

# IMMULITE®

## Albumin

For use on the IMMULITE®  
and IMMULITE® 1000 systems

**DPC®**

# IMMULITE/IMMULITE 1000<sup>®</sup> Albumin

---

## English

---

**Intended Use:** For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE and IMMULITE 1000 Analyzers — 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: **LKHA1** (100 tests),  
**LKHA5** (500 tests)

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

CDC Test System Identifier Code: 10159  
CLIA Complexity Category: Moderate

### Summary and Explanation

Microalbuminuria is a condition characterized by increased urinary excretion of albumin in the absence of overt nephropathy.<sup>9,10,21</sup> 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.<sup>14,21</sup> 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.<sup>11,12,20</sup>

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  $\beta_2$ -microglobulin.<sup>16</sup>

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.<sup>2,6,17</sup> 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.<sup>1,7,15</sup>

This does not hold true for individuals with diabetes or essential hypertension.<sup>1,8,13,15,18,24</sup> 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.<sup>4,5,19,25</sup>

Interest in measuring subclinical elevations in the albumin excretion rate has focused on individuals with an already established diagnosis of diabetes or essential hypertension.<sup>3</sup> 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.<sup>11,12,14,20,23</sup> 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  $\mu\text{g}/\text{min}$ .<sup>12</sup>

### Principle of the Procedure

IMMULITE/IMMULITE 1000 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:** 50  $\mu$ L urine. (Sample cup must contain at least 100  $\mu$ L more than the total volume required.)

**Storage:** 14 days at 2–8°C<sup>28</sup>  
Do *not* freeze.<sup>27,28</sup>

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.

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. The barcode labels are needed for the assay.

### Albumin Test Units (LHA1)

Each barcode-labeled unit contains one bead coated with monoclonal murine anti-HSA (human serum albumin). Stable at 2–8°C until expiration date.

**LKHA1:** 100 units. **LKHA5:** 500 units.

Allow the Test Unit bags to come to room temperature before opening. Open by cutting along the top edge, leaving the ziplock ridge intact. Reseal the bags to protect from moisture.

### Albumin Reagent Wedge (LHA2)

With barcode. 7.5 mL containing alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to HSA (human serum albumin) in buffer, with preservative. Store capped and refrigerated: stable at 2–8°C until expiration date. Recommended usage is within 30 days after opening when stored as indicated.

**LKHA1:** 1 wedge. **LKHA5:** 5 wedges.

### 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.

**LKHA1:** 1 set. **LKHA5:** 2 sets.

## Kit Components Supplied Separately

### Albumin Sample Diluent (LHAZ)

For the manual dilution of patient samples. One vial containing 25 mL of a protein-based matrix, free of human albumin, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

**LSUBX:** Chemiluminescent Substrate

**LPWS2:** Probe Wash Module

**LKPM :** Probe Cleaning Kit

**LCHx-y:** Sample Cup Holders (barcoded)

**LSCP:** Sample Cups (disposable)

**LSCC:** Sample Cup Caps (optional)

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

Also Required  
Sample transfer pipets, distilled or deionized water, controls.

### Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE or IMMULITE 1000 Operator's Manual.

See the IMMULITE or IMMULITE 1000 Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Visually inspect each Test Unit for the presence of a bead before loading it onto the system.

**Recommended Adjustment Interval:**  
2 weeks.

**Quality Control Samples:** Use controls or urine 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 Double Antibody Albumin kit (see Method Comparison), the IMMULITE Albumin assay can be expected to have approximately 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 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 (200, 300 and 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 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 Double Antibody Albumin on 124 urine samples (Concentration range: approximately 5 to 60 µg/mL. See graph.) By linear regression:

(IML) = 0.92 (DAb) + 1.9 µg/mL  
r = 0.972

Means:

24.7 µg/mL (IMMULITE)  
24.9 µg/mL (Double Antibody)

