



Microalbúmina

Método inmunoturbidimétrico para la determinación cuantitativa de microalbuminuria

SIGNIFICACION CLINICA

Se denomina microalbuminuria al aumento de excreción urinaria de albúmina por encima de niveles normales pero en ausencia de nefropatía clínica manifiesta. Se define como la excreción de 30 a 300 mg de albúmina en 24 horas (20-200 ug/min) en 2 de 3 recolecciones urinarias realizadas en un período de pocas semanas.

La determinación de microalbúmina (MAIb) es importante en el seguimiento de pacientes diabéticos, ya que permite detectar precozmente a aquellos individuos en riesgo de desarrollar enfermedad renal progresiva permitiendo la aplicación de medidas terapéuticas adecuadas.

Actualmente, se ha reconocido a la microalbuminuria como un factor de riesgo independiente de enfermedad cardiovascular en pacientes con y sin diabetes.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La albúmina reacciona con el anticuerpo específico formando inmunocomplejos insolubles. La turbidez causada por estos inmunocomplejos es proporcional a la concentración de albúmina en la muestra y puede ser medida espectrofotométricamente.

REACTIVOS PROVISTOS

- A. Reactivo A:** solución fisiológica tamponada, pH 7,6.
B. Reactivo B: anticuerpos monoespecíficos (cabra) anti-albúmina humana.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Solución fisiológica.
- **Microalbúmina Calibrador Turbitest AA** de Wiener lab.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro". Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección. Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos. Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

MUESTRA

Orina

a) Recolección: obtener la muestra de la manera usual. Pueden utilizarse tanto la primera orina de la mañana, como orinas de 3, 8, 12 ó 24 horas de recolección. Las muestras no deberán ser recolectadas después de realizar ejercicio, en presencia de infecciones del tracto urinario, durante enfermedad aguda, después de una cirugía o sobrecarga líquida aguda.

b) Aditivos: no se requieren.

c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por creatinina hasta 440 mg/dl, urea hasta 4500 mg/dl, bilirrubina hasta 25 mg/dl (250 mg/l), ácido ascórbico hasta 500 mg/dl e IgG hasta 2300 mg/dl.

No deben emplearse muestras de orina que contengan hemoglobina y/o sangre.

Muestras que evidencian turbidez deberán ser centrifugadas y usar sólo el sobrenadante para realizar el ensayo.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: las muestras pueden conservarse durante 7 días refrigeradas (2-10°C) o 2 meses congelada (a -20°C).

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro
- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados
- Tubos de Kahn o hemólisis
- Baño de agua a 37°C
- Cronómetro

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 340 nm
- Temperatura de reacción: 37°C
- Tiempo de reacción: 10 minutos
- Volumen de muestra: 70 ul
- Volumen final de reacción: 1,27 ml

Los volúmenes de muestra y reactivos pueden variarse proporcionalmente, sin que se alteren los factores de cálculo.

PROCEDIMIENTO

CURVA DE CALIBRACION

En tubos de Kahn, realizar las siguientes diluciones en solución fisiológica de **Microalbúmina Calibrador Turbitest AA:** 1/1; 1/2; 1/4; 1/8 y 1/16, empleando solución fisiológica como punto cero.

VALORES DE REFERENCIA

Excreción urinaria de Albúmina

| mg/24 hs | ug/min | mg/g de Creatinina |
|---------------------|--------|--------------------|
| Normal | < 20 | < 30 |
| Microalbuminuria | 20-200 | 30-300 |
| Albuminuria clínica | > 200 | > 300 |

En general se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia, dentro de su población de pacientes. Los resultados de microalbuminuria deberán ser evaluados en conjunto con la historia clínica del paciente, el examen médico y otros hallazgos de laboratorio.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias Interferentes conocidas en MUESTRA. Se recomienda realizar una recalibración completa, cuando se cambia de lote de reactivo o cuando el control de calidad así lo determina.

Para evitar problemas de prozona en muestras con exceso de antígeno es recomendable que todas las muestras sean ensayadas con tiras reactivas previo al ensayo. Las muestras con un nivel de proteínas superior a 250 mg/l deberán ser diluidas en solución fisiológica para que el nivel medido quede comprendido por el rango de medición.

Para preservar la integridad de los reactivos debe evitarse todo tipo de contaminaciones, empleando para la medición únicamente micropipetas perfectamente limpias y secas.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: se evaluó a través de una modificación del protocolo EP5-A del CLSI. Para ello se procesaron, una muestra control y muestras con distinto nivel de microalbuminuria. Con los datos obtenidos, se calculó la precisión intraensayo y total.

Precisión intraensayo

| | Nivel | D.S. | C.V. |
|--------------|------------|-------------|-------|
| Normal | 6,0 mg/l | ± 0,17 mg/l | 2,8 % |
| Patológico 1 | 30,8 mg/l | ± 0,54 mg/l | 1,8 % |
| Patológico 2 | 165,0 mg/l | ± 0,70 mg/l | 0,4 % |
| MAIb Control | 50,2 mg/l | ± 0,42 mg/l | 0,8 % |

Precisión total

| | Nivel | D.S. | C.V. |
|--------------|------------|-------------|-------|
| Normal | 6,0 mg/l | ± 0,44 mg/l | 7,4 % |
| Patológico 1 | 30,8 mg/l | ± 1,00 mg/l | 3,2 % |
| Patológico 2 | 165,0 mg/l | ± 2,61 mg/l | 1,6 % |
| MAIb Control | 50,2 mg/l | ± 0,82 mg/l | 1,6 % |

b) Límite de detección: es la mínima cantidad del analito capaz de ser detectada como una muestra distinta de cero y corresponde a la concentración 0,7 mg/l de MAIb.

c) Rango de medición: corresponde al intervalo de valores exactamente cuantificables y se extiende de 4 mg/l al último punto de calibración (aproximadamente 250 mg/l).

d) Efecto prozona: no se evidencia efecto prozona hasta 2700 mg/l de MAIb.

| | |
|---|---------|
| Microalbúmina Calibrador diluido | 70 ul |
| Reactivo A | 1000 ul |
| Homogeneizar e incubar 5 minutos a 37°C. Leer la absorbancia de cada dilución a 340 nm (DO ₁) llevando el aparato a cero con agua destilada. Luego agregar: | |
| Reactivo B | 200 ul |
| Homogeneizar. Incubar 5 minutos exactos a 37°C e inmediatamente leer la absorbancia a 340 nm (DO ₂), llevando el aparato a cero con agua destilada. | |
| Calcular la diferencia de absorbancia (ΔA = DO ₂ - DO ₁) para cada dilución del Calibrador, incluyendo el punto cero. | |
| Representar en papel milimetrado las diferencias de absorbancia (ΔA) en función de la concentración en mg/l de Microalbúmina Calibrador. | |
| PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS | |
| En tubos de Kahn debidamente marcados, colocar: | |
| Muestra | 70 ul |
| Reactivo A | 1000 ul |
| Homogeneizar e incubar 5 minutos a 37°C. Leer la absorbancia a 340 nm (DO ₁) llevando el aparato a cero con agua destilada. Luego agregar: | |
| Reactivo B | 200 ul |
| Homogeneizar. Incubar 5 minutos exactos a 37°C e inmediatamente leer la absorbancia a 340 nm (DO ₂), llevando el aparato a cero con agua destilada. | |

CALCULO DE LOS RESULTADOS

1) Calcular la diferencia de absorbancia (ΔA = DO₂ - DO₁) correspondiente a cada muestra analizada. Interpolar esta ΔA en la curva de calibración para determinar la concentración de MAIb (mg/l) correspondiente a la muestra estudiada. Las muestras con absorbancias superiores al último punto de calibración deben ser diluidas (1:2 ó 1:4) con solución fisiológica y procesadas nuevamente. Multiplicar el resultado obtenido por la dilución efectuada.

2) MAIb en orina (mg/24 hs) = MAIb (mg/l) x V

siendo:

V = volumen de la diuresis expresado en litros/24 hs

3) Para evitar la necesidad de cronometrar la recolección de orina se emplea la **Relación MAIb/Creatinina:**

$$\text{MAIb/Creatinina (mg/g)} = 1000 \times \frac{\text{Microalbúmina (mg/l)}}{\text{Creatinina (mg/l)}}$$

Siendo 1000 el factor de conversión de mg a g de Creatinina.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Microalbúmina Control 2 niveles Turbitest AA.

Los Controles son procesados de la misma manera que las muestras.

Estos datos de performance fueron obtenidos empleando analizador automático Konelab 60i, por lo tanto dichos valores pueden variar cuando se emplea otro analizador o técnica manual.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Referirse a las adaptaciones específicas de cada analizador.

PRESENTACION

60 ml: 1 x 50 ml Reactivo A
1 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1513266)

60 ml: 1 x 50 ml Reactivo A
1 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1009338)

60 ml: 1 x 50 ml Reactivo A
1 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1009276)

60 ml: 1 x 50 ml Reactivo A
1 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1009656)

60 ml: 1 x 50 ml Reactivo A
1 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1009966)*

BIBLIOGRAFIA

- Collins, AC. et al. - Diabetología 36/10: 993 (1993).
- Sacks et al. - Clin. Chem. 48: 436 (2002).
- Mogensen, CE - J. Intern. Med. 254: 45 (2003).
- American Diabetes Association: Diabetic Nephropathy. Diabetes Care (Suppl 1) 26: S94 (2003).
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry - Burtis, C.; Ashwood, E. (5° Edition) WB Saunders, 2001.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocol EP5-A, 1999.

SIMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Uso diagnóstico "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos

 Fecha de caducidad

 Límite de temperatura (conservar a)

 No congelar

 Riesgo biológico

 Volumen después de la reconstitución

 Contenido

 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Cáustico

 Irritante

 Consultar instrucciones de uso

 Calibrador

 Control

 Control Positivo

 Control Negativo

 Número de catálogo



Microalbúmina

Método imunoturbidimétrico para a determinação quantitativa de microalbuminúria

SIGNIFICADO CLÍNICO

A microalbuminúria é o aumento de excreção urinária de albumina acima dos níveis normais mas em ausência de nefropatia clínica manifestada. Define-se como a excreção de 30 a 300 mg de albumina em 24 horas (20-200 ug/min) em 2 de 3 coletas urinárias realizadas num período de poucas semanas.

A determinação de microalbumina (MAIb) é importante no seguimento de pacientes diabéticos posto que permite detectar antecipadamente àquelas pessoas com risco de desenvolver doença renal progressiva, permitindo assim a aplicação de medidas terapêuticas apropriadas.

Na atualidade, a microalbuminúria é reconhecida como um fator de risco independente de doença cardiovascular em pacientes com e sem diabetes.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

A albumina reage com o anticorpo específico formando imunocomplexos insolúveis. A turbidez produzida pelos imunocomplexos é proporcional à concentração de albumina na amostra e pode ser lida com espectrofotômetro.

REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: solução fisiológica tamponada, pH 7,6.

B. Reagente B: anticorpos monoespecíficos (cabra) anti-albumina humana.

REAGENTES NÃO FORNECIDOS

- Solução fisiológica.
- **Microalbúmina Calibrador Turbitest AA** da Wiener lab.

INSTRUÇÕES DE USO

Reagentes Fornecidos: prontos para uso.

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Todas as amostras de pacientes devem ser manipuladas como se tratando de material infectante.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Reagentes Fornecidos: estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem. Não congelar.

AMOSTRA

Urina

a) Coleta: obter a amostra da maneira habitual.

Pode-se utilizar tanto a primeira urina da manhã, como urinas de 3, 8, 12 ou 24 horas de coleta.

As amostras não se podem coletar após de realizar exercício físico, em caso de infecção do trato urinário, durante doença aguda, após duma cirurgia ou sobrecarga líquida aguda.

b) Aditivos: não são necessários.

c) Substâncias interferentes conhecidas: não se observam interferências por creatinina até 440 mg/dl, uréia até 4500 mg/dl, bilirrubina até 25 mg/dl (250 mg/l), ácido ascórbico até 500 mg/dl, nem IgG até 2300 mg/dl.

Não se devem utilizar amostras de urina contendo hemoglobina e/ou sangue.

Amostras com turbidez deveram-se centrifugar e só usar o sobrenadante para realizar a prova.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: as amostras podem ser conservadas durante 7 dias sob refrigeração (2-10°C) ou 2 meses congeladas (a -20°C).

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro.
- Cubetas espectrofotométricas de faces paralelas.
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Tubos de Kahn ou hemólise.
- Banho-maria a 37°C.
- Relógio ou timer.

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda: 340 nm
- Temperatura de reação: 37°C
- Tempo de reação: 10 minutos
- Volume de amostra: 70 ul
- Volume final de reação: 1,27 ml

Os volumes de amostra e reagentes podem variar-se proporcionalmente, sem que sejam alterados os fatores de cálculo.

PROCEDIMENTO

CURVA DE CALIBRAÇÃO

Em tubos de Kahn, realizar as seguintes diluições em solução fisiológica do **Microalbúmina Calibrador Turbitest AA:** 1/1; 1/2; 1/4; 1/8 e 1/16 utilizando solução fisiológica como ponto zero.

VALORES DE REFERÊNCIA

Excreção urinária de Albumina

| mg/24 hs | ug/min | mg/g de Creatinina |
|---------------------|--------|--------------------|
| Normal | < 20 | < 30 |
| Microalbuminúria | 20-200 | 30-300 |
| Albuminúria clínica | > 200 | > 300 |

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios intervalos de referência, dentro de sua população de pacientes. Os resultados de microalbuminúria devem ser avaliados em conjunto com a história clínica do paciente, o exame médico e outras características de laboratório.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. Recomenda-se realizar uma re-calibração completa, quando é utilizado outro lote de reagente ou quando seja necessário segundo o controle de qualidade.

Para evitar problemas de prozona em amostras com excesso de antígeno, é recomendável que todas as amostras sejam provadas com tiras reativas prévio ao ensaio. As amostras com níveis de proteínas superiores a 250 mg/l deverão ser diluídas em solução fisiológica a fim de que o nível medido fique dentro da faixa de medição.

A fim de preservar a integridade dos reagentes devem-se evitar as contaminações, utilizando para a medição unicamente micropipetas preferivelmente limpas e secas.

DESEMPENHO

a) Reprodutibilidade: determinou-se através de uma modificação do protocolo EP5-A do CLSI. Processou-se uma amostra controle e amostras com diferentes níveis de microalbuminúria. Com os dados obtidos, calcularam-se as precisões intra-ensaio e total.

Precisão intra-ensaio

| | Nível | D.P. | C.V. |
|--------------|------------|-------------|-------|
| Normal | 6,0 mg/l | ± 0,17 mg/l | 2,8 % |
| Patológico 1 | 30,8 mg/l | ± 0,54 mg/l | 1,8 % |
| Patológico 2 | 165,0 mg/l | ± 0,70 mg/l | 0,4 % |
| MAIb Control | 50,2 mg/l | ± 0,42 mg/l | 0,8 % |

Precisão total

| | Nível | D.P. | C.V. |
|--------------|------------|-------------|-------|
| Normal | 6,0 mg/l | ± 0,44 mg/l | 7,4 % |
| Patológico 1 | 30,8 mg/l | ± 1,00 mg/l | 3,2 % |
| Patológico 2 | 165,0 mg/l | ± 2,61 mg/l | 1,6 % |
| MAIb Control | 50,2 mg/l | ± 0,82 mg/l | 1,6 % |

b) Limite de detecção: é a mínima quantidade do analito capaz de ser detectada como uma amostra distinta de zero. Corresponde à concentração 0,7 mg/l de MAIb.

c) Faixa de medição: corresponde ao intervalo de valores exatamente quantificáveis e compreende desde 4 mg/l até o último ponto de calibração (aproximadamente 250 mg/l).

d) Fenômeno prozona: não é evidente o efeito até 2700 mg/l de MAIb.

| | |
|--|---------|
| Microalbumina Calibrador diluído | 70 ul |
| Reagente A | 1000 ul |
| Homogeneizar e incubar 5 minutos a 37°C. Ler a absorbância de cada diluição a 340 nm (DO ₁) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar: | |
| Reagente B | 200 ul |
| Homogeneizar. Incubar 5 minutos exatos a 37°C e logo após ler a absorbância a 340 nm (DO ₂) zerando o aparelho com água destilada. | |
| Calcular a diferença de absorbância ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) para cada diluição do Calibrador, incluindo o ponto zero. Representar numa folha de papel marcada com milímetros as diferenças de absorbância (ΔA) em função da concentração em mg/l de Microalbumina Calibrador. | |
| PROCEDIMENTO PARA AMOSTRAS | |
| Em tubos de Kahn corretamente marcados, colocar: | |
| Amostra | 70 ul |
| Reagente A | 1000 ul |
| Homogeneizar e incubar 5 minutos a 37°C. Ler a absorbância a 340 nm (DO ₁) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar: | |
| Reagente B | 200 ul |
| Homogeneizar. Incubar 5 minutos exatos a 37°C e logo após ler a absorbância a 340 nm (DO ₂) zerando o aparelho com água destilada. | |

CÁLCULO DOS RESULTADOS

1) Calcular a diferença de absorbância ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) que corresponde a cada amostra analisada. Interpolar os dados (ΔA) na curva de calibração para determinar a concentração em mg/dl (g/l) que corresponde à amostra estudada.

As amostras com absorbância superior à do último ponto de calibração, devem ser diluídas (1:2 ou 1:4) com solução fisiológica e processadas novamente. Multiplicar o resultado obtido pela diluição realizada.

2) MAIb em urina (mg/24 hs) = MAIb (mg/l) x V

sendo:

V = volume da diurese expresso em litros/24 hs

3) Para evitar a necessidade de cronometrar a coleta de urina, utiliza-se a **Relação MAIb/Creatinina:**

$$\text{MAIb/Creatinina (mg/g)} = 1000 \times \frac{\text{Microalbumina (mg/l)}}{\text{Creatinina (mg/l)}}$$

Sendo 1000 o fator de conversão de mg a g de Creatinina.

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Microalbumina Control 2 niveles Turbitest AA.

Os controles são processados da mesma maneira que as amostras.

Os dados de desempenho obtiveram-se empregando analisador automático Konelab 60i, portanto estes valores podem variar cada vez que seja utilizado outro analisador ou técnica manual.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Vide as adaptações específicas para cada tipo de analisador.

APRESENTAÇÃO

60 ml: 1 x 50 ml Reagente A
1 x 10 ml Reagente B
(Cód. 1513266)

60 ml: 1 x 50 ml Reagente A
1 x 10 ml Reagente B
(Cód. 1009338)

60 ml: 1 x 50 ml Reagente A
1 x 10 ml Reagente B
(Cód. 1009276)

60 ml: 1 x 50 ml Reagente A
1 x 10 ml Reagente B
(Cód. 1009656)

60 ml: 1 x 50 ml Reagente A
1 x 10 ml Reagente B
(Cód. 1009966)*

REFERÊNCIAS

- Collins, AC. et al. - Diabetología 36/10: 993 (1993).
- Sacks et al. - Clin. Chem. 48: 436 (2002).
- Mogensen, CE - J. Intern. Med. 254: 45 (2003).
- American Diabetes Association: Diabetic Nephropathy. Diabetes Care (Suppl 1) 26: S94 (2003).
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry - Burtis, C.; Ashwood, E. (5^o Edition) WB Saunders, 2001.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocol EP5-A, 1999.

SÍMBOLOS

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.

 Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado na Comunidade Europeia

 Uso médico-diagnóstico "in vitro"

 Conteúdo suficiente para <n> testes

 Data de validade

 Limite de temperatura (conservar a)

 Não congelar

 Risco biológico

 Volume após a reconstituição

 Conteúdo

 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Caústico

 Irritante

 Consultar as instruções de uso

 Calibrador

 Controle

 Controle Positivo

 Controle Negativo

 Número de catálogo



Microalbúmina

Immunoturbidimetric method for quantitative determination of microalbuminuria

SUMMARY

Microalbuminuria is the urinary albumin excretion increase above normal levels but in the absence of visible clinical nephropathy. It is defined as the excretion from 30 to 300 mg albumin in 24 hours (20-200 µg/min) in 2 out of 3 urinary collections performed in a few weeks period.

Microalbumin determination (MAIb) is an important component in the screening of diabetic patients, since it allows the early detection of those individuals at risk of developing progressive renal disease and the implementation of adequate therapeutic measures.

Currently, microalbumin has been acknowledged as an independent risk factor for cardiovascular disease in patients with and without diabetes.

PRINCIPLE

The albumin reacts to the specific antibody forming insoluble immune complexes. The turbidity caused by these immune complexes is proportional to the albumin concentration in the sample and may be spectrophotometrically measured.

PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: buffered saline solution, pH 7.6.

B. Reagent B: anti-human albumin monospecific antibodies.

NON-PROVIDED REAGENTS

- Saline solution.

- Wiener lab.'s **Microalbúmina Calibrador Turbitest AA**.

INSTRUCTIONS FOR USE

Provided Reagents: ready to use.

WARNINGS

The reagents are for "in vitro" diagnostic use.

All patient samples should be handled as though capable of transmitting infectious diseases.

Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents: stable in refrigerator (2-10°C) until the expiration date shown on the box. Do not freeze.

SAMPLE

Urine

a) Collection: obtain the sample in the usual way. An early

morning urine sample may be used as well as urines 3, 8, 12 or 24 hours after collection. The samples should not be collected after exercise, during urinary tract infections, acute stage diseases, after surgery or acute liquid accumulation.

b) Additives: not required.

c) Known interfering substances: no interferences are observed by creatinine up to 440 mg/dl, urea up to 4500 mg/dl, bilirubin up to 25 mg/dl (250 mg/l), ascorbic acid up to 500 mg/dl nor IgG up to 2300 mg/dl.

Urine samples containing hemoglobin and/or blood should not be used. Samples with visible turbidity should be centrifuged. Use only the supernatant to perform the assay.

See Young, S.D. in references for effect of drugs on the present method.

d) Stability and storage instructions: samples may be stored for 7 days refrigerated (2-10°C) or for 2 months frozen (at -20°C).

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer
- Spectrophotometric square cuvettes
- Micropipettes and pipettes for measuring the stated volumes
- Kahn or hemolysis tubes
- Water bath at 37°C
- Stopwatch

ASSAY CONDITIONS

- Wavelength: 340 nm
- Reaction temperature: 37°C
- Reaction time: 10 minutes
- Sample volume: 70 µl
- Final reaction volume: 1.27 ml

Sample and reagent volumes may be proportionally changed without altering the calculation factors

PROCEDURE

CALIBRATION CURVE

In Kahn tubes, perform the following dilutions in saline solution of **Microalbúmina Calibrador Turbitest AA**: 1/1; 1/2; 1/4; 1/8 and 1/16, using saline solution as zero.

| | |
|---|---------|
| Diluted Microalbúmina Calibrador | 70 µl |
| Reagent A | 1000 µl |

Homogenize and incubate for 5 minutes at 37°C. Read each dilution absorbance at 340 nm (OD₃₄₀) taking the instrument to zero with distilled water. Then add:

| | |
|---|---------|
| Reagent B | 200 ul |
| Homogenize and incubate for exactly 5 minutes at 37°C and immediately read the absorbance at 340 nm (OD ₂) taking the instrument to zero with distilled water. Calculate the difference in absorbance ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) for each Calibrator dilution, including zero. Plot the difference in absorbance (ΔA) in graph paper against Microalbúmina Calibrador concentration in mg/l. | |
| PROCEDURE FOR SAMPLES In duly marked Kahn tubes, place: | |
| Sample | 70 ul |
| Reagent A | 1000 ul |
| Homogenize and incubate for 5 minutes at 37°C. Read the absorbance at 340 nm (OD ₁) taking the instrument to zero with distilled water. Then add: | |
| Reagent B | 200 ul |
| Homogenize and incubate for exactly 5 minutes at 37°C and immediately read the absorbance at 340 nm (OD ₂) taking the instrument to zero with distilled water. | |

CALCULATIONS

1) Calculate the absorbance difference ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) corresponding to each sample assayed. Interpolate this ΔA into the calibration curve to determine the MAIb concentration (mg/l) of the sample under study.

The samples with absorbances that are higher than the last calibration point should be diluted (1:2 ó 1:4) with saline solution and processed one more time. Multiply the obtained result by the dilution performed.

2) MAIb in urine (mg/24 hrs) = MAIb (mg/l) x V

where:

V = diuresis volume expressed in liters/24 hrs

3) To avoid the necessity to time urine collection the **MAIb/Creatinine Ratio** is used:

$$\text{MAIb/Creatinine (mg/g)} = 1000 \times \frac{\text{Microalbumin (mg/l)}}{\text{Creatinine (mg/l)}}$$

Being 1000 the Creatinine conversion factor from mg to g.

QUALITY CONTROL METHOD

Microalbúmina Control 2 niveles Turbitest AA.

The Controls are processed in the same way as the samples.

REFERENCE VALUES

Albumin urinary excretion

| | mg/24 hrs | ug/min | mg/g Creatinine |
|----------------------|-----------|--------|-----------------|
| Normal | < 30 | < 20 | < 30 |
| Microalbuminuria | 30-300 | 20-200 | 30-300 |
| Clinical Albuminuria | > 300 | > 200 | > 300 |

It is recommended that each laboratory establish its own reference intervals, within its patient population. Microalbuminuria should always be reviewed with the patient's medical examinations, history and further laboratory results.

PROCEDURE LIMITATIONS

See Known interfering substances under SAMPLE.

It is recommended to perform a complete recalibration when changing Reagent lot number or when suggested by Quality Control.

To avoid prozone problems in samples with antigen excess it is recommended that all samples be tested with test strips before the assay. The samples with protein levels higher than 250 mg/l should be diluted in saline solution so as to lie in the assay range. Avoid contamination to preserve the integrity of the reagents. Only use thoroughly clean and dry micropipettes for measurements.

PERFORMANCE

a) **Reproducibility:** evaluated by a modification of protocol EP5-A from CLSI. Thus, a control sample and samples with different microalbuminuria levels were tested. The intra-assay and total precision were calculated with the obtained data.

Intra-assay Precision

| | Level | S.D. | C.V. |
|----------------|------------|-------------|-------|
| Normal | 6.0 mg/l | ± 0.17 mg/l | 2.8 % |
| Pathological 1 | 30.8 mg/l | ± 0.54 mg/l | 1.8 % |
| Pathological 2 | 165.0 mg/l | ± 0.70 mg/l | 0.4 % |
| MAIb Control | 50.2 mg/l | ± 0.42 mg/l | 0.8 % |

Total Precision

| | Level | S.D. | C.V. |
|----------------|------------|-------------|-------|
| Normal | 6.0 mg/l | ± 0.44 mg/l | 7.4 % |
| Pathological 1 | 30.8 mg/l | ± 1.00 mg/l | 3.2 % |
| Pathological 2 | 165.0 mg/l | ± 2.61 mg/l | 1.6 % |
| MAIb Control | 50.2 mg/l | ± 0.82 mg/l | 1.6 % |

b) **Detection limit:** is the minimum analyte amount capable of being detected as a sample, different than zero, and corresponds to the concentration of 0.7 mg/l MAIb.

c) **Assay range:** corresponds to the exactly quantifiable interval of values and ranges from 4 mg/l to the last calibration point (250 mg/l approximately).

d) **Prozone effect:** not noted until 2700 mg/l MAIb.

The performance results were obtained using Konelab 60i autoanalyzer. Therefore, such values may differ whenever another autoanalyzer or manual technique is used.

PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

Refer to the applications that are specific for each autoanalyzer.

WIENER LAB PROVIDES

60 ml: 1 x 50 ml Reagent A
1 x 10 ml Reagent B
(Cat. N° 1513266)

60 ml: 1 x 50 ml Reagent A
1 x 10 ml Reagent B
(Cat. N° 1009338)

60 ml: 1 x 50 ml Reagent A
1 x 10 ml Reagent B
(Cat. N° 1009276)

60 ml: 1 x 50 ml Reagent A
1 x 10 ml Reagent B
(Cat. N° 1009656)

60 ml: 1 x 50 ml Reagent A
1 x 10 ml Reagent B
(Cat. N° 1009966)*

REFERENCES

- Collins, AC. et al. - Diabetología 36/10: 993 (1993).
- Sacks et al. - Clin. Chem. 48: 436 (2002).
- Mogensen, CE - J. Intern. Med. 254: 45 (2003).
- American Diabetes Association: Diabetic Nephropathy. Diabetes Care (Suppl 1) 26: S94 (2003).
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry - Burtis, C.; Ashwood, E. (5° Edition) WB Saunders, 2001.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocol EP5-A, 1999.

SYMBOLS

The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits.

 This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices

 Authorized representative in the European Community

 "In vitro" diagnostic medical device

 Contains sufficient for <n> tests

 Use by

 Temperature limitation (store at)

 Do not freeze

 Biological risks

 Volume after reconstitution

 Contents

 Batch code

 Manufactured by:

 Harmful

 Corrosive / Caustic

 Irritant

 Consult instructions for use

 Calibrator

 Control

 Positive Control

 Negative Control

 Catalog number



Microalbúmina

Nr kat. 1513266 Nr kat. 1009656
 Nr kat. 1009338 Nr kat. 1009966
 Nr kat. 1009276

Immunoturbidymetryczna metoda ilościowego oznaczania
 mikroalbuminurii

WSTĘP

Mikroalbuminuria to wydzielanie albuminy z moczem powyżej prawidłowego poziomu ale bez obecności klinicznej nefropatii.

Z definicji jest to wydzielanie od 30 do 300 mg albuminy w ciągu 24 godzin (20-200 ug/min) w co najmniej 2 z 3 zbiórek moczu wykonanych w ciągu kilku tygodni.

Oznaczenie mikroalbuminurii (Microalbumin determination - MAIb) jest ważnym badaniem przesiewowym pacjentów z cukrzycą i pozwala na wczesne wykrycie pacjentów z ryzykiem rozwoju postępującej przewlekłej choroby nerek oraz zastosowanie właściwego postępowania terapeutycznego. Obecnie mikroalbuminy uznaje się za niezależny czynnik ryzyka chorób sercowo-naczyniowych u pacjentów z cukrzycą i bez cukrzycy.

ZASADA DZIAŁANIA

Albumina reaguje ze specyficznym przeciwciałem tworzącym nierozpuszczalny kompleks immunologiczny. Zmętnienie spowodowane obecnością immunokompleksów jest proporcjonalne do stężenia albuminy w materiale badanym i może zostać mierzone spektrofotometrycznie.

DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: buforowany roztwór soli fizjologicznej, pH 7,6.

B. Odczynnik B: monospecyficzne przeciwciała przeciwko ludzkiej albuminie.

NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

- Roztwór soli fizjologicznej.

- **Microalbúmina Calibrador Turbitest AA** Wiener lab.

INSTRUKCJA UŻYCIA

Dostarczane odczynniki: gotowe do użycia.

OSTRZEŻENIA

Odczynniki diagnostyczne do zastosowania "in vitro".

Każdy materiał badany pobrany od pacjentów powinien być traktowany jako potencjalnie zakaźny.

Stosować odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych.

Odczynniki i materiał badany odrzucać zgodnie z lokalnymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczane odczynniki: trwałe w lodówce (2-10°C) do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu. Nie zamrażać.

MATERIAŁ BADANY

Mocz

a) Pobranie: pobrać materiał badany w klasyczny sposób. Do badania można wykorzystać zarówno mocz wczesnoporanny jak i zbiórkę 3, 8, 12 lub 24 godzinną. Próbkę moczu nie powinna być pobrana po wysiłku, w trakcie infekcji dróg moczowych, ostrej fazy chorób, po zabiegach chirurgicznych i w przewodnieniu organizmu.

b) Substancje dodatkowe: nie wymagane.

c) Znane interakcje: nie obserwowano żadnych interakcji z kreatyniną do 440 mg/dl, mocznikiem do 4500 mg/dl, bilirubiną do 25 mg/dl (250 mg/l), kwasem askorbinowym do 500 mg/dl oraz z IgG do 2300 mg/dl.

Próbki moczu zawierające hemoglobinę i/lub krew nie powinny być użyte; próbki ze zmętnieniem należy odwirować, używać tylko nadsącz do badania.

Zobacz źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie.

d) Trwałość i instrukcja przechowywania: materiał badany może być przechowywany przez 7 dni w lodówce (2-10°C) lub przez 2 miesiące zamrożony (-20°C).

WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczane)

- Spektrofotometr.
- Kwadratowe kuwety spektrofotometryczne.
- Mikropipety i pipety do pomiaru określonej objętości.
- Probówki Kahna lub do hemolizy.
- Łażnia wodna o temp. 37°C.
- Stoper.

WARUNKI DLA PRZEPROWADZENIA TESTU

- Długość fali: 340 nm.
- Temperatura reakcji: 37°C.
- Czas reakcji: 10 minut.
- Objętość materiału badanego: 70 ul
- Objętość reakcji końcowej: 1,27 ml
- Objętości próbki i odczynnika mogą być zmieniane proporcjonalnie bez zmiany współczynnika do obliczeń.

PROCEDURA

KRZYWA KALIBRACJI

W próbkach Kahna wykonać następujące rozcieńczenia Microalbúmina Calibrador Turbitest AA: 1/1; 1/2; 1/4; 1/8 i 1/16 solą fizjologiczną, używając roztworu soli jako zero.

Rozcieńczony Microalbúmina Calibrador

70 ul

| | |
|---|---------|
| Odczynnik A | 1000 ul |
| Homogenizować i inkubować przez 5 minut w temp. 37°C. Odczytać absorbancję dla każdego rozcieńczenia przy 340 nm (OD ₁) ustawiając aparat na zero na wodzie destylowanej. Następnie dodać: | |
| Odczynnik B | 200 ul |
| Homogenizować i inkubować dokładnie przez 5 minut w temp. 37°C i natychmiast odczytać absorbancję przy 340 nm (OD ₂) ustawiając aparat na zero na wodzie destylowanej. | |
| Obliczyć różnicę absorbancji ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) dla każdego rozcieńczenia Kalibratora, włącznie z zerowym. Narysować wykres różnicy absorbancji (ΔA) na papierze milimetrowym względem stężenia Microalbumina Kalibratora w mg/l. | |
| PROCEDURA DLA MATERIAŁU BADANEGO | |
| W prawidłowo oznaczonych probówkach Kahna umieścić: | |
| Materiał badany | 70 ul |
| Odczynnik A | 1000 ul |
| Homogenizować i inkubować przez 5 minut w temp. 37°C. Odczytać absorbancję przy 340 nm (OD ₁) ustawiając aparat na zero na wodzie destylowanej. Następnie dodać: | |
| Odczynnik B | 200 ul |
| Homogenizować i inkubować dokładnie przez 5 minut w temp. 37°C i natychmiast odczytać absorbancję przy odczytać absorbancję przy 340 nm (OD ₂) ustawiając aparat na zero na wodzie destylowanej. | |

OBLICZENIA

1) Obliczyć różnicę absorbancji ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) odpowiadającą każdej badanej próbce. Interpolować wyliczoną ΔA na krzywą kalibracji i oznaczyć stężenie MAIb (mg/l) w badanej próbce.

Materiał badany, którego absorbancja wynosi powyżej najwyższego punktu krzywej kalibracji powinien być rozcieńczony (1:2 lub 1:4) solą fizjologiczną i przebadany ponownie. Pomnożyć otrzymane wyniki przez współczynnik wykonanego rozcieńczenia.

2) MAIb w moczu (mg/24 godz.) = MAIb (mg/l) x V

gdzie:

V = objętość diurezy wyrażona w litrach/24 godz.

3) Celem uniknięcia oczekiwania na zbiórkę moczu używa się stosunku MAIb/Kreatynina:

$$\text{MAIb/Kreatynina (mg/g)} = 1000 \times \frac{\text{Mikroalbumina (mg/l)}}{\text{Kreatynina (mg/l)}}$$

gdzie 1000 to współczynnik konwersji kreatyniny mg na g.

METODA KONTROLI JAKOŚCI

Microalbumina Control 2 niveles Turbitest AA Wiener lab.

Próby kontrolne poddać tej samej procedurze jak materiał badany.

WARTOŚCI REFERENCYJNE

Wydzielanie albuminy z moczem

| | mg/24 godz. | ug/min | mg/g kreatynina |
|-----------------------|-------------|--------|-----------------|
| Normal | < 30 | < 20 | < 30 |
| Mikroalbuminuria | 30-300 | 20-200 | 30-300 |
| Kliniczna albuminuria | > 300 | > 200 | > 300 |

Zaleca się dla każdego laboratorium wykonanie własnych zakresów referencyjnych dla własnej populacji pacjentów. Mikroalbuminuria zawsze stanowi wskazanie do badania lekarskiego i dalszych badań laboratoryjnych.

OGRANICZENIA PROCEDURY

Zobacz znane interakcje w rozdziale MATERIAŁ BADANY. Zaleca się wykonanie pełnej kalibracji przy zmianie serii odczynnika lub ze wskazań działu kontroli jakości.

Celem uniknięcia prozyna, zahamowania reakcji serologicznej wskutek nadmiaru w próbce antygeny zaleca się aby wszystkie próbki przed badaniem zostały sprawdzone paskiem testowym. Materiał badany z białkiem powyżej 250 mg/l należy rozcieńczyć solą fizjologiczną aby nie fałszować zakresu badania. Unikać zanieczyszczenia aby zachować czystość odczynników. Stosować wyłącznie zupełnie czyste i suche mikropipety.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) Powtarzalność: dokonano oceny wg zmodyfikowanego protokołu EP5-A z CLSI. Zostały przebadane próby kontrolne i materiał od pacjentów z różnym poziomem mikroalbuminurii. Obliczono precyzję w trakcie badania i całkowitą na podstawie otrzymanych danych.

Precyzja w trakcie badania

| | Poziom | S.D. | C.V. |
|----------------------|------------|-------------|-------|
| Prawidłowy | 6,0 mg/l | ± 0,17 mg/l | 2,8 % |
| Patologiczny 1 | 30,8 mg/l | ± 0,54 mg/l | 1,8 % |
| Patologiczny 2 | 165,0 mg/l | ± 0,70 mg/l | 0,4 % |
| Próba kontrolna MAIb | 50,2 mg/l | ± 0,42 mg/l | 0,8 % |

Precyzja całkowita

| | Poziom | S.D. | C.V. |
|----------------------|------------|-------------|-------|
| Prawidłowy | 6,0 mg/l | ± 0,44 mg/l | 7,4 % |
| Patologiczny 1 | 30,8 mg/l | ± 1,00 mg/l | 3,2 % |
| Patologiczny 2 | 165,0 mg/l | ± 2,61 mg/l | 1,6 % |
| Próba kontrolna MAIb | 50,2 mg/l | ± 0,82 mg/l | 1,6 % |

b) Granica wykrywalności: najmniejsza wykrywalna ilość substratu w badanej próbce różna od zero odpowiada stężeniu 0,7 mg/l MAIb.

c) Zakres badania: odpowiada dokładnie ilościowemu przedziałowi wartości i zakresowi od 4 mg/l do ostatniego punktu kalibracji (250 mg/l około).

d) Efekt prozyna: nie obserwowano do 2700 mg/l MAIb.

Wyniki wydajności testu otrzymano przy użyciu analizatora automatycznego Konelab 60i. Przy zastosowaniu innych analizatorów automatycznych lub metody manualnej.

PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Należy zapoznać się z instrukcją oprogramowania danego analizatora automatycznego.

WIENER LAB. DOSTARCZA

60 ml: 1 x 50 ml Odczynnik A
1 x 10 ml Odczynnik B
(Nr kat. 1513266)

60 ml: 1 x 50 ml Odczynnik A
1 x 10 ml Odczynnik B
(Nr kat. 1009338)

60 ml: 1 x 50 ml Odczynnik A
1 x 10 ml Odczynnik B
(Nr kat. 1009276)

60 ml: 1 x 50 ml Odczynnik A
1 x 10 ml Odczynnik B
(Nr kat. 1009656)

60 ml: 1 x 50 ml Odczynnik A
1 x 10 ml Odczynnik B
(Nr kat. 1009966)

ŹRÓDŁA

- Collins, AC. et al. - Diabetologia 36/10: 993 (1993).
- Sacks et al. - Clin. Chem. 48: 436 (2002).
- Mogensen, CE - J. Intern. Med. 254: 45 (2003).
- American Diabetes Association: Diabetic Nephropathy. Diabetes Care (Suppl 1) 26: S94 (2003).
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry - Burtis, C.; Ashwood, E. (5th Edition) WB Saunders, 2001.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocol EP5-A, 1999.

Oznaczenia

Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.

 Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Użyć przed

 Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 Nie zamrażać

 Ryzyko biologiczne

 Objętość po rozpuszczeniu

 Zawartość

 numer serii

 Wytwórca

 Substancja szkodliwa

 Substancja żrąca

 Substancja drażniąca

 Przed użyciem zapoznać się z instrukcją

 Kalibrator

 Próba kontrolna

 Próba kontrolna dodatnia

 Próba kontrolna ujemna

 Numer katalogowy

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-16



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina