agentul chaotropic, tiocianatul de guanidină, din conservant, perturbă rețeaua de legături de hidrogen dintre moleculele de apă, denaturând proteinele.

În plus, creșterea pH-ului urinei datorată conservantului reduce activitatea enzimelor proteolitice și atenuază degradarea proteinelor urinare.

Scăderi ale nivelului de albumină urinară au fost raportate și de Herrington și colaboratorii săi, menționând temperatura scăzută și prezența agenților de conservare (acid boric, hidroxid de sodiu) ca factori importanți în reducerea vitezei de degradare a acestora pe durata depozitării.

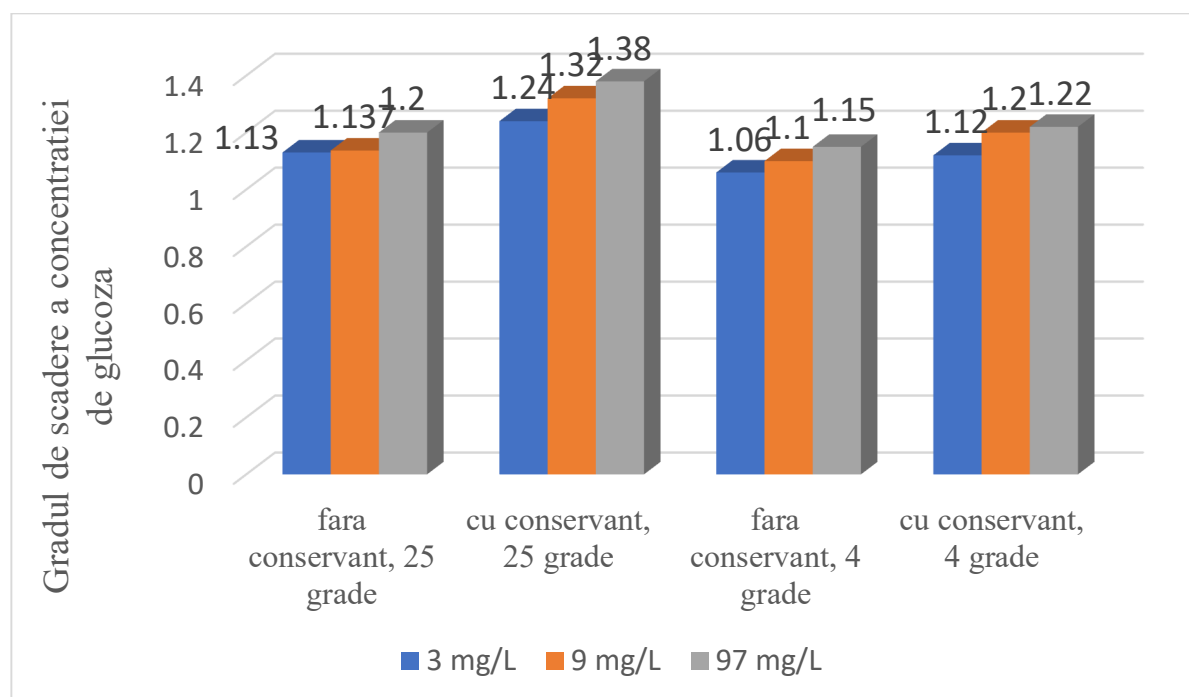


Fig. 3. Gradul de scadere a concentrației de glucoză la depozitare în funcție de concentrația inițială a glucozei, prezența/absența conservantului și temperatură.

Autor Bizău Gabriela Alexandra

Tendința de scădere a concentrației de glucoză în probele cu conservant, în comparație cu cele fără conservant, poate fi explicată printr-o serie de mecanisme posibile. În primul rând, compușii din agentul de conservare al urinei ar putea interacționa cu reactivii utilizați în metoda de analiză. Există ipoteza că tiocianatul de guanidină din conservant ar putea inhiba activitatea gluconoxidazei și/sau peroxidazei, perturbând astfel desfășurarea corectă a reacției de detectare a glucozei. De asemenea, există posibilitatea ca compușii din conservant să favorizeze oxidarea glucozei din proba de urină, conducând la o scădere a concentrației de glucoză detectată.

În lumina rezultatelor experimentale, se poate concluziona că analiza glucozei din probele de urină care conțin conservantul specificat nu este recomandată. Acest lucru se datorează riscului crescut de obținere a unor rezultate fals-negative, ceea ce ar putea afecta interpretarea corectă a stării de sănătate a pacientului. Este important de subliniat că aceste constatări au implicații semnificative în practica medicală, sugerând necesitatea unei atenții sporite în alegerea metodelor de conservare și analiză a probelor de urină pentru diagnosticul și monitorizarea afecțiunilor metabolice și renale.

Concluzii

Rezultatele acestui studiu sugerează că conservarea corectă a probelor de urină este esențială pentru menținerea stabilității parametrilor urinari și pentru asigurarea acurateții analizelor clinice. Câteva idei importante din acest studiu includ:

1. Efectul benefic al conservantului cu tiocianat de guanidină în menținerea stabilității creatininei și a altor parametri urinari în timpul depozitării.
2. Tendința de creștere a concentrației de leucocite în timp, sugerând posibila prezență a unei infecții urinare în probele de urină.

3. Scăderea concentrației proteinelor urinare în timp, influențată de prezența conservantului și de acțiunea inhibitorilor de protează [8]
4. Recomandarea de a evita analiza glucozei în probele de urină conservate cu tiocianat de guanidină, datorită riscului crescut de obținere a unor rezultate fals-negative.

În ansamblu, aceste constatări subliniază importanța alegerii adecvate a metodelor de conservare și analiză a probelor de urină în contextul diagnosticului și monitorizării afecțiunilor metabolice și renale.

Bibliografie

- [1] Giesen C, Lieske J.C. The influence of processing and storage conditions on renal protein biomarkers. *CJASN ePress.*, 2016, doi: 10.2215/CJN.08800816
- [2] Salvi G., De Los Rios P., Vendruscolo M. (2006). Effective interactions between chaotropic agents and proteins. *Proteins*, 61(3), 492-509, doi: 10.1002/prot.20626.
- [3] Herrington W., Illingworth N., Staplin N., Kumar A., Storey B., Hrusecka R., Judge P., Mahmood M., Parish S., Landray M., Haynes R., Baigent C., Hill M., Clark S. Tffect of processing delay and storage conditions on urine albumin-to-creatinine ratio. *CJASN ePress*, 2016, doi: 10.2215/CJN.13341215
- [4] Prospect Biosystems – Creatinină
- [5] Prospect Biosystems – Proteine urinare
- [6] Prospect Biosystems – Glucoza
- [7] Spierto F.V., Hannon W.H., Gunter E.W., Smith S.J. (1997). Stability of urine creatinine. *Clinical Chimica Acta*, 264(2), 227-32. doi: 10.1016/s0009-8981(97)00080-6
- [8] Giesen C, Lieske J.C. The influence of processing and storage conditions on renal protein biomarkers. *CJASN ePress.*, 2016, doi: 10.2215/CJN.08800816