## 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 β<sub>2</sub>-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, Wisser 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 β<sub>2</sub>-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;ii(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 <sup>3</sup>	Within-Run <sup>1</sup>		Total <sup>2</sup>	
		SD <sup>4</sup>	CV <sup>5</sup>	SD	CV
1	4.2	0.16	3.8%	0.24	5.7%
2	9.1	0.31	3.4%	0.44	4.8%
3	26.9	0.91	3.4%	1.10	4.1%
4	35.5	1.31	3.7%	2.39	6.7%
5	51.4	2.28	4.4%	3.20	6.2%

### Linearity (µg/mL)

	Dilution <sup>1</sup>	Observed <sup>2</sup>	Expected <sup>3</sup>	%O/E <sup>4</sup>
1	4 in 4 <sup>5</sup>	9.5	—	—
	2 in 4	5.0	4.8	104%
	1 in 4	2.5	2.4	104%
2	4 in 4	15	—	—
	2 in 4	6.9	7.5	92%
	1 in 4	3.8	3.8	100%
3	8 in 8	22	—	—
	4 in 8	11	11	100%
	2 in 8	5.6	5.5	102%
	1 in 8	2.7	2.8	96%
4	8 in 8	36	—	—
	4 in 8	19	18	106%
	2 in 8	8.7	9.0	97%
	1 in 8	4.0	4.5	89%
5	8 in 8	41	—	—
	4 in 8	20	21	95%
	2 in 8	8.5	10	85%
	1 in 8	4.7	5.1	92%

### Recovery (µg/mL)

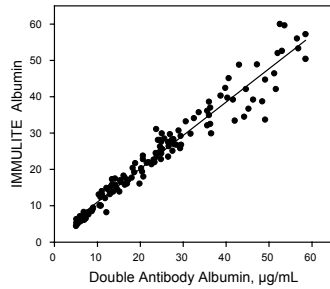
	Spiking Solution <sup>1</sup>	Observed <sup>2</sup>	Expected <sup>3</sup>	%O/E <sup>4</sup>
1	—	5.6	—	—
	A	15.4	15.6	99%
	B	20.2	20.6	98%
	C	23.2	25.6	91%
2	—	8.9	—	—
	A	17.9	18.9	95%
	B	21.4	23.9	90%
	C	27.0	28.9	93%
3	—	9.5	—	—
	A	19.0	19.5	97%
	B	24.1	24.5	98%
	C	28.7	29.5	97%
4	—	18.9	—	—
	A	27.9	28.9	97%
	B	30.6	33.9	90%
	C	36.7	38.9	94%
5	—	23.7	—	—
	A	34.4	33.7	102%
	B	39.1	38.7	101%
	C	39.3	43.7	90%
6	—	25.6	—	—
	A	32.3	35.6	91%
	B	37.7	40.6	93%
	C	40.8	45.6	90%

### Specificity

Compound <sup>1</sup>	µg/mL Added <sup>2</sup>	% Cross-reactivity <sup>3</sup>
Alpha-fetoprotein	20	ND
Urea	625	ND
Human IgG	500	ND
Creatinine	2,500	ND
Uroporphyrin ester	0.10	ND
Bovine serum albumin	10,000	ND
Transferrin	100	ND
Bilirubin	400	ND
Gentamycin sulfate	120	ND
Glucose	5,000	ND

ND: not detectable.<sup>4</sup>

## Method Comparison



(IML) = 0.92 (DAb) + 1.9 µg/mL  
r = 0.972

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

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

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

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

**Português. Precision:** <sup>1</sup>Entre-ensaios, <sup>2</sup>Total, <sup>3</sup>Média, <sup>4</sup>Desvio padrão, <sup>5</sup>Coefficiente de variação. **Linearity:** <sup>1</sup>Diluição, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>% O/E, <sup>5</sup>4 em 4. **Recovery:** <sup>1</sup>Solução, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>% O/E. **Specificity:** <sup>1</sup>Composto, <sup>2</sup>Quantidade adicionada, <sup>3</sup>Percentagem de reação cruzada, <sup>4</sup>ND: não detectável. **Method Comparison:** Albumin: Albumina.

## Deutsch

### Albumin

**Anwendung:** Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE und IMMULITE 1000 Systeme – 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:

**LKHA1** (100 Tests), **LKHA5** (500 Tests)

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

### Klinische Relevanz

Als Mikroalbuminurie bezeichnet man eine erhöhte Albumin-Ausscheidung im Urin ohne Anzeichen für eine Nierenerkrankung.<sup>9,10,21</sup> 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 µg/min erreichen.<sup>14,21</sup> 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.<sup>11,12,20</sup>

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.  $\beta_2$ -Mikroglobulin.<sup>16</sup>

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.<sup>2,6,17</sup> Dieses könnte aufgrund verschiedener Körperhaltungen und Aktivitäten während der Sammelzeit erklärt werden.<sup>1,7,15</sup>

Dies gilt nicht für Personen mit Diabetes oder essentieller Hypertonie.<sup>1,8,13,15,18,24</sup>

Obwohl es vorkommt, dass frisch diagnostizierte Diabetiker Albumin-Urinspiegeln im Normalbereich zeigen, führen körperliche Belastungen bei ihnen zu einer erhöhten Albumin-Ausscheidungsrate.<sup>4,5,19,25</sup>

Von besonderem Interesse ist die Bestimmung einer subklinischen Erhöhung der Albuminausscheidung bei Patienten mit der Diagnose Diabetes oder Hypertonie.<sup>3</sup> 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.<sup>11,12,14,20,23</sup> 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.<sup>12</sup>

## Methodik

Der Albumin – IMMULITE/IMMULITE 1000 -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 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:** 50 µl Urin. (Inhalt des Probenträgers muss mindestens 100 µl über der erforderlichen Gesamtmenge liegen.)

**Lagerung:** 14 Tage bei 2–8°C<sup>28</sup>. Nicht einfrieren!<sup>27,28</sup>

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

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. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

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 verhindern, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

**Chemilumineszenz-Substrat:** Kontamination und direkte

Sonneneinstrahlung vermeiden. Siehe Packungsbeilage.

**Wasser:** Destilliertes oder deionisiertes Wasser verwenden.

### Im Lieferumfang enthalten

Die Komponenten sind aufeinander abgestimmt. Die Barcode-Etiketten werden für den Assay benötigt.

#### Albumin Testeinheiten (LHA1)

Jede mit Barcode-Etikette versehene Einheit enthält eine Polystyrol-Kugel beschichtet mit monoklonalen Anti-HSA- (human serum albumin)-Antikörpern. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

**LKHA1:** 100 Testeinheiten.

**LKHA5:** 500 Testeinheiten.

Verpackte Testeinheiten vor dem Öffnen stehen lassen, bis sie Zimmertemperatur erreicht haben. Oben entlang der Kante aufschneiden, ohne den Plastikverschluss zu beschädigen. Verpackungen wieder dicht verschließen, damit der Inhalt trocken bleibt.

#### Albumin- Reagenzbehälter (LHA2)

Mit Barcode. 7,5 ml mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugiertes Albumin (HSA) in einer Pufferlösung, (mit Konservierungsmittel). Verschlossen und gekühlt aufbewahren: Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar. Bei entsprechender Lagerung beträgt die empfohlene Verbrauchsfrist nach dem Öffnen 30 Tage.

**LKHA1:** 1 Behälter. **LKHA5:** 5 Behälter.

#### 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.

**LKHA1:** 1 Set. **LKHA5:** 2 Set.

## Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

#### Albumin-Verdünnungspuffer (LHAZ)

Zum manuellen Verdünnen der Patientenproben. Ein Fläschchen à 25 ml einer proteinbasierten humanen Albumin-freien Serummatrix (mit Konservierungsmitteln). 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).

**LSUBX:** Chemilumineszenz-Substrat

**LPWS2:** Pipettenwaschlösung

**LKPM:** Pipettenreinigungssset

**LCHx-y:** Halterungen für die Probenschalen (mit Barcodierung)

**LSCP:** Probenschalen (Einwegartikel)

**LSCC:** Verschlüsse für die Probenschalen (optional)

**LHACM:** Albumin-Kontrollmodul (2 Konzentrationen).

Ebenfalls benötigt:  
Transferpipetten für die Proben;  
destilliertes bzw. deionisiertes Wasser;  
Kontrollen.

## Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im IMMULITE oder IMMULITE 1000-Handbuch beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Das Handbuch für das IMMULITE bzw. IMMULITE 1000 enthält die Anweisungen für: Vorbereitung, Geräteeinstellungen, Verdünnungen, Kalibrierung, Testdurchführung und Qualitätskontrollen.

Überprüfen Sie jedes Testeinheit auf das Vorhandensein der Polystyrol-Kugel vor dem Einsetzen in das Gerät.

**Empfohlenes Kalibrationsintervall:**  
2 Wochen.

**Proben zur Qualitätskontrolle:**  
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 Doppelantikörper Albumin Assay von DPC (siehe Methodenvergleich) können für den IMMULITE Albumin Assay die selben Referenzbereiche für Urinproben erwartet werden, ausgedrückt als pro Minute ausgeschiedenes Albumin in Mikrogramm ( $\mu\text{g}/\text{min}$ ):

nicht nachweisbar – 18  $\mu\text{g}/\text{min}$

Der Median liegt bei ca. 6  $\mu\text{g}/\text{min}$ . Insgesamt wurden zu standardisierten Zeiten 3-Stunden Morgenurine 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  $\mu\text{g}/\text{min}$ . 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  $\mu\text{g}/\text{min}$ .

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 in  $\mu\text{g}/\text{ml}$  angegeben. (Alle Daten wurden – sofern nicht anders angegeben – anhand von Urinproben gewonnen.)

**Messbereich:** 2,5 – 60  $\mu\text{g}/\text{ml}$

**Analytische Sensitivität:** 1,0  $\mu\text{g}/\text{ml}$

**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 (200, 300 und 400  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) im Verhältnis von 1:19 versetzt. (Siehe Tabelle "Recovery" für repräsentative Daten.)

**Spezifität:** Der Assay ist hochspezifisch für Albumin. (Siehe Tabelle "Specificity".)

**Methodenvergleich:** Der Assay wurde unter Verwendung von 124 Patientenproben mit dem Doppelantikörper Albumin RIA von DPC verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 5 bis 60  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

(IML) = 0,92 (DAb) + 1,9  $\mu\text{g}/\text{ml}$   
 $r = 0,972$

Mittelwert:  
24,7  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (IMMULITE)  
24,9  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (Doppel-Antikörper)

### Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre DPC Niederlassung.

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

### Albumina

**Utilidad del análisis:** Para el diagnóstico *in vitro* con los Analizadores IMMULITE e IMMULITE 1000 — 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.

Números de Catálogo: **LKHA1** (100 tests), **LKHA5** (500 tests)

Código del Test: **ALB** 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.<sup>9,10,21</sup> 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 ( $\mu\text{g}/\text{min}$ ) antes de que la nefropatía se haga clínicamente aparente como una proteinuria persistente.<sup>14,21</sup> 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  $\mu\text{g}/\text{min}$ ; consiguientemente, los investigadores típicamente han fijado un intervalo de 15 o 30  $\mu\text{g}/\text{min}$  hasta aproximadamente 150  $\mu\text{g}/\text{min}$  como una definición operativa de la microalbuminuria.<sup>11,12,20</sup>

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  $\beta_2$  en orina.<sup>16</sup>

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.<sup>2,6,17</sup> 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.<sup>1,7,15</sup>

Esto no se cumple en los individuos diabéticos o con hipertensión esencial.<sup>1,8,13,15,18,24</sup> 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.<sup>4,5,19,25</sup>

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.<sup>3</sup> 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.<sup>11,12,14,20,23</sup> 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 µg/min (promedio).<sup>12</sup>

### Principio del análisis

El IMMULITE/IMMULITE 1000 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:** 50 µl orina. (El recipiente de la muestra debe contener, como mínimo, 100 µl más que el volumen total requerido).

**Conservación:** 14 días a 2–8°C.<sup>28</sup> No congelar.<sup>27,28</sup>

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.

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 canerías de cobre y plomo.

**Substrato quimioluminiscente:** Evitar 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.

#### Unidades de análisis de Albúmina (LHA1)

Cada unidad etiquetada con código de barras contiene una bola recubierta de anticuerpos monoclonales murinos anti-HSA (humana suero albúmina). Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

**LKHA1:** 100 unidades.

**LKHA5:** 500 unidades.

Espere a que las bolsas de las unidades de análisis alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlas. Ábralas cortando por el extremo superior, dejando el borde del cierre de cremallera intacto. Vuelva a cerrar las bolsas herméticamente para protegerlas de la humedad.

#### Vial de reactivo de Albúmina (LHA2)

Con códigos de barras. 7,5 ml que contiene fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anticuerpos policlonales de conejo anti-HSA (humana suero albúmina) en solución tampón, con conservante. Guardar tapado y refrigerado: estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad. Se recomienda utilizarlo antes de que pasen 30 días después de abrirlo cuando se guarda según lo indicado.

**LKHA1:** 1 vial. **LKHA5:** 5 viales.

#### 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. **LKHA1:** 1 juego. **LKHA5:** 2 juegos.

### Componentes del kit que se suministran por separado

#### **Diluyente de Albúmina (LHAZ)**

Para la dilución manual de las muestras de los pacientes. Un vial que contiene 25 ml de una matriz proteica, libre de albúmina humana, con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrirse, o hasta 6 meses (alícuotados) a –20°C.

**LSUBX:** Substrato quimioluminiscente

**LPWS2:** Lavado de sonda

**LKPM:** Kit de limpieza de sonda

**LCHx-y:** Soportes de recipientes de muestras (con códigos de barras)

**LSCP:** Recipientes de muestras (desechables)

**LSCC:** Tapas para los recipientes de muestras (opcionales)

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

También necesario

Pipetas de transferencia de muestras; agua destilada o desionizada; 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 o IMMULITE 1000.

Ver el Manual del Operador del IMMULITE o IMMULITE 1000 para: preparación, procesamiento, diluciones, ajuste, procedimientos de ensayo y control de calidad.

Inspeccionar visulamente cada unidad de reacción para asegurarse de que hay una bola antes de introducirla en el Sistema.

**Intervalo de ajuste recomendado:** 2 semanas.

**Muestras de Control de Calidad:** Utilizar controles o pooles 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 doble anticuerpo para albúmina de DPC (ver Comparación del Método), puede esperarse que el ensayo para albúmina IMMULITE 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 ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en µg/ml. (A menos que se especifique lo contrario, todos los resultados se generaron sobre muestras de orina).

**Rango de Calibración:** 2,5 – 60 µg/ml

**Sensibilidad:** 1,0 µg/ml

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

**Linealidad:** Las muestras fueron analizadas en varias diluciones. (Ver la tabla de "Linearity" para resultados representativos.)

**Recuperación:** Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con tres soluciones de albúmina (200, 300 y 400 µg/ml). (Ver la tabla de "Recovery" para resultados representativos.)

**Especificidad:** El ensayo es altamente específico para albúmina humana (Ver la tabla de "Specificity").

**Comparación del Método:** Se comparó el ensayo con el kit de doble anticuerpo para albúmina de DPC en 124 muestras de orina. (Rango de Concentración:

aproximadamente 5 a 60 µg/ml. Ver el gráfico.) Por regresión lineal:

(IML) = 0,92 (DAb) + 1,9 µg/ml  
r = 0,972

Medias:  
24,7 µg/ml (IMMULITE)  
24,9 µg/ml (Doble Anticuerpo)

### Asistencia técnica

Contáctese con su Distribuidor Nacional.

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

---

## Français

---

### IMMULITE 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 les analyseurs IMMULITE et IMMULITE 1000 et constitue une aide au suivi du développement d'une néphropathie diabétique débutante.

Référence catalogue : **LKHA1** (100 tests), **LKHA5** (500 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.<sup>9,10,21</sup> 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.<sup>14,21</sup> 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.<sup>11,12,20</sup>

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  $\beta_2$ -microglobuline.<sup>16</sup>

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.<sup>2,6,17</sup> 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.<sup>1,7,15</sup>

Ceci n'est pas vrai pour les individus atteints de diabète ou d'hypertension importante.<sup>1,8,13,15,18,24</sup> 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.<sup>4,5,19,25</sup>

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.<sup>3</sup> 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.<sup>11,12,14,20,23</sup> 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.<sup>12</sup>

## Principe du test

IMMULITE/IMMULITE 1000 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 :** 50 µl d'urine.

(L'unité-échantillon doit contenir au moins 100 µl de plus que le volume total nécessaire.)

**Conservation :** 14 jours à +2°C/+8°C.<sup>28</sup>  
Ne pas congeler.<sup>27,28</sup>

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.

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. Eliminer les déchets conformément à la réglementation 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 uniquement 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.

#### Tests unitaires Albumine (LHA1)

Avec code-barre. Chaque unité-test contient une bille revêtue d'un anticorps murin anti-HSA (sérumalbumine humaine). Stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption.

**LKHA1**: 100 unités. **LKHA5**: 500 unités.

Porter les sachets à température ambiante avant d'ouvrir. Ouvrir le sachet avec des ciseaux en préservant le dispositif de fermeture. Refermer les sachets pour les protéger de l'humidité.

#### Cartouche à réactif Albumine (LHA2)

Avec code-barres. 7,5 ml contenant de la sérumalbumine humaine marquée à la phosphatase alcaline (intestins de veau) dans un tampon, avec conservateur. Conserver bouché et réfrigéré : stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption. A utiliser de préférence dans les 30 jours qui suivent l'ouverture, si les recommandations de stockage sont

respectées.

**LKHA1**: 1 cartouche.

**LKHA5**: 5 cartouches.

#### 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.

**LKHA1**: 1 jeu. **LKHA5**: 2 jeux.

### Composants du coffret fournis séparément

#### Diluant échantillon Albumine (LHAZ)

Pour la dilution manuelle des échantillons cliniques. Un flacon contenant 25 ml de matrice à base protéique, sans albumine humaine, avec conservateur. Stable à +2°C/+8°C pendant 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à -20°C.

**LSUBX** : Substrat chimiluminescent

**LPWSM** : Solution de lavage

**LKPM** : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

**LCHx-y** : Supports pour godets échantillons (avec code-barre)

**LSCP** : Godets échantillons (à usage unique)

**LSCC** : Bouchons pour godets échantillons (optionnel)

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

Egalement requis

Pipettes pour le transfert des échantillons ; eau distillée ou désionisée ; contrôles.

### 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 ou de l'IMMULITE 1000.

Voir le manuel d'utilisation de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000 pour la préparation, le démarrage du système, les

ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Vérifier visuellement que chaque Unité-Test contient bien une bille avant de la charger dans l'automate.

**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 ( $\mu\text{g}/\text{min}$ ). On l'obtient en multipliant la concentration en  $\mu\text{g}/\text{mL}$  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 Double Antibody Albumine de DPC (Voir méthode de comparaison), le test doit avoir les mêmes valeurs de référence pour les échantillons urinaires, exprimées en microgrammes d'albumine excrétés par minute ( $\mu\text{g}/\text{min}$ ):

de non détectable à 18  $\mu\text{g}/\text{min}$ ,

avec une médiane à environ 6  $\mu\text{g}/\text{min}$ . 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  $\mu\text{g}/\text{min}$ . 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  $\mu\text{g}/\text{min}$  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 du test. Les résultats sont donnés en  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . (En l'absence d'indication contraire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons d'urine.)

**Domaine de mesure :** 2,5 – 60  $\mu\text{g}/\text{ml}$

**Sensibilité analytique :** 1,0  $\mu\text{g}/\text{ml}$

**Précision :** les valeurs ont été établies à partir de doublets dosés dans deux séries différentes chaque jour pendant 20 jours soit au total 40 séries et 80 doublets. (Voir le tableau " Precision ".)

**Linéarité :** les échantillons ont été testés avec des taux de dilution variés. (Voir le tableau " Linearity " pour des données représentatives.)

**Récupération:** les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions albumine (200, 300 et 400  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). (Voir le tableau " Recovery " pour des données représentatives.)

**Spécificité :** le test est hautement spécifique de l'albumine humaine (Voir le tableau " Specificity ".)

**Comparaison de méthodes :** Le test a été comparé au test Double Antibody Albumine de DPC sur 124 échantillons

urinaires (dont les concentrations allaient d'environ 5 à 60 µg/ml. Voir graphique.)  
Par régression linéaire :

(IML) = 0,92 (DAb) + 1,9 µg/ml  
r = 0,972

Moyennes :  
24,7 µg/ml (IMMULITE)  
24,9 µg/ml (Double Antibody)

### Assistance technique

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

---

### Albumina

**Uso:** Per prove diagnostiche *in vitro* con gli Analizzatori IMMULITE ed IMMULITE 1000 — o per l'individuazione e la quantizzazione 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: **LKHA1** (100 test), **LKHA5** (500 test)

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

### Riassunto e spiegazione del Test

La Microalbuminuria è caratterizzata da una escrezione urinaria accresciuta in assenza di nefropatia conclamata<sup>9,10,21</sup> Lo stick convenzionale ed i test di precipitazione dell'acido per l'individuazione 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 normale; ed il tasso deve crescere da 200 a 300 microgrammi al minuto (µg/min) prima che la nefropatia diventi clinicamente evidente come proteinuria persistente.<sup>14,21</sup> 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 µg/min; in maniera analoga, gli studiosi hanno fissato tipicamente un range che si estende da 15 o 30 µg/min fino a circa 150 µg/min come definizione operativa di microalbuminuria.<sup>11,12,20</sup>

Le misurazioni 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<sub>2</sub>-microglobulina.<sup>16</sup>

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.<sup>2,6,17</sup> 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.<sup>1,7,15</sup>

Ciò non corrisponde al vero per individui affetti da diabete o essenzialmente ipertensione.<sup>1,8,13,15,18,24</sup> 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.<sup>4,5,19,25</sup>

L'interesse nelle misurazioni di livelli elevati subclinici del tasso di escrezione dell'albumina è focalizzato su individui con una diagnosi di diabete già definita o ipertensione essenziale.<sup>3</sup> 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.<sup>11,12,14,20,23</sup> Quindi, secondo la letteratura, è molto improbabile

che un diabetico con un livello a riposo di meno di 15 µg/min progredisca nell'arco di 10 anni verso una nefropatia clinica conclamata; mentre diabetici che presentano livelli di albumina a riposo superiori a 15 µg/min anche con buon controllo metabolico presenteranno negli anni livelli accresciuti di circa 25 µg/min.<sup>12</sup>

### Principio del Dosaggio

IMMULITE/IMMULITE 1000 Albumina é un enzima di fase solida, chimico luminescente, immuno-analisi.

**Cicli d'incubazione:** 1 × 30 minuti.

### Raccolta del Campione

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:** 50 µL di urina. (Il porta campioni deve contenere almeno 100 µL più del volume totale richiesto).

**Conservazione:** 14 giorni a 2–8°C.<sup>28</sup> Non congelare.<sup>27,28</sup>

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

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

### Avvertenze e Precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

**Reagenti:** Conservare i reagenti a 2–8°C. Eliminare in conformità alle leggi pertinenti.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati dal sangue umano sono stati testati con esito negativo per la sifilide, gli anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'Antigene di Superficie dell'Epatite B e 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 sono un gruppo accoppiato. Le etichette del codice a barra sono necessarie per la prova.

#### Test Unit Albumina (LHA1)

Ogni unità con codice a barra contiene una biglie coattata con anticorpo monoclonale murino anti-HSA (albumina sierica umana). Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

**LKHA1:** 100 unit. **LKHA5:** 500 unit.

Le buste delle unità di prova devono essere a temperatura ambientale prima di aprire. Aprire tagliando lungo il bordo superiore, lasciando intatto la chiusura ermetica. Risigillare le buste per proteggere contro umidità.

#### Porta Reagente Albumina (LHA2)

Con codice a barre. 7,5 mL contenente fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con anti-HSA (albumina sierica umana) in tampone, con conservanti. Conservare nel frigorifero con il coperchio: stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza. Si consiglia di utilizzare il prodotto entro 30 giorni dall'apertura se conservato nella maniera indicata.

**LKHA1:** 1 porta reagente.

**LKHA5:** 5 porta reagenti.

#### 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 finché 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.  
**LKHA1**: 1 set. **LKHA5**: 2 set.

### I componenti dei kit sono forniti separatamente

#### Diluyente dell'Albumina (LHAZ)

Per la diluizione manuale dei campioni dei pazienti. Un flacone contenente 25 mL di matrice a base proteica priva di albumina umana, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

**LSUBX**: Substrato Chemiluminescente

**LPWS2**: Tampone di lavaggio dell'Ago

**LKPM**: Kit di Pulizia dell'Ago

**LCHx-y**: Vassoi porta campioni (con codice a barre)

**LSCP**: Porta campioni (monouso)

**LSCC**: Coperchi per porta campioni (opzionali)

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

Materiali richiesti

Pipette per la dispensazione dei campioni; acqua distillata o deionizzata; controlli.

### Procedura del Dosaggio

Attenzione: per avere prestazioni ottimali, è importante effettuare le procedure di manutenzione di routine cosiccome definito nel Manuale dell'Operatore IMMULITE o IMMULITE 1000.

Vedi il Manuale dell'Operatore IMMULITE o IMMULITE 1000 per: preparazione, setup, diluizione, calibrazione, dosaggio e controllo di qualità.

Controllate ogni test unit verificando la presenza della sferetta prima di caricarla sullo strumento.

**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 per minuto ( $\mu\text{g}/\text{min}$ ). Ciò si ottiene moltiplicando la concentrazione in  $\mu\text{g}/\text{mL}$  dal volume totale della raccolta di urina (in millilitri) e quindi dividendo per la durata della raccolta (in minuti).

Sulla base del suo rapporto con il kit Double Antibody Albumin kit della DPC (vedi Confronto dei Metodi), 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 per minuto ( $\mu\text{g}/\text{min}$ ):

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. 95% presentavano 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.

Detti valori dovrebbero essere considerati solo come *suggerimento*. 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, poiché 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.

### Dati sulle prestazioni

Vedi tavole e grafici per i dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in µg/mL. (Se non diversamente indicato, tutti i risultati sono stati generati da campioni di urina.)

**Gamma di calibrazione:** 2,5 – 60 µg/mL

**Sensibilità analitica:** 1,0 µg/mL

**Precisione:** Sono stati dosati campioni in doppio in 20 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedi la Tabella "Precision".)

**Linearità:** Sono stati dosati campioni in varie forme diluite. (Vedi la Tabella "Linearity" per dati rappresentativi.)

**Recupero:** Sono stati dosati campioni ai quali sono state aggiunte tre soluzioni di albumina (200, 300 e 400 µg/mL) 1:19. (Vedi la Tabella "Recovery" per dati rappresentativi.)

**Specificità:** Il dosaggio è estremamente specifico per l'albumina umana (Vedi la Tabella "Specificity".)

**Confronto di Metodi:** Il dosaggio è stato paragonato al kit Albumina Doppio Anticorpo su 124 campioni di urina. (Range di concentrazione: da 5 fino a 60 µg/mL. Vedi grