

 IMMULITE[®]
2000

Albumin

DPC[®]

IMMULITE[®] 2000 Albumin

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE 2000 Analyzer — for the detection and quantitation of microalbuminuria, that is, concentrations of albumin in human urine not detectable by conventional dipstick methods. It is intended for use as an aid in monitoring the development of incipient diabetic nephropathy.

Catalog Number: L2KHA2 (200 tests), **L2KHA6** (600 tests)

Test Code: **ALB** Color: **Brown**

CDC Analyte Identifier Code: 4019
CDC Test System Identifier Code: 10418
CLIA Complexity Category: Moderate

Summary and Explanation

Microalbuminuria is a condition characterized by increased urinary excretion of albumin in the absence of overt nephropathy.^{9,10,21} Conventional dipstick and acid precipitation tests for detecting protein in urine lack the sensitivity required to delineate this condition. Dip-sticks may yield negative or trace results even when the albumin excretion rate is 10 or 20 times normal; and the rate must increase to 200 or 300 micrograms per minute ($\mu\text{g}/\text{min}$) before nephropathy becomes clinically apparent as persistent proteinuria.^{14,21} Published studies based on highly sensitive immunoassays for albumin have established the upper limit of normal for adults as approximately 12 or 15 $\mu\text{g}/\text{min}$; accordingly, investigators have typically fixed upon a range extending from 15 or 30 $\mu\text{g}/\text{min}$ to about 150 $\mu\text{g}/\text{min}$ as an operational definition of microalbuminuria.^{11,12,20}

Measurement of urinary albumin has been used in conjunction with other assays to help localize the site of renal impairment. Thus, elevated urinary albumin levels are to be expected when the glomerular filtration process is overactive; impaired tubular resorption, on the other hand, leads to increased urinary levels of smaller molecules like β_2 -microglobulin.¹⁶

A variety of factors other than glomerular integrity — notably exercise — may have an influence on reference ranges for urinary albumin. Some reports indicate that ranges based on overnight specimens are lower than ranges based on daytime or 24-hour specimens.^{2,6,17} It is tempting to explain this in terms of differences in posture and activity which the collection times entail. But other studies have demonstrated that exercise, within limits, has no significant effect on the albumin excretion rate in healthy adults.^{1,7,15}

This does not hold true for individuals with diabetes or essential hypertension.^{1,8,13,15,18,24} Although newly diagnosed diabetics may have baseline levels within the reference range, their urinary albumin levels are likely to show an increased responsiveness to exercise, a responsiveness which can be eliminated in the short term by careful metabolic control.^{4,5,19,25}

Interest in measuring subclinical elevations in the albumin excretion rate has focused on individuals with an already established diagnosis of diabetes or essential hypertension.³ Providing proper care is taken to minimize the influence of exercise and poor metabolic control on the albumin excretion rate, the urinary albumin level has proved to be an excellent predictor of progression to overt nephropathy in both insulin-dependent and non-insulin-dependent diabetes.^{11,12,14,20,23} Thus, according to the literature, it is very unlikely that a diabetic with a resting level of less than 15 $\mu\text{g}/\text{min}$ will progress within a decade to overt clinical nephropathy; whereas diabetics who have resting albumin levels greater than 15 $\mu\text{g}/\text{min}$ even while in good metabolic control can be expected to show yearly increases of (on average) 25 $\mu\text{g}/\text{min}$.¹²

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Albumin is a solid-phase, competitive chemiluminescent enzyme immunoassay.

Incubation Cycles: 1 × 30 minutes.

Specimen Collection

Collect a timed 3-hour, overnight or 24-hour urine sample — without preservative — recording the time, duration and total volume of the collection. Mix well and retain an aliquot for analysis. Samples should not be acidified.

The urine should be cleared by filtration or centrifugation before use. (Bloody specimens are unsuitable for use.) Remove the supernatant urine from the sediment and mix by *gentle* swirling or inversion. Use disposable-tip pipets.

Volume Required: 25 μ L urine.

Storage: 14 days at 2–8°C²⁸
Do *not* freeze.^{27,28}

Before assay, allow the samples to come to room temperature (15–28°C). Samples which are cloudy or have particulate material should be clarified by low-speed centrifugation.

Dilution of High Samples: All samples expected to have levels above the assay's calibration range should be diluted on-board.

Consult the Summary and Explanation section and the References for information regarding the effect of exercise and other factors on urinary albumin determinations.

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.

Reagents: Store at 2–8°C. Dispose of in accordance with applicable laws.

Follow universal precautions, and handle all components as if capable of transmitting infectious agents. Source materials derived from human blood were tested and found nonreactive for syphilis; for antibodies to HIV 1 and 2; for hepatitis B surface antigen; and for antibodies to hepatitis C.

Sodium azide, at concentrations less than 0.1 g/dL, has been added as a preservative. On disposal, flush with large volumes of water to prevent the buildup of potentially explosive metal azides in lead and copper plumbing.

Chemiluminescent Substrate: Avoid contamination and exposure to direct sunlight. (See insert.)

Water: Use distilled or deionized water.

Materials Supplied

Components are a matched set. Labels on the inside box are needed for the assay.

Albumin Bead Pack (L2HA12)

With barcode. 200 beads, coated with monoclonal murine anti-HSA (human serum albumin). Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KHA2: 1 pack. **L2KHA6:** 3 packs.

Albumin Reagent Wedge (L2HAA2)

With barcode. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to HSA (human serum albumin) in buffer. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KHA2: 1 wedge. **L2KHA6:** 3 wedges.

Before use, tear off the top of the label at the perforations, without damaging the barcode. Remove the foil seal from the top of wedge; snap the sliding cover down into the ramps on the reagent lid.

Albumin Adjustors (LHAL, LHAH)

Two vials (Low and High) of lyophilized albumin in a protein/buffer matrix, with preservative. At least 30 minutes before use: Reconstitute each vial with **2.0 mL** distilled or deionized water. Mix by gentle swirling or inversion until the lyophilized material is fully dissolved. Stable at 2–8°C for 30 days after reconstitution, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

L2KHA2: 1 set. **L2KHA6:** 2 sets.

Before making an adjustment, place the appropriate Aliquot Labels (supplied with the kit) on test tubes so that the barcodes can be read by the on-board reader.

Kit Components Supplied Separately

Multi-Diluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

For on-board dilution of high samples.

One vial, concentrated (ready-to-use), nonhuman protein/buffer matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by

the on-board reader.
L2M2Z: 3 labels **L2M2Z4:** 5 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate

L2PWSM: Probe Wash

L2KPM: Probe Cleaning Kit

LRXT: Reaction Tubes (disposable)

L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes
(16 × 100 mm)

L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

LHACM: Bi-level, protein-based albumin control.

Also Required

Distilled or deionized water; test tubes; controls.

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE 2000 Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval:
2 weeks.

Quality Control Samples: Use controls or sample pools with at least two levels (low and high) of albumin.

Expected Values

Results for albumin are usually reported as excretion rates, in micrograms of albumin per minute ($\mu\text{g}/\text{min}$). This is obtained by multiplying the concentration in $\mu\text{g}/\text{mL}$ by the total volume of the urine collection (in milliliters) and then dividing by the duration of the collection (in minutes).

Based on its relationship to DPC's IMMULITE Albumin (and DPC's Double Antibody Albumin), IMMULITE 2000 Albumin can be expected to have essentially the same reference range limits for urine samples, expressed as micrograms of albumin excreted per minute ($\mu\text{g}/\text{min}$):

nondetectable to 18 $\mu\text{g}/\text{min}$,

with a median of approximately 6 $\mu\text{g}/\text{min}$.

A total of 55 timed, 3-hour morning urine samples were collected from healthy laboratory volunteers at two separate laboratories and assayed by the DPC's

Double Antibody Albumin kit. 95% had excretion rates of less than 13 $\mu\text{g}/\text{min}$. 24-hour as well as 3-hour specimens were collected from the 20 volunteers at one of the two laboratories. 90% of the results fell below 11.5 and 12.5 $\mu\text{g}/\text{min}$ for the 24-hour and 3-hour specimens, respectively.

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitations

There are other potential causes of microalbuminuria besides incipient diabetic nephropathy. Consideration must be given to exercise, poor diabetic control and nondiabetic renal or systemic diseases, including hypertension. Urinary tract infections and congestive heart disease are also possible causes of subclinical elevations in the albumin excretion rate.

Samples with a pH less than 4 or greater than 8 may yield results which are respectively too high or too low. Acidified samples are accordingly unsuitable for use.

The test should not be performed if the sample exhibits significant bacterial growth or if the patient shows signs of a urinary tract infection.

Bloody specimens are unsuitable for use, even if cleared by centrifugation, since blood is a likely sign of contamination — e.g. from menstrual flow — and albumin circulates in plasma at levels approximately 4,000 times those normally encountered in urine.

Performance Data

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in $\mu\text{g}/\text{mL}$. (Unless otherwise noted, all results were generated on urine samples.)

Calibration Range: 2.5 – 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Analytical Sensitivity: 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Precision: Samples were assayed in duplicate over the course of 20 days, two runs per day, for a total of 40 runs and 80 replicates. (See "Precision" table.)

Linearity: Samples were assayed under various dilutions. (See "Linearity" table for representative data.)

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with three albumin solutions (100, 200 and 400 µg/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for human albumin. (See "Specificity" table.)

Method Comparison: The assay was compared to DPC's IMMULITE Albumin on 117 urine samples (Concentration range: approximately 2.5 to 60 µg/mL. See graph.) By linear regression:

$$(IML\ 2000) = 1.08 (IML) - 1.4\ \mu\text{g/mL}$$
$$r = 0.988$$

Means:

19.6 µg/mL (IMMULITE 2000)

19.4 µg/mL (IMMULITE)

References

1) Dahlquist G, et al. Effect of metabolic control and duration on exercise-induced albuminuria in diabetic teenagers. *Acta Paediatr Scand* 1983;72:895-902. 2) Davies AG, et al. Urinary albumin excretion in school children. *Arch Dis Child* 1984;59:625-30. 3) Hostetter TH. Diabetic nephropathy. *New Engl J Med* 1985;312:642-4. 4) Kroc Collaborative Study Group. Blood glucose control and the evolution of diabetic retinopathy and albuminuria; a preliminary multicenter trial. *New Engl J Med* 1984;311:365-72. 5) Microalbuminuria and renal hyperfiltration. In: Gambino R, editor. *Lab Report for Physicians* 1984; 6(8): 57-61. 6) Mogensen CE. Urinary albumin excretion in early and long-term juvenile diabetes. *Scand J Clin Lab Invest* 1971;28:183-93. 7) Mogensen CE, Vittinghus E, Sølling K. Abnormal albumin excretion after two provocative renal tests in diabetes: physical exercise and lysine injection. *Kidney Int* 1979;16:385-93. 8) Mogensen CE. Antihypertensive treatment inhibiting the progression of diabetic nephropathy. *Acta Endocrinol* 1980;94 (suppl. 238):103-11. 9) Mogensen CE, et al. Early changes in kidney function, blood pressure and the stages in diabetic nephropathy. In: Keen H, Legrain M, editors. *Prevention and treatment of diabetic nephropathy*. Boston: MTP Press, 1983: 57-83, 99-105. 10) Mogensen CE, Christensen CK, Vittinghus E. The stages in diabetic renal disease, with emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes* 1983;32 (Suppl. 2):64-78. 11) Mogensen CE. Microalbuminuria predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity-onset diabetes. *New Engl J Med* 1984;310:356-60. 12) Mogensen CE, Christensen CK. Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent

patients. *New Engl J Med* 1984;311:89-93. 13) Mohamed A, et al. Response of urinary albumin to submaximal exercise in newly diagnosed non-insulin dependent diabetes. *Br Med J* 1984;288:1342-3. 14) Parving H-H, et al. Early detection of patients at risk of developing diabetic nephropathy; a longitudinal study of urinary albumin excretion. *Acta Endocrinol* 1982;100:550-5. 15) Pedersen EB, Mogensen CE, Larsen JS. Effects of exercise on urinary excretion of albumin and β₂-microglobulin in young patients with mild essential hypertension without treatment and during long-term propranolol treatment. *Scand J Clin Lab Invest* 1981;41:493-8. 16) Ratge D, Wissner H. Urinary protein profiling by high performance gel permeation chromatography. *J Chromatogr* 1982;230:47-56. 17) Rowe DJF, et al. Effect of glycaemic control and duration of disease on overnight albumin excretion in diabetic children. *Br Med J* 1984;289:957-9. 18) Viberti GC, et al. Increased glomerular permeability to albumin induced by exercise in diabetic subjects. *Diabetologia* 1978;14:293-300. 19) Viberti GC, et al. Effect of control of blood glucose on urinary excretion of albumin and β₂-microglobulin in insulin-dependent diabetes. *New Engl J Med* 1979;300:638-41. 20) Viberti GC, et al. Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1982;(26 Jun):1430-2. See also *ibid* 1982;ii(7 Aug):330, 1982;ii(30 Oct):985, 1982;ii(18 Dec):1407 and 1983;ii(12 Feb):352. 21) Viberti GC, et al. Proteinuria in diabetes mellitus: role of spontaneous and experimental variation of glycemia. *Kidney Int* 1982;21:714-20. 22) Viberti GC, Mogensen CE, et al. Urinary excretion of albumin in normal man: the effect on water loading. *Scand J Clin Lab Invest* 1982;42:147-51. 23) Viberti GC, et al. Long term correction of hyperglycemia and progression of renal failure in insulin dependent diabetes. *Br Med J* 1983;286:598-602. 24) Vittinghus E, Mogensen CE. Graded exercise and protein excretion in diabetic man and the effect of insulin treatment. *Kidney Int* 1982;21:725-9. 25) Wiseman MJ, et al. Effect of blood glucose control on increased glomerular filtration rate and kidney size in insulin-dependent diabetes. *New Engl J Med* 1985;312:617-21. 26) Rosenstock J, Raskin P. Early diabetic nephropathy: assessment and potential therapeutic interventions. *Diabetes Care* 1986;9:529-45. 27) Erving LD, et al. Screening of microalbuminuria in patients with diabetes mellitus: frozen storage of urine samples decreases their albumin content. *Clin Chem* 1989;35(2):308-10. 28) Osberg I, et al. Effects of storage time and temperature on measurement of small concentrations of albumin in urine. *Clin Chem* 1990;36(8):1428-30.

Technical Assistance

In the United States, contact DPC's Technical Services department.

Tel: 800.372.1782 or 973.927.2828
 Fax: 973.927.4101. Outside the United States, contact your National Distributor.

Manufactured by EURO/DPC Ltd. under a Quality System registered to ISO 13485:2003.

Tables and Graphs

Precision (µg/mL)

	Mean ³	Within-Run ¹		Total ²	
		SD ⁴	CV ⁵	SD	CV
1	7.6	0.52	6.8%	0.55	7.2%
2	15.6	1.01	6.5%	1.16	7.4%
3	18.2	1.05	5.8%	1.81	9.9%
4	35.1	2.61	7.4%	3.32	9.5%
5	43.5	3.58	8.2%	4.08	9.4%

Linearity (µg/mL)

	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	8 in 8	8.21	—	—
	4 in 8	4.22	4.11	103%
	2 in 8	2.25	2.05	110%
	1 in 8	1.08	1.03	105%
2	8 in 8	15.0	—	—
	4 in 8	7.38	7.48	99%
	2 in 8	3.53	3.74	94%
	1 in 8	2.12	1.87	113%
3	8 in 8	21.5	—	—
	4 in 8	11.9	10.8	110%
	2 in 8	5.87	5.38	109%
	1 in 8	2.23	2.69	83%
4	8 in 8	23.5	—	—
	4 in 8	11.9	11.7	102%
	2 in 8	5.95	5.88	101%
	1 in 8	2.51	2.94	85%
5	8 in 8	33.8	—	—
	4 in 8	19.1	16.9	113%
	2 in 8	9.90	8.45	117%
	1 in 8	4.45	4.23	105%
6	8 in 8	38.9	—	—
	4 in 8	20.7	19.4	107%
	2 in 8	10.4	9.72	107%
	1 in 8	5.09	4.86	105%

Recovery (µg/mL)

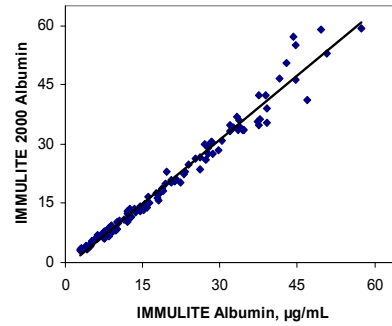
	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	11.1	—	—
	A	16.8	15.5	108%
	B	23.0	20.5	112%
	C	28.3	30.5	93%
2	—	12.2	—	—
	A	17.5	16.6	105%
	B	23.1	21.6	107%
	C	32.3	31.6	102%
3	—	32.4	—	—
	A	39.1	35.8	109%
	B	39.9	40.8	98%
	C	47.5	50.8	94%
4	—	34.0	—	—
	A	35.8	37.3	96%
	B	39.5	42.3	93%
	C	54.3	52.3	104%

Specificity

Compound ¹	µg/mL Added ²	% Cross-reactivity ³
Alpha-fetoprotein	20	0.9%
Apotransferrin	100	ND
Urea	625	ND
Human IgG	500	ND
Creatinine	2,500	ND
Bovine serum albumin	10,000	ND
Transferrin	100	ND
Conjugated Bilirubin	50	ND
	20	ND
	10	ND
Gentamycin sulfate	120	ND
Glucose	5,000	ND

ND: not detectable.⁴

Method Comparison



$$(IML\ 2000) = 1.08 (IML) - 1.4\ \mu\text{g/mL}$$

$$r = 0.988$$

Deutsch. Precision: ¹Intra-Assay, ²Gesamt, ³Mittelwert, ⁴SD (Standardbereich), ⁵CV (Variationskoeffizient). **Linearity:** ¹Verdünnung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E, ⁵4 in 4. **Recovery:** ¹Lösung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E. **Specificity:** ¹Verbindung, ²zugewetzte Menge, ³% Kreuzreaktivität, ⁴NN: Nicht nachweisbar. **Method Comparison:** Albumin: Albumin.

Español. Precision: ¹Intraensayo, ²Total, ³Media, ⁴DS, ⁵CV. **Linearity:** ¹Dilución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵4 en 4. **Recovery:** ¹Solución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. **Specificity:** ¹Compuesto, ²Cantidad añadida, ³% Reacción cruzada, ⁴ND: no detectable. **Method Comparison:** Albumin: Albúmina.

Français. Precision: ¹Intraessai, ²Total, ³Moyenne, ⁴SD, ⁵CV. **Linearity:** ¹Dilution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A, ⁵4 dans 4. **Recovery:** ¹Solution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A. **Specificity:** ¹Composé, ²ajouté, ³Réaction croisée, ⁴ND: non détectable. **Method Comparison:** Albumin: Albumine.

Italiano. Precision: ¹Intra-serie, ²Totale, ³Media, ⁴SD (Deviazione Standard), ⁵CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity:** ¹Diluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A, ⁵4 in 4. **Recovery:** ¹Soluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A. **Specificity:** ¹Composto, ²quantità aggiunta, ³Percentuale di Crossreattività, ⁴ND: non determinabile. **Method Comparison:** Albumin: Albumina.

Português. Precisão: ¹Intra-série, ²Total, ³Média, ⁴Desvio padrão, ⁵Coefficiente de variação. **Linearidade:** ¹Diluição, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵4 em 4. **Recuperação:** ¹Solução, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. **Especificidade:** ¹Composto, ²Quantidade adicionada, ³Percentagem de reatividade cruzada, ⁴ND: não detectável. **Comparação de Métodos:** Albumina: Albumina.

Deutsch

IMMULITE 2000 Albumin

Anwendung: Zur *in vitro* Diagnostik unter Verwendung des IMMULITE 2000 Systems – zur Detektion der Microalbuminurie, d.h. von Albumin-Konzentrationen im humanen Urin, die durch konventionelle Schnelltests (Dipstick) nicht detektiert werden können. Als Hilfe beim Monitoring der Entwicklung einer beginnenden diabetischen Nephropathie.

Artikelnummern: L2KHA2 (200 Tests), L2KHA6 (600 Tests)

Testcode: **ALB** Farbe: **braun**

Klinische Relevanz

Als Mikroalbuminurie bezeichnet man eine erhöhte Albumin-Ausscheidung im Urin ohne Anzeichen für eine Nierenerkrankung.^{9,10,21} Konventionelle Methoden zum Nachweis von Albumin im Urin auf der Basis von Teststreifen oder Säure-präzipitationstests sind infolge ihrer geringeren Sensitivität nicht dazu geeignet, diesen Zustand zu erfassen. So können Teststreifen selbst bei einer 10- bis 20-fach erhöhten Albumin-Ausscheidungsrate zu negativen Ergebnissen führen. Bevor eine Nierenerkrankung als persistierende Proteinurie klinisch in Erscheinung tritt, muss die Ausscheidungsrate 200–300 g/min erreichen.^{14,21} Studien zur Albumin-Ausscheidungsrate, die mit hochempfindlichen Tests durchgeführt wurden, ergaben eine obere Grenze von 12–15 µg/min. Als Mikroalbuminurie wird entsprechend eine Ausscheidungsrate von 15 bzw. 30 µg/min bis ca. 150 µg/min definiert.^{11,12,20}

Die Messung von Albumin im Urin dient als zusätzlicher Parameter, um den Bereich der Nierenfunktionsstörung zu lokalisieren. Erhöhte Urin-Albumin-Werte sind zu erwarten, wenn der glomeruläre Filtrationsprozess hyperaktiv ist. Gestörte tubuläre Resorption hingegen führt zu erhöhten Urinspiegeln kleinerer Moleküle, wie z.B. β_2 -Mikroglobulin.¹⁶

Auch andere Faktoren, insbesondere körperliche Belastung, können bei

normaler Nierenfunktion Einfluss auf die Albumin-Ausscheidung im Urin haben. Über Nacht gesammelte Proben zeigen teilweise niedrigere Werte als Tages- oder 24 h-Urin.^{2,6,17} Dieses könnte aufgrund verschiedener Körperhaltungen und Aktivitäten während der Sammelzeit erklärt werden.^{1,7,15}

Dies gilt nicht für Personen mit Diabetes oder essentieller Hypertonie.^{1,8,13,15,18,24} Obwohl es vorkommt, dass frisch diagnostizierte Diabetiker Albumin-Urinspiegeln im Normalbereich zeigen, führen körperliche Belastungen bei ihnen zu einer erhöhten Albumin-Ausscheidungsrate.^{4,5,19,25}

Von besonderem Interesse ist die Bestimmung einer subklinischen Erhöhung der Albuminausscheidung bei Patienten mit der Diagnose Diabetes oder Hypertonie.³ Vorausgesetzt dass der Einfluss von körperlicher Aktivität und schlechter metabolischer Einstellung bei Diabetikern auf die Albuminausscheidung minimiert ist, ermöglicht der Albumin-Urinspiegel eine exzellente Vorhersage für den Verlauf der Nephropathie bei Insulin-abhängigem und Nicht-Insulin-abhängigem Diabetes.^{11,12,14,20,23} In Übereinstimmung mit der Literatur ist es sehr unwahrscheinlich, dass Diabetiker mit einem Ruhewert unter 15 µg/min in den nächsten 10 Jahre eine klinisch manifeste Nierenerkrankung erleiden; dagegen müssen Diabetiker mit einem Ruhewert von mehr als 15 µg/min auch bei guter metabolischer Kontrolle voraussichtlich mit einem durchschnittlichen Anstieg von 25 µg/min pro Jahr rechnen.¹²

Methodik

Der Albumin – IMMULITE 2000-Test ist ein kompetitiver Festphasen-, Chemilumineszenz-Immunoassay.

Inkubationszyklen: 1 × 30 min.

Probengewinnung

Die Urinproben sollten in einem 3-Stunden Intervall, über Nacht oder als 24 Stunden Urin ohne Konservierungsstoffe gewonnen werden. Dabei ist es wichtig, den Zeitraum und das Gesamtvolumen zu dokumentieren. Gut durchmischen und in Aliquots bis zur Messung aufbewahren. Die Proben dürfen nicht angesäuert werden.

Der Urin sollte vor dem Einsatz in dem Assay durch Filtration oder Zentrifugation geklärt werden. (Mit Blut kontaminierte Proben sind nicht geeignet.) Den Überstand vom Sediment trennen und den Urin durch sanftes Drehen oder Umdrehen der Probe vorsichtig mischen. Einmalpipetten verwenden.

Erforderliche Menge: 25 µl Urin.

Lagerung: 14 Tage bei 2–8°C.²⁸ Nicht einfrieren!^{27,28}

Proben vor der Bestimmung stehen lassen, bis sie Raumtemperatur (15–28°C) erreicht haben. Trübe oder partikelhaltige Proben sollten bei niedriger Geschwindigkeit zentrifugiert werden, bis sie klar sind.

Verdünnen bei hohen Konzentrationen:

Alle Proben, bei denen mit über dem Messbereich des Assay liegenden Konzentrationen zu rechnen ist, sollten on-board verdünnt werden.

In den Abschnitten „Klinische Relevanz“ und „Referenzwerte“ finden sich Angaben zum Einfluss von körperlicher Aktivität und von anderen Faktoren auf die Bestimmungen des Urin-Albumins.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In-vitro*-Diagnostik.

Reagenzien: Bei 2–8 °C lagern. Die Entsorgung muss nach den jeweils gültigen Gesetzen erfolgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (<0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu vermeiden, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Chemilumineszenz-Substrat:
Kontamination und direkte

Sonneneinstrahlung vermeiden. Siehe Packungsbeilage.

Wasser: Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser benutzen.

Im Lieferumfang enthalten

Die Bestandteile sind aufeinander abgestimmt. Die Aufkleber auf der Innenverpackung werden zur Testdurchführung gebraucht.

Albumin Kugel-Container (L2HA12)

Barcodiert. 200 Kugeln, beschichtet mit monoklonalem Maus-Anti-HSA (Human-Serum Albumin). Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.

L2KHA2: 1 Container.

L2KHA6: 3 Container.

Albumin Reagenzbehälter (L2HAA2)

Barcodiert. 11,5 ml alkalische Phosphatase (Kalb) konjugiert mit HSA (Human-Serum Albumin) in Puffer. Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.

L2KHA2: 1 Behälter.

L2KHA6: 3 Behälter.

Vor Gebrauch den Aufkleber an der Perforation abreißen, ohne dabei die Barcodierung zu beschädigen. Die Folie von der Oberseite des Containers entfernen. Die Folie von der Oberseite des Containers entfernen. Den Schiebedeckel nach unten in die Führung des Reagenziendeckels einrasten lassen.

Albumin Kalibratoren (LHAL, LHAH)

Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit lyophilisiertem Albumin in einer Protein-Puffermatrix (mit Konservierungsmittel). Mindestens 30 Min. vor dem Gebrauch die Fläschchen mit je **2,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Zum Mischen leicht schwenken oder umdrehen, bis das lyophilisierte Material vollständig aufgelöst ist. Nach Rekonstituierung 30 Tage bei 2–8°C, sonst 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.

L2KHA2: 1 Set. **L2KHA6:** 2 Set.

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Glasröhrchen kleben, so dass die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

Multidiluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Zur on-board Verdünnung von Proben hoher Konzentration. Eine Flasche mit einem gebrauchsfertigen Konzentrat aus einer nichthumanen Protein/ Puffer-Matrix versetzt mit Konservierungsmittel.

30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).

L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.

L2M2Z: 3 Etiketten **L2M2Z4:** 5 Etiketten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substrat

L2PWSM: Waschmodul

L2KPM: Reinigungsmodul

LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße

L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung

L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

LHACM: Albumin-Kontrollmodul (2 Konzentrationen).

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser;
Teströhrchen; Kontrollen.

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im IMMULITE 2000-Handbuch beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Hinweise zur Vorbereitung, täglichen Inbetriebnahme des Systems, der Kalibrierung sowie Verfahren zur Test- und Qualitätskontrolle entnehmen Sie bitte dem IMMULITE 2000-Handbuch.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
2 Wochen.

Qualitätskontrollproben:

Kontrollen oder Sammelharn mit Albumin in mindestens zwei Konzentrationen (niedrig und hoch) verwenden.

Referenzwerte

Die Albuminergebnisse werden normalerweise in µg/min angegeben. Dazu wird die Albuminkonzentration in µg/ml mit dem Gesamtvolumen der gesammelten Urinmenge (in ml) multipliziert und durch den Zeitraum über dem der Urin gesammelt wurde (in min) dividiert.

Aufgrund der guten Korrelation zum IMMULITE Albumin Assay der DPC (und dem Doppelantikörper-Albumin von DPC), können für den IMMULITE 2000 Albumin Assay die selben Referenzbereiche für Urinproben erwartet werden, ausgedrückt als pro Minute ausgeschiedenes Albumin in Mikrogramm (µg/min):

nicht nachweisbar – 18 µg/min

Der Median liegt bei ca. 6 µg/min.

Insgesamt wurden zu standardisierten Zeiten 3-Stunden Morgenerine von 55 gesunden Labormitarbeitern aus zwei Laboratorien gesammelt und mit dem Double Antibody Albumin Assay bestimmt. Bei 95% der Probanden lag die Exkretionsrate unter 13 µg/min. Sowohl 24-Stunden- als auch 3-Stunden-Proben wurden von 20 Freiwilligen in einem Labor gesammelt. Bei den 24h-Proben lagen 90% der Werte unterhalb von 11,5 und bei den 3-Stunden-Proben unterhalb von 12,5 µg/min.

Diese Grenzwerte sind *lediglich als Richtlinien* aufzufassen. Jedes Labor sollte seine eigenen Referenzbereiche etablieren.

Grenzen der Methode

Es gibt auch andere mögliche Ursachen für eine Microalbuminurie neben einer beginnenden diabetischen Nephropathie. Körperliche Aktivität, inadäquate metabolische Einstellung von Diabetikern, nichtdiabetische renale oder systemische Erkrankungen sowie Hypertonie kommen hierfür in Betracht. Infektionen des Urogenitaltraktes und kongestive Herzerkrankungen sind ebenfalls mögliche Ursachen für subklinische Erhöhungen der Albumin-Ausscheidungsrate.

Proben mit einem pH unter 4 oder über 8 können zu Ergebnissen führen, die zu hoch oder zu niedrig sind. Angesäuerte Proben sind nicht geeignet.

Die Bestimmung sollte nicht durchgeführt werden, wenn die Probe signifikantes bakterielles Wachstum zeigt oder wenn der Patient Zeichen einer Infektion des Urogenitaltraktes aufweist.

Mit Blut kontaminierte Proben -z.B. durch Menstruationsblut- sind auch nach Zentrifugation nicht geeignet, da die Konzentration des Albumins im Plasma 4 000 mal höher ist als im Urin.

Leistungsdaten

Siehe Tabellen und Grafiken mit *repräsentativen* Daten für den Assay. Die Ergebnisse sind als µg/ml ausgedrückt. (Alle Daten wurden – sofern nicht anders angegeben – anhand von Urinproben gewonnen.)

Messbereich: 2,5 – 60 µg/ml

Analytische Sensitivität: 1,0 µg/ml

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen). (Siehe Tabelle „Precision“.)

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Linearity“.)

Wiederfindung: Proben wurden mit drei Albumin-Lösungen (100, 200 und 400 µg/ml) im Verhältnis von 1:19 versetzt. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

Spezifität: Hochspezifischer human albumin-Antikörper. (siehe Tabelle „Specificity“.)

Methodenvergleich: Der Assay wurde anhand von 117 Urinproben mit dem IMMULITE Albumin-Assay der DPC verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 2,5 to 60 µg/ml. Siehe Grafik.)
Berechnung der linearen Regression:

(IML 2000) = 1,08 (IML) – 1,4 µg/ml
r = 0,988

Mittelwerte:
19,6 µg/ml (IMMULITE 2000)
19,4 µg/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre DPC Niederlassung.

Hergestellt von Euro/DPC Ltd. unter dem Qualitätssystem ISO 13485:2003.

Español

IMMULITE 2000 Albúmina

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico in Vitro con el Analizador IMMULITE 2000 — para la detección y cuantificación de la microalbuminuria, es decir, las concentraciones de albúmina en la orina humana que no son detectables con tiras reactivas. El ensayo se utiliza como una ayuda para monitorear el desarrollo de la nefropatía diabética incipiente.

Referencia: L2KHA2 (200 tests), L2KHA6 (600 tests)

Código del Test: **ALB**

Código de Color: **Marrón**

Resumen y Explicación del Test

La microalbuminuria es una condición que se caracteriza por una mayor excreción urinaria de albúmina en ausencia de una nefropatía declarada.^{9,10,21} Los ensayos convencionales de tiras reactivas y de precipitación ácida, utilizados para detectar proteína en orina, carecen de la sensibilidad necesaria para delinear esta condición. Las tiras reactivas pueden producir resultados negativos o trazas, incluso cuando la tasa de excreción de albúmina es 10 o 20 veces mayor de lo normal, y la tasa debe aumentar a 200 o 300 microgramos por minuto (µg/min) antes de que la nefropatía se haga clínicamente aparente como una proteinuria persistente.^{14,21} Estudios publicados que se basan en inmunoensayos altamente sensibles para albúmina, han establecido el límite superior normal para las personas adultas en aproximadamente 12 o 15 µg/min; consiguientemente, los investigadores típicamente han fijado un intervalo de 15 o 30 µg/min hasta aproximadamente 150 µg/min como una definición operativa de la microalbuminuria.^{11,12,20}

La medición de la albuminuria se ha utilizado en conjunto con otros ensayos para ayudar a localizar la deficiencia renal. Por lo tanto, cuando el proceso de filtrado glomerular es hiperactivo, es de esperarse que existan niveles elevados de albúmina en orina; por el contrario, la resorción tubular deficiente lleva a mayores niveles de pequeñas moléculas como la microglobulina β_2 en orina.¹⁶

Una variedad de factores distintos a la integridad glomerular- en particular el ejercicio- pueden influenciar los intervalos de referencia para la albúmina en orina. Algunos informes indican que los intervalos que se basan en muestras tomadas después de la noche son más bajos que los intervalos basados en muestras tomadas durante el día o de 24 horas.^{2,6,17} Es tentador explicar este fenómeno en términos de las diferencias en postura y actividad implicados en los horarios en que se recogen las muestras. Pero otros estudios han demostrado que el ejercicio, dentro de ciertos límites, no tiene un efecto significativo sobre la tasa de excreción de albúmina en los adultos sanos.^{1,7,15}

Esto no se cumple en los individuos diabéticos o con hipertensión esencial.^{1,8,13,15,18,24} Sin bien las personas recientemente diagnosticadas con diabetes pueden tener niveles de base dentro del intervalo de referencia, sus niveles de albúmina en orina posiblemente muestren una respuesta incrementada al ejercicio, respuesta que puede eliminarse en un corto plazo mediante un control metabólico cuidadoso.^{4,5,19,25}

El interés en medir los incrementos subclínicos de la tasa de excreción de albúmina se ha concentrado en las personas que presentan un diagnóstico establecido de diabetes o hipertensión esencial.³ Si se toma el cuidado apropiado para minimizar la influencia del ejercicio y de un control metabólico deficiente sobre la tasa de excreción de albúmina, el nivel de albúmina en orina ha demostrado ser una excelente forma para pronosticar la progresión hacia una nefropatía declarada, tanto en la diabetes insulina dependiente como en la diabetes que no depende de la insulina.^{11,12,14,20,23} Por consiguiente, de acuerdo con la literatura, es muy improbable que una persona

diabética que tiene un nivel en reposo menor de 15 $\mu\text{g}/\text{min}$ progresará dentro de una década a una nefropatía clínica declarada; mientras que puede esperarse que los diabéticos con niveles de albúmina en reposo mayores de 15 $\mu\text{g}/\text{min}$, incluso bajo buen control metabólico, pueden mostrar incrementos anuales de 25 $\mu\text{g}/\text{min}$ (promedio).¹²

Principio del análisis

El IMMULITE 2000 Albúmina es un inmunoensayo enzimático quimioluminiscente competitivo en fase sólida.

Ciclos de incubación: 1 × 30 minutos.

Recogida de la muestra

Recoger una muestra de orina de 3 horas, primer orina de la mañana o de 24 horas — registrando la hora, la duración y el volumen total recogido. Mezclar bien y guardar en alícuotas para su análisis. No se deberá acidificar las muestras.

La orina deberá aclararse por filtración o centrifugación antes de usarse. (Las muestras que contienen sangre no son adecuadas para el test). Remover la orina sobrenadante del sedimento y mezclar por agitación o inversión suave. Usar puntas de pipetas desechables.

Volumen requerido: 25 μl orina.

Conservación: 14 días a 2–8°C.²⁸ No congelar.^{27,28}

Antes del ensayo, espere que las muestras se pongan a temperatura (15–28°C) Las muestras que estén turbias o tengan un material particular deben aclararse mediante una centrifugación a baja velocidad.

Dilución de muestras con niveles elevados:

Todas las muestras que se prevea vayan a tener niveles que estén por encima del intervalo de calibración del ensayo deberán diluirse en el equipo automáticamente.

Consultar la sección de Resumen y Explicación y la Bibliografía para información sobre el efecto del ejercicio y de otros factores sobre las determinaciones de albúmina en orina.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Reactivos: Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo con las normas aplicables.

Siga las precauciones universales y manipule todos los componentes como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Los materiales derivados de sangre humana han sido analizados y son negativos para sífilis; para anticuerpos frente al HIV 1 y 2; para el antígeno de superficie de hepatitis B y para los anticuerpos de hepatitis C.

Se ha usado Azida sodica, en concentraciones menores de 0,1 g/dl, como conservante. Para su eliminación, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitución de residuos de azidas metálicas, potencialmente explosivas, en las cañerías de cobre y plomo.

Sustrato quimioluminiscente: Evite la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Use agua destilada o desionizada.

Materiales suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Cartucho de Bolas de Albumina (L2HA12)

Con código de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpo monoclonal de ratón anti-HSA (albúmina sérica humana). Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KHA2: 1 cartucho.

L2KHA6: 3 cartuchos.

Vial de reactivo de Albúmina (L2HAA2)

Con código de barras. 11.5 ml de fosfatasa alcalina (intestino de ternera) conjugada a HSA (albúmina sérica humana) en solución tampón. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KHA2: 1 vial. **L2KHA6:** 3 viales.

Antes de usar, cortar la parte superior de la etiqueta en la perforación, sin dañar el código de barras. Quitar el precinto del orificio del vial; encajar la cubierta deslizante en las rampas de la tapa del reactivo.

Ajustadores de Albúmina (LHAL, LHAH)

Dos viales (bajo y alto) de albúmina liofilizada en una matriz proteica en solución tampón, con conservante. 30 minutos, como mínimo, antes de su uso: Reconstituya cada vial con **2,0 ml** de agua destilada o desionizada. Mezcle por agitación o inversión suave hasta que se haya disuelto completamente el material liofilizado. Estable a 2–8°C durante 30 días después de la reconstitución, o hasta 6 meses (alícuotados) a –20°C. **L2KHA2:** 1 juego. **L2KHA6:** 2 juegos.

Antes de hacer un ajuste, colocar las etiquetas a las alícuotas apropiadas (suministradas con el kit) sobre tubos de ensayo, de forma tal que los códigos de barras puedan ser leídos por el lector.

Componentes del kit que se suministran por separado

Multidiluyente 2 (L2M2Z L2M2Z4)

Para la dilución en el equipo de las muestras de pacientes. Un vial de un concentrado listo para su uso de una matriz proteica no humana con conservantes. Estable a 2–8°C durante 30 días una vez abierto, o durante 6 meses (alícuotado) a –20°C.

L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Se suministran etiquetas con códigos de barras para usarse con este diluyente. Antes de uso, colocar la etiqueta con el código de barras en un tubo de ensayo de 16 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.

L2M2Z: 3 etiquetas **L2M2Z4:** 5 etiquetas

L2SUBM: Substrato quimioluminiscente

L2PWSM: Lavado de sonda

L2KPM: Kit de limpieza de sonda

LRXT: Tubos de reacción (desechables)

L2ZT: 250 Tubos De Prueba Del Diluyente De la Muestra (16 × 100 mm)

L2ZC: 250 Casquillos Del Tubo Del Diluyente De la Muestra

LHACM: Control de dos niveles de albúmina de base proteica.

También necesarios

Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles.

Ensayo

Aviso: para obtener el funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el manual del operador de IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del operador de IMMULITE 2000 para: la preparación, instalación, dilución, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado: 2 semanas.

Muestras de Control de Calidad: Utilizar controles o pools de orina con al menos dos niveles diferentes de albúmina (bajo y alto).

Valores esperados

Los resultados para la albúmina generalmente se informan como tasa de excreción en microgramos de albúmina por minuto ($\mu\text{g}/\text{min}$). Esto se obtiene multiplicando la concentración en $\mu\text{g}/\text{ml}$ por el volumen total de orina recolectado (en mililitros), y luego dividiendo por la duración de la recolección (en minutos).

Basado en su relación con el kit de IMMULITE para albúmina de DPC (y doble anticuerpo para albúmina de DPC), puede esperarse que el ensayo para albúmina IMMULITE 2000 tenga aproximadamente los mismos límites de referencia para las muestras de orina, expresados en microgramos de albúmina excretada por minuto ($\mu\text{g}/\text{min}$):

desde no detectable a $18 \mu\text{g}/\text{min}$,

con una mediana de aproximadamente $6 \mu\text{g}/\text{min}$.

En dos laboratorios distintos, se recolectaron 55 muestras de orina de 3 horas del personal de laboratorio sano y voluntario. Las muestras se analizaron mediante el kit de doble anticuerpo para albúmina. El 95% tuvieron tasas de excreción menores de $13 \mu\text{g}/\text{min}$. Las muestras de 24 horas y las de 3 horas fueron tomadas de 20 voluntarios en uno de los laboratorios. El 90% de los resultados cayeron por debajo de los $11,5$ y $12,5 \mu\text{g}/\text{min}$ para las muestras de 24 horas y 3 horas respectivamente.

Estos límites han de considerarse *sólo como una guía*. Cada laboratorio deberá

establecer sus propios intervalos de referencia.

Limitaciones

Además de la nefropatía diabética incipiente existen otras causas potenciales para la microalbuminuria. Es necesario tener en cuenta el ejercicio, el control diabético deficiente y las enfermedades no diabéticas o sistémicas, incluyendo la hipertensión. Las infecciones del tracto urinario y la enfermedad cardíaca congestiva también son causas posibles del incremento subclínico de la tasa de excreción de albúmina.

Las muestras con pH menor de 4 o mayor de 8 pueden dar resultados demasiado altos o demasiado bajos respectivamente. Las muestras acidificadas no son adecuadas para el test.

No se deberá realizar el ensayo si la muestra presenta un crecimiento bacteriano importante o si el paciente muestra signos de infección del tracto urinario.

Las muestras con sangre no son adecuadas para el test, aun cuando se aclaran por centrifugación, ya que la sangre es un probable signo de contaminación — p. ej. del flujo menstrual — y la albúmina circula en el plasma a niveles que son aproximadamente 4 000 veces mayores que los que se encuentran normalmente en la orina.

Características analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo, consulte las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en $\mu\text{g}/\text{ml}$. (A menos que se especifique lo contrario, todos los resultados se generaron sobre muestras de orina).

Intervalo de calibración: 2,5 – 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$

Sensibilidad analítica: 1,0 $\mu\text{g}/\text{ml}$

Precisión: Las muestras fueron procesadas por duplicado durante 20 días, en dos tandas de trabajo por día, para un total de 40 tandas y 80 replicados. (Véase la tabla "Precisión".)

Linealidad: Las muestras fueron analizadas con varias diluciones. (Véase la tabla "Linealidad" para resultados representativos.)

Recuperación: Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con tres soluciones de albúmina (100, 200 y 400 µg/ml). (Ver la tabla "Recuperación" para resultados representativos).

Especificidad: El anticuerpo es altamente específico para albúmina humana. (Véase la tabla "Especificidad".)

Comparación de los métodos: Se ha comparado el ensayo con el de DPC IMMULITE Albúmina en 117 muestras de orina (Intervalo de concentración: aproximadamente de 2.5 a 60 µg/ml. Véase el gráfico.) Por regresión lineal:

(IML 2000) = 1,08 (IML) – 1,4 µg/ml
r = 0,988

Medias:

19,6 µg/ml (IMMULITE 2000)
19,4 µg/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

Fabricado por EURO/DPC Ltd. bajo un Sistema de Calidad acorde con la ISO 13485:2003.

Français

IMMULITE 2000 Albumine

Domaine d'utilisation: Détection et dosage quantitatif de la microalbuminurie, c'est-à-dire de la concentration d'albumine dans l'urine humaine non détectable avec les méthodes classiques de bandelettes urinaires. Ce test est réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec l'analyseur IMMULITE 2000 et constitue une aide au suivi du développement d'une néphropathie diabétique débutante.

Référence catalogue :
L2KHA2 (200 tests), **L2KHA6** (600 tests)

Code produit : **ALB**
Code couleur : **marron**

Introduction

La microalbuminurie est un état caractérisé par une augmentation de l'excrétion urinaire de l'albumine avec absence de néphropathie avérée.^{9,10,21} Les méthodes classiques de bandelettes urinaires et de tests de précipitation à l'acide manquent de la sensibilité requise

pour déceler cet état. Les bandelettes urinaires peuvent donner des résultats négatifs ou douteux même pour des taux d'excrétion de l'albumine de 10 à 20 fois supérieurs à la normale; et le taux doit augmenter jusqu'à 200 ou 300 microgrammes par minute (µg/min) avant que la néphropathie devienne cliniquement apparente sous forme de protéinurie persistante.^{14,21} Les études publiées, basées sur des immunodosages très sensibles pour l'albumine, ont situé la limite supérieure de la normale chez les adultes à environ 12 ou 15 µg/min; ainsi, les chercheurs ont fixé généralement un domaine s'étendant de 15 à 30 µg/min jusqu'à environ 150 µg/min comme définition opérationnelle de la microalbuminurie.^{11,12,20}

Le dosage de l'albumine urinaire est utilisé avec d'autres dosages pour aider à localiser le site du dysfonctionnement rénal. Ainsi, des taux élevés d'albuminurie peuvent être attendus si le processus de filtration glomérulaire est suractif; au contraire, une résorption tubulaire diminuée conduit à des taux urinaires augmentés de plus petites molécules comme la β₂-microglobuline.¹⁶

En dehors de l'intégrité glomérulaire, différents facteurs – en particulier l'exercice – peuvent avoir une influence sur les valeurs de référence de l'albuminurie. Certains rapports indiquent que les domaines basés sur les échantillons de la nuit sont plus bas que ceux de la journée ou ceux des 24 heures.^{2,6,17} Il serait tentant de l'expliquer en termes de différence de posture et d'activité au moment de la collecte. Mais d'autres études ont démontré que l'exercice, dans des limites raisonnables, n'a aucun effet significatif sur le taux d'excrétion de l'albumine chez les adultes sains.^{1,7,15}

Ceci n'est pas vrai pour les individus atteints de diabète ou d'hypertension importante.^{1,8,13,15,18,24} Bien qu'un diabète nouvellement diagnostiqué peut avoir un taux de base compris dans le domaine de référence, leurs taux d'albuminurie peuvent montrer une réponse augmentée à l'exercice, réponse qui peut être éliminée à court terme par un contrôle métabolique attentif.^{4,5,19,25}

L'intérêt du dosage des élévations subcliniques de l'excrétion de l'albumine s'est centré sur les patients ayant été diagnostiqué comme diabétiques ou atteint d'une importante hypertension.³ A condition qu'une attention convenable soit accordée pour minimiser l'influence de l'exercice et du contrôle métabolique déficient sur le taux d'excrétion de l'albumine, le taux d'albuminurie s'est prouvé être un excellent facteur prédictif de la progression vers la néphropathie visible aussi chez les diabètes insulino-dépendants que les diabètes non insulino-dépendants.^{11,12,14,20,23} Par conséquent, d'après la littérature, il est très improbable qu'un diabétique avec un taux au repos de moins de 15 µg/min évolue dans les 10 ans vers une néphropathie cliniquement manifeste; alors que chez les diabétiques ayant des taux d'albumine au repos supérieurs à 15 µg/min, même avec un bon contrôle métabolique, on peut s'attendre à une augmentation annuelle (en moyenne) de 25 µg/min.¹²

Principe du test

IMMULITE 2000 Albumine est une immunoenzymologie chimioluminescente compétitive à phase solide.

Cycles d'incubation : 1 × 30 minutes.

Recueil des échantillons

Collecter les urines de 3 heures, de la nuit ou de 24 heures – sans conservateur – et noter l'heure, la durée et le volume total de la collecte. Bien mélanger et garder un aliquot pour l'analyse. Ne pas acidifier les échantillons.

Clarifier l'urine par filtration ou centrifugation avant utilisation. (Les échantillons avec du sang ne doivent pas être utilisés.) Prélever le surnageant urinaire du sédiment et mélanger doucement. Utiliser des pipettes à embouts jetables.

Volume nécessaire : 25 µl d'urine.

Conservation : 14 jours à +2°C/+8°C.²⁸
Ne pas congeler.^{27,28}

Avant le dosage, porter les échantillons à température ambiante (+15°C/+28°C) et mélanger doucement. Les échantillons troubles ou présentant des particules en suspension devront être clarifiés par centrifugation à vitesse réduite.

Dilution à bord automatique des échantillons fortement concentrés :
tous les échantillons pour lesquels on s'attend à des valeurs situées au delà de l'intervalle de linéarité du dosage devront être dilués.

Consulter le chapitre Introduction et la bibliographie pour toute information concernant l'effet de l'exercice et d'autres facteurs sur les dosages d'albuminurie.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

Réactifs : Conserver les réactifs à +2°/+8 °C. Éliminer les déchets conformément aux lois en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-HCV et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

Substrat chimiluminescent : Éviter les contaminations et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser de l'eau distillée ou désionisée.

Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à l'intérieur du coffret sont nécessaires au dosage.

Cartouche de billes Albumine (L2HA12)

Avec code-barre. 200 billes, revêtues d'anticorps monoclonal murin anti-HSA (albumine sérique humaine). Stable à +2/+8 °C jusqu'à la date de péremption.

L2KHA2: 1 cartouche.

L2KHA6: 3 cartouches.

Cartouche - réactif Albumine (L2HAA2)

Avec code-barre. 11,5 ml d'HSA (albumine sérique humaine) conjuguée à de la phosphatase alcaline (intestins de veau) dans un tampon. Stable à +2/ +8 °C jusqu'à la date de péremption.

L2KHA2: 1 cartouche.

L2KHA6: 3 cartouches.

Avant l'emploi, retirer la partie supérieure de l'étiquette au niveau des perforations en ayant soin de ne pas endommager le code-barres. Retirer le film protecteur situé sur la partie supérieure de la cartouche-réactif ; insérer le couvercle coulissant entre les glissières sur le dessus de la cartouche-réactif.

Ajusteurs Albumine (LHAL, LHAH)

2 flacons ("haut" et "bas") d'albumine dans une matrice tampon/ protéines lyophilisée, avec conservateur. 30 minutes au minimum avant l'emploi : reconstituer chaque flacon avec **2,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Mélanger doucement jusqu'à complète dissolution de la substance lyophilisée. Stable à +2°C/+8°C pendant 30 jours après reconstitution ou 6 mois (aliquoté) à -20°C.

L2KHA2: 1 jeu. **L2KHA6:** 2 jeux.

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes en verre de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Composants du coffret fournis séparément**Multi-diluant 2 (L2M2Z, L2M2Z4)**

Pour la dilution automatisée à bord des échantillons élevés. Un flacon de solution tampon concentrée (prête à l'emploi), à base de protéines non humaines, avec conservateur. Stable à +2-8°C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à -20°C.

L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Les étiquettes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.

L2M2Z: 3 étiquettes **L2M2Z4:** 5 étiquettes

L2SUBM : Substrat chimiluminescent

L2PWSM : Solution de lavage

L2KPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

LRXT : Godets réactionnels (jetables)

L2ZT : 250 Tubes À essai De Diluant échantillon (16 × 100 mm)

L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

LHACM: Contrôle Albumine à deux niveaux à base de protéines.

Egalement requis

Eau distillée ou désionisée ; tubes;

Contrôle.

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel d'Utilisation de l'IMMULITE 2000.

Se reporter au manuel d'utilisation de l'IMMULITE 2000 pour : la préparation, le démarrage du système, le dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé :
2 semaines.

Echantillons pour le contrôle de qualité :

Utiliser des contrôles ou des pools de urine avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) d'albumine.

Valeurs de référence

Les résultats pour l'albumine sont généralement donnés en taux d'excrétion, en microgrammes d'albumine par minute (µg/min). On l'obtient en multipliant la concentration en µg/ml par le volume total de l'urine collectée (en millilitres) et en divisant par la durée de la collecte (en minutes).

Compte tenu de sa relation avec le dosage IMMULITE Albumine de DPC (et Double Antibody Albumine de DPC), le test doit avoir les mêmes valeurs de référence pour les échantillons urinaires, exprimées en microgrammes d'albumine excrétés par minute (µg/min):

de non détectable à 18 µg/min,

avec une médiane à environ 6 µg/min.

Un total de 55 échantillons urinaires – les urines de 3 heures – ont été collectés auprès de volontaires sains dans deux laboratoires différents et dosés avec la

méthode Double Antibody Albumine. 95% avaient des taux d'excrétion inférieurs à 13 µg/min. Des échantillons d'urines de 24 heures et de 3 heures ont été collectés auprès de 20 volontaires dans l'un des laboratoires. 90% des résultats étaient inférieurs à 11,5 et 12,5 µg/min respectivement pour les échantillons d'urines de 24 heures et 3 heures.

Utiliser ces valeurs à *titre indicatif uniquement*. Chaque laboratoire devra établir ses propres valeurs de référence.

Limites

Il y a d'autres causes de microalbuminurie en dehors de la néphropathie diabétique. L'exercice, un mauvais contrôle du diabète, une atteinte rénale non diabétique ou une maladie systémique, incluant l'hypertension, doivent être considérés. Les infections des voies urinaires ou une maladie cardiaque congestive peuvent également provoquer des élévations subcliniques du taux d'excrétion de l'albumine.

Les échantillons ayant un pH inférieur à 4 ou supérieur à 8 peuvent donner respectivement des résultats trop hauts ou trop bas. Les échantillons acidifiés ne doivent donc pas être utilisés.

Le test ne doit pas être réalisé si l'échantillon montre une croissance bactérienne significative ou si le patient a des symptômes d'infection des voies urinaires.

Les échantillons avec du sang ne doivent pas être utilisés, même après clarification par centrifugation, puisque le sang est un signe probable de contamination — ex flux menstruel — et l'albumine circule à des taux plasmatiques d'environ 4 000 fois supérieurs à ceux habituellement dosés dans l'urine.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances de ce test. Les résultats sont donnés en µg/ml. (En l'absence d'indication contraire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons d'urine.)

Domaine de mesure : 2,5 – 60 µg/ml

Sensibilité analytique : 1,0 µg/ml

Précision : les échantillons sont dosés en duplicata sur une période qui s'étend sur 20 jours, avec deux séries par jours, soit 40 séries et 80 replicata au total. (Voir le tableau « Precision ».)

Test de dilution : Des échantillons ont été dosés à différentes concentrations. (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.)

Test de récupération : les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions albumine (100, 200 et 400 µg/ml). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : L'anticorps utilisé est hautement spécifique de l'albumine humaine. (Voir le tableau « Specificity ».)

Comparaison de méthodes: Le test a été comparé au dosage IMMULITE Albumine de DPC sur 117 échantillons urinaires (intervalle de concentrations : environ de 2,5 à 60 µg/ml. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 1,08 (IML) – 1,4 µg/ml
r = 0,988

Moyennes :
19,6 µg/ml (IMMULITE 2000)
19,4 µg/ml (IMMULITE)

Assistance technique

Contactez votre distributeur national. En France distribué par DPC France 90 bd National 92257 La Garenne-Colombes.

Fabriqué par EURO/DPC Ltd. dans le cadre d'un Système Qualité enregistré sous ISO 13485:2003.

Italiano

IMMULITE 2000 Albumina

Uso: Per dosaggi diagnostici *in vitro* con l'analizzatore IMMULITE 2000 — o per la rilevazione e la quantificazione della microalbuminuria, cioè, concentrazioni di albumina nell'urina umana non rilevabili con metodi convenzionali. Esso costituisce un ausilio nel monitoraggio dello sviluppo di una nefropatia diabetica incipiente.

Codice: L2KHA2 (200 test),
L2KHA6 (600 test)

Codice del Test: **ALB** Colore: **marrone**

RIASSUNTO E SPIEGAZIONE DEL TEST

La Microalbuminuria è caratterizzata da un'escrezione urinaria accresciuta in assenza di nefropatia conclamata^{9,10,21}. Lo stick convenzionale ed i test di precipitazione dell'acido per la rilevazione della proteina nell'urina mancano della sensibilità richiesta per delineare questa condizione. Gli stick possono presentare risultati negativi o tracce anche quando il tasso di escrezione dell'albumina è 10 o 20 volte la normalità; ed il tasso deve crescere da 200 a 300 microgrammi al minuto ($\mu\text{g}/\text{min}$) prima che la nefropatia diventi clinicamente evidente come proteinuria persistente.^{14,21} Gli studi pubblicati basati su immunodosaggi altamente sensibili per l'albumina hanno stabilito il limite superiore di normalità per gli adulti in circa 12 o 15 $\mu\text{g}/\text{min}$; in maniera analoga, gli studiosi hanno fissato tipicamente un range che si estende da 15 o 30 $\mu\text{g}/\text{min}$ fino a circa 150 $\mu\text{g}/\text{min}$ come definizione operativa di microalbuminuria.^{11,12,20}

Le determinazioni dell'albumina urinaria sono state utilizzate unitamente ad altri dosaggi per aiutare a localizzare la deficienza renale. Quindi, sono attesi livelli elevati di albumina urinaria quando il processo di filtrazione glomerulare è superattivo; il mancato riassorbimento tubulare, d'altro canto, porta a livelli urinari più elevati delle molecole più piccole come la β_2 -microglobulina.¹⁶

Un insieme di fattori diversi rispetto all'integrità glomerulare – più esplicitamente l'esercizio – possono influenzare i range di riferimento per l'albumina urinaria. Alcuni report indicano che i range basati su campioni nella fase notturna sono più bassi dei range su base giornaliera o nelle 24 ore.^{2,6,17} Si potrebbe essere tentati di spiegare ciò in termini di differenze di postura e di attività che le diverse ore di raccolta comportano. Ma altri studi hanno dimostrato che l'esercizio, entro i limiti, non ha effetti significativi sul tasso di escrezione dell'albumina in adulti sani.^{1,7,15}

Ciò non corrisponde al vero per individui affetti da diabete o essenzialmente ipertensione.^{1,8,13,15,18,24} Benché nuovi

diabetici diagnosticati possano avere livelli basali entro il range di riferimento, i loro livelli di albumina urinaria presentano una rispondenza accresciuta all'esercizio, una rispondenza che può essere eliminata a breve attraverso un attento controllo metabolico.^{4,5,19,25}

L'interesse nelle determinazioni di livelli elevati subclinici del tasso di escrezione dell'albumina è focalizzato su individui con una diagnosi di diabete già definita o ipertensione essenziale.³ A patto che vengano prestate le cure idonee per minimizzare l'influenza dell'esercizio e lo scarso controllo metabolico sul tasso di escrezione dell'albumina, il livello di albumina urinaria si è rivelato un indice eccellente per prevedere la progressione verso una nefropatia conclamata sia nel diabete insulino dipendente che in quello non-insulino dipendente.^{11,12,14,20,23} Quindi, secondo la letteratura, è molto improbabile che un diabetico con un livello a riposo di meno di 15 $\mu\text{g}/\text{min}$ progredisca nell'arco di 10 anni verso una nefropatia clinica conclamata; mentre diabetici che presentano livelli di albumina a riposo superiori a 15 $\mu\text{g}/\text{min}$ anche con buon controllo metabolico presenteranno negli anni livelli accresciuti di circa 25 $\mu\text{g}/\text{min}$.¹²

Principio del Dosaggio

IMMULITE 2000 Albumina è un enzima di fase solida, chimico luminescente, immuno-analisi.

Cicli d'incubazione: 1 × 30 minuti.

Prelievo dei Campioni

Effettuare raccolte di urina ogni 3 ore, durante tutta la notte e nelle 24 ore — senza conservanti — annotando l'ora della raccolta, la durata ed il volume totale della raccolta. Mescolare bene e conservare un'aliquota per l'analisi. I campioni non devono essere acidificati.

L'urina deve essere resa limpida attraverso filtrazione o centrifugazione prima dell'uso. (Campioni con ematuria non possono essere utilizzati). Eliminare il supernatante dal sedimento e mescolare agitando leggermente o invertendo la provetta. Usare puntali monouso.

Volume richiesto: 25 μL di urina.

Conservazione: 14 giorni a 2–8°C.²⁸ Non congelare.^{27,28}

Prima del dosaggio, consentire ai campioni di raggiungere la temperatura di (15-28°C). I campioni torbidi o che presentano materiali particolati devono essere schiariti con centrifuga a bassa velocità.

Diluizione di campioni con livelli elevati: Tutti i campioni con livelli superiori al range di calibrazione del dosaggio devono essere diluiti automaticamente.

Consultare la sezione Riassunto e Spiegazione del Test e la Bibliografia per informazioni che riguardano l'effetto dell'esercizio e di altri fattori sulle determinazioni dell'albumina urinaria

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Eliminare secondo le normative di legge vigenti.

Seguire le precauzioni universali, e manipolare tutti i componenti come se potessero trasmettere agenti infettivi. Sono stati dosati i materiali di origine umana e sono stati trovati non reattivi per la sifilide; per gli Anticorpi Anti-HIV 1 e 2; per l'Antigene di Superficie dell'Epatite B; e per gli Anticorpi Anti-Epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

Substrato chemiluminescente: Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce solare diretta. (Vedi metodica).

Acqua: Utilizzare solo acqua distillata o deionizzata.

Materiali forniti

I componenti costituiscono un unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Confezione di Sferette Albumina (L2HA12)

Con codice a barre. 200 sferette, coattate con un anticorpo monoclonale murino anti-HSA (albumi sierica umana). Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KHA2: 1 confezione.

L2KHA6: 3 confezioni.

Porta Reagente Albumina (L2HAA2)

Con codice a barre. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino bovino) coniugato con HSA (albumina sierica umana) in un tampone. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KHA2: 1 porta reagente.

L2KHA6: 3 porta reagenti.

Prima dell'utilizzo rimuovere la parte superiore dell'etichetta lungo la perforazione senza danneggiare il codice a barre. Togliere il foglio protettivo dalla parte superiore del flacone. Far scattare nella corretta posizione il coperchio scorrevole lungo le guide del coperchio del reagente.

Calibratori Albumina (LHAL, LHAH)

Due flaconi (Basso ed Alto), ciascuno con albumina liofila in una matrice di proteina/tampone con conservanti. Almeno 30 minuti prima dell'uso: ricostituire ogni flacone con **2,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Mescolare agitando delicatamente o invertendo la miscela finchè il materiale liofilo sia completamente dissolto. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo la ricostituzione, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

L2KHA2: 1 set. **L2KHA6:** 2 set.

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste (fornite col kit) sulle provette delle aliquote cosicchè i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

Componenti del kit forniti separatamente

Multidiluyente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Per la diluizione interna di campioni elevati. Un flacone, concentrato (pronto all'uso), in una matrice/tampone non umana, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Vengono fornite le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicchè i codici a barre possano essere letti dal lettore interno.

L2M2Z: 3 etichette **L2M2Z4:** 5 etichette.

L2SUBM: Substrato Chemiluminescente

L2PWSM: Tampone di lavaggio dell'Ago

L2KPM: Kit di Pulizia dell'Ago

LRXT: Tubi di Reazione (monouso)
L2ZT: 250 Provette (16 × 100 mm) per Diluente del Campione
L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

LHACM: Controllo a due livelli di albumina a base proteica.

Materiali richiesti
Acqua distillata o deionizzata; provette; controlli.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per prestazioni ottimali, è importante effettuare le procedure di manutenzione di routine cosiccome definito nel Manuale dell'Operatore IMMULITE 2000.

Vedi Manuale dell'Operatore IMMULITE 2000 per: preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 2 settimane.

Controllo di Qualità: Utilizzare controlli o pool di urina con almeno due livelli (alto e basso) di albumina.

Valori Attesi

I risultati per l'albumina sono normalmente riportati come valori dell'escrezione, in microgrammi di albumina al minuto ($\mu\text{g}/\text{min}$). Ciò si ottiene moltiplicando la concentrazione in $\mu\text{g}/\text{mL}$ dal volume totale dell'urina raccolta (in millilitri) e quindi dividendo per la durata della raccolta (in minuti).

Sulla base del suo rapporto con il kit IMMULITE Albumina della DPC (e Doppio Anticorpo Albumina della DPC), ci si attende che il dosaggio dell'Albumina IMMULITE abbia circa gli stessi limiti nel range di riferimento per i campioni di urina, espressi come microgrammi di albumina escreta al minuto ($\mu\text{g}/\text{min}$):

Da non rilevabile a 18 $\mu\text{g}/\text{min}$,
con una mediana di circa 6 $\mu\text{g}/\text{min}$.

Sono stati raccolti un totale di 55 campioni nel corso di 3 ore durante la mattina da donatori sani in due laboratori separati e dosati con il Kit Albumina Doppio Anticorpo. Il 95% presentava tassi di escrezione inferiori a 13 $\mu\text{g}/\text{min}$. Sono stati raccolti campioni nelle 24 ore e ogni

3 ore da 20 volontari in uno dei due laboratori. Il 90% dei risultati sono stati inferiori a 11,5 e 12,5 $\mu\text{g}/\text{min}$ per le 24 ore e per i campioni raccolti ogni 3 ore rispettivamente.

Considerare questi limiti *soltanto come linee guida*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limiti

Ci sono altre cause potenziali di microalbuminuria oltre alla nefropatia diabetica incipiente. Occorre prestare attenzione all'esercizio, ad uno scarso controllo del diabete e a malattie renali non connesse con il diabete o a malattie sistemiche, inclusa l'ipertensione. Le infezioni del tratto urinario e la congestione delle coronarie sono anch'esse possibili cause di livelli subclinici elevati nel tasso di escrezione urinaria.

I campioni con un pH inferiore a 4 o superiori a 8 possono produrre risultati che sono rispettivamente troppo elevati o troppo bassi. I campioni acidificati non possono essere utilizzati.

Il test non deve essere effettuato se il campione presenta una crescita microbica significativa o se il paziente mostra segni di infezioni al tratto urinario.

Campioni con ematuria non possono essere utilizzati, anche se schiariti con centrifugazione, perché il sangue è un segno di contaminazione — ad es. dal flusso mestruale — e l'albumina circola nel plasma a livelli di circa 4 000 volte quelli normalmente riscontrati nell'urina.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tabelle e grafici per i dati *rappresentativi* delle prestazioni del dosaggio. I risultati sono espressi in $\mu\text{g}/\text{mL}$. (Se non diversamente indicato, tutti i risultati sono stati generati da campioni di urina.)

Range di calibrazione: 2,5 – 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Sensibilità analitica: 1,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Precisione: I campioni sono stati elaborati in doppio in 20 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedi tabella "Precision".)

Linearità: I campioni sono stati dosati a varie diluizioni. (Vedi tabella "Linearità" per dati rappresentativi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni ai quali sono state aggiunte tre soluzioni di albumina (100, 200 e 400 µg/mL) 1:19. (Vedi Tabella "Recovery" per dati rappresentativi.)

Specificità: L'anticorpo è molto specifico per l'albumina umana. (Vedi tabella "Specificity".)

Comparazione di Metodi: Il dosaggio è stato comparato al dosaggio DPC IMMULITE Albumina su 117 campioni di urina (Range di concentrazione: circa da 2,5 a 60 µg/mL. Vedere grafico.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 1,08 (IML) – 1,4 µg/mL
r = 0,988

Valore medio:
19,6 µg/mL (IMMULITE 2000)
19,4 µg/mL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

All'Estero: Contattare il proprio Distributore Nazionale.

Prodotto dalla EURO/DPC Ltd. nell'ambito di un Sistema di Qualità Certificato ISO 13485:2003.

Português

IMMULITE 2000 Albumina

Utilização: Para utilização no diagnóstico *in vitro*, conjuntamente com o Analisador IMMULITE 2000 na detecção e quantificação de microalbuminúria, ou seja, concentrações de albumina na urina humana não detectáveis pelos métodos convencionais de vareta de imersão. É usado como auxiliar na monitorização do desenvolvimento da nefropatia diabética incipiente.

Números de catálogo:
L2KHA2 (200 testes),
L2KHA6 (600 testes)

Código do teste: **ALB** Cor: **Castanho**

Sumário e explicação do teste

A microalbuminúria é um estado clínico que se caracteriza pelo aumento da excreção urinária de albumina na

ausência de outras nefropatias.^{9,10,21} Os testes convencionais de vareta de imersão e de precipitação ácida usados para detectar proteínas na urina não têm a sensibilidade necessária para determinar esta condição clínica. Os testes por vareta de imersão podem indicar resultados *negativo* ou *vestígios* mesmo quando as taxas de excreção de albumina são 10 ou 20 vezes superiores ao normal; é necessário que a taxa aumente para 200 ou 300 microgramas por minuto (µg/min) para que a nefropatia se torne clinicamente aparente como proteinúria persistente.^{14,21} Estudos publicados baseados em imunoensaios altamente sensíveis à albumina estabeleceram como limite superior normal para adultos um valor aproximado de 12 ou 15 µg/min; assim, os investigadores definiram uma gama entre 15–30 µg/min e cerca de 150 µg/min como definição operacional de microalbuminúria.^{11,12,20}

O doseamento da albumina urinária tem sido usado em conjunto com outros ensaios como auxiliar na localização da falha renal. Assim, níveis elevados de albumina urinária são esperados quando o processo de filtração glomerular apresenta uma actividade excessiva; uma reabsorção tubular comprometida, por outro lado, leva ao aumento dos níveis urinários de pequenas moléculas como a β₂-microglobulina.¹⁶

Para além da integridade glomerular, são vários os factores – em especial, o exercício – que podem influenciar as gamas de referência da albumina urinária. Alguns estudos indicam que as gamas baseadas em espécimens colhidos durante a noite são inferiores às gamas de espécimens colhidos durante o dia ou espécimens de 24 horas.^{2,6,17} É tentador explicar este fenómeno com base nas diferenças de postura e actividade entre cada um dos momentos da colheita. No entanto, outros estudos demonstraram que o exercício, dentro de determinados limites, não tem efeitos significativos na taxa de excreção de albumina em adultos saudáveis.^{1,7,15}

Isto pode não se aplicar a indivíduos com diabetes e hipertensão.^{1,8,13,15,18,24} Embora os diabéticos de diagnóstico recente possam apresentar níveis basais dentro da gama de referência, os seus níveis de

albumina urinária mostram um aumento na resposta ao exercício, uma resposta que pode ser eliminada a curto prazo através de um controlo metabólico cuidadoso.^{4,5,19,25}

O interesse no doseamento dos aumentos sub-clínicos da taxa de excreção de albumina tem estado centrado em indivíduos com um diagnóstico já definido de diabetes ou hipertensão.³ Se forem considerados os cuidados para minimizar a influência do exercício e do fraco controlo metabólico na taxa de excreção da albumina, o nível de albumina urinária tem-se revelado um excelente indicador da progressão para nefropatia evidente, tanto nos indivíduos diabéticos dependentes como nos não dependentes de insulina.^{11,12,14,20,23} Assim e de acordo com a literatura disponível, é pouco provável que um diabético com um nível - em descanso - inferior a 15 µg/min venha a evoluir no espaço de uma década para nefropatia clínica evidente; por outro lado, em diabéticos com níveis de albumina - em descanso - superiores a 15 µg/min, mesmo com bom controlo metabólico, são esperados aumentos anuais de 25 µg/min (em média).¹²

Princípio do Procedimento

O IMMULITE 2000 Albumina é um imunoensaio competitivo de fase sólida, de enzimas químico-luminosas.

Ciclos de incubação: 1 × 30 minutos.

Colheita

Colher uma amostra de urina de 3 horas, durante a noite, ou no espaço de 24 horas - sem conservante - anotando a hora, duração e volume total da colheita. Misturar bem e reter uma alíquota para análise. As amostras não devem ser acidificadas.

A urina deve ser clarificada por filtração ou centrifugação antes de ser usada. (Amostras de espécimens com sangue não podem ser utilizadas.) Remover a urina sobrenadante do sedimento e misturar com movimentos lentos ou por inversão suave. Usar pitetas de ponta descartável.

Volume da Amostra: 25 µL de urina.

Armazenamento: 14 dias a 2–8°C,²⁸ Não congelar.^{27,28}

Antes do ensaio, deixar que as amostras atinjam a temperatura ambiente (15–28°C). As amostras turvas ou que apresentem material sob a forma de partículas devem ser clarificadas através de centrifugação de baixa velocidade.

Diluição de Amostras Elevadas: Todas as amostras que se preveja que contenham níveis acima da gama de calibração do ensaio devem ser diluídas no aparelho.

Consultar a secção Sumário e Explicação e a secção Referências para mais informações relativamente ao efeito do exercício e outros factores nas determinações da albumina urinária.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as leis aplicáveis.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas, obtidas de soro humano, foram testadas, revelando resultados negativos para a sífilis, para os anticorpos do vírus da imunodeficiência humana (HIV) 1 e 2; para o antigénio de superfície da hepatite B (HBsAg) e para os anticorpos do vírus da hepatite C.

Azida de sódio foi adicionada como conservante; para evitar acumulações de azidas metálicas explosivas em canalizações de cobre e alumínio, os reagentes devem ser rejeitados no esgoto apenas se estiverem diluídos e forem lavados com grandes volumes de água.

Substrato quimioluminescente: Evitar contaminação e exposição à luz directa do sol (ver literatura inclusa).

Água: Utilizar água destilada ou desionizada.

Materiais Fornecidos

Os componentes formam um conjunto indivisível. As etiquetas no interior da caixa são necessárias para o ensaio.

Embalagem de pérolas de Albumina (L2HA12)

Com código de barras. 200 pérolas, revestidas com anti-HSA (albumina de soro humano) murino monoclonal. Estável

até a data de validade a 2–8°C.

L2KHA2: 1 embalagem.

L2KHA6: 3 embalagens.

Embalagem de Reagentes de Albumina (L2HAA2)

Com código de barras. 11,5 mL de fosfatase alcalina (intestino de bezerro) conjugado com HSA (albumina de soro humano) em tampão. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KHA2: 1 embalagem.

L2KHA6: 3 embalagens.

Antes de utilizar, destacar a parte de cima da etiqueta pelo ponteadado, sem danificar o código de barras. Remover o selo de alumínio da parte de cima da embalagem e encaixar a tampa deslizante nas ranhuras da tampa dos reagentes.

Ajustes Albumina (LHAL, LHAH)

Contém dois frascos (Alto e Baixo) de albumina liofilizada em matriz proteica tamponada, com conservante. Pelo menos 30 minutos antes da utilização: Reconstituir cada frasco com **2,0 mL** de água destilada ou desionizada. Misturar com movimentos lentos ou por inversão suave até o material liofilizado dissolver completamente. Estável durante 30 dias a 2–8°C depois de reconstituído, ou durante 6 meses (aliquotado) a –20°C.

L2KHA2: 1 conjunto.

L2KHA6: 2 conjuntos.

Antes de realizar qualquer rectificação, colocar as etiquetas da alíquota apropriadas (fornecidas com o kit) nos tubos de amostra de forma a que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura incorporado.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Multidiluinte 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Para diluição no aparelho de amostras elevadas. Um frasco de matriz proteica tamponizada de origem não humana concentrada (pronta a usar), com conservante. Estável a 2–8°C durante 30 dias depois de aberto ou durante 6 meses (aliquotado) a –20°C.

L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

São fornecidas etiquetas de código de barras para utilização com o diluinte.

Antes de usar, colocar a etiqueta

apropriada num tubo de ensaio (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura incorporado.

L2M2Z: 3 etiquetas **L2M2Z4:** 5 etiquetas

L2SUBM: Substrato quimioluminescente

L2PWSM: Lavagem da sonda

L2KPM: Kit de limpeza da sonda

LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)

L2ZT: 250 Tubos de ensaio de diluinte da amostra (16 × 100 mm)

L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluinte da amostra

LHACM: Controlo de dois níveis de albumina de base proteica.

Também necessário

Água destilada ou desionizada; tubos de ensaio; controlos.

Procedimento de doseamento

De notar que para obter um desempenho óptimo, é importante realizar todos os procedimentos de manutenção de rotina definidos no Manual de Operador do IMMULITE 2000.

Consultar o Manual do Operador de IMMULITE 2000 para instruções de preparação, instalação, rectificação, ensaio e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável:
2 semanas.

Amostras de controlo de qualidade:

Utilizar controlos ou pools com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de albumina.

Valores Esperados

Os resultados para albumina são geralmente referenciados como taxas de excreção, em microgramas de albumina por minuto (µg/min). Isto é obtido multiplicando a concentração em µg/ml pelo volume total de urina colhida (em mililitros) dividindo depois pela duração da colheita (em minutos).

Com base na relação entre o ensaio de IMMULITE Albumin da DPC (e o Double Antibody Albumin da DPC), pode esperar-se do ensaio IMMULITE 2000 Albumin aproximadamente os mesmos valores limites da gama de referência para amostras de urina, expressos em

microgramas de albumina excretada por minuto ($\mu\text{g}/\text{min}$):

Não detectável até 18 $\mu\text{g}/\text{min}$,

com um valor mediano aproximado de 6 $\mu\text{g}/\text{min}$.

Foi colhido um total de 55 amostras de urina de 3 horas, a voluntários saudáveis de investigação laboratorial em dois laboratórios separados e submetido a ensaio com o kit Double Antibody Albumin da DPC. 95% apresentaram taxas de excreção inferiores a 13 $\mu\text{g}/\text{min}$. Os espécimens de 24 horas bem como os de 3 horas foram colhidas a 20 voluntários num dos dois laboratórios: 90% dos resultados obtidos ficaram abaixo dos 11,5 e 12,5 $\mu\text{g}/\text{min}$ para os espécimens de 24 e 3 horas, respectivamente.

Estes valores limite devem ser considerados apenas como *directrizes*. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores de referência.

Limitações

Existem outras causas potenciais de microalbuminúria para além da nefropatia diabética incipiente. Deve ser tido em conta o exercício físico, o fraco controlo diabético e doenças renais não diabéticas ou doenças sistémicas, incluindo hipertensão. Infecções das vias renais e doenças cardíacas congestivas são também possíveis causas de aumentos sub-clínicos da taxa de excreção de albumina.

Amostras com um pH inferior a 4 ou superior a 8 podem produzir resultados muito baixos ou muito altos, respectivamente. Amostras acidificadas não podem ser usadas.

O teste não deve ser executado se a amostra exibir crescimento bacteriano significativo ou se o paciente apresentar sinais de infecção das vias urinárias.

Espécimens com sangue não podem ser utilizados, mesmo que clarificados por centrifugação, dado que o sangue é um sinal claro de contaminação- por exemplo, do fluxo menstrual – e a albumina circula no plasma a níveis aproximadamente 4 000 vezes superior aos normalmente encontrados na urina.

Características do Ensaio

Consultar Tabelas e Gráficos para dados *representativos* do desempenho do ensaio. Os resultados são apresentados em $\mu\text{g}/\text{mL}$. (Salvo referência em contrário, todos os dados provêm de amostras de urina.)

Gama de Calibração: 2,5 – 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Sensibilidade Analítica: 1,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Precisão: As amostras foram repetidamente submetidas a ensaio em duplicado ao longo de vários dias, num total de 20 séries e 40 réplicas. (Consultar a tabela "Precisão".)

Linearidade: As amostras foram submetidas a ensaio sob várias diluições. (Ver tabela "Linearidade" para dados representativos.)

Recuperação: Foram submetidas a ensaio amostras adicionadas na proporção de 1 para 19 com três soluções de albumina (100, 200 e 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$). (Ver tabela "Recuperação" para dados representativos.)

Especificidade: O anticorpo é altamente específico para albumina humana. (Ver tabela de "Especificidade".)

O ensaio foi comparado com o IMMULITE Albumin da DPC em 117 amostras de urina (Gama de concentração: aproximadamente de 2,5 a 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Consultar o gráfico.) Por regressão linear:

(IML 2000) = 1,08 (IML) – 1,4 $\mu\text{g}/\text{mL}$
 $r = 0,988$

Médias:
19,6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (IMMULITE 2000)
19,4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (IMMULITE)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

Fabricado pela EURO/DPC Ltd. de acordo com o Sistema de Qualidade registado segundo a norma ISO 13485:2003.

EURO/DPC LTD

Glyn Rhonwy
Llanberis, Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

DPC®

Diagnostic Products Corporation
Corporate Offices
5210 Pacific Concourse Drive
Los Angeles, CA 90045-6900
USA

2005-12-30

PIL2KHA – 7



EC REP DPC Biermann GmbH
61231 Bad Nauheim
Germany
+49 -6032-994-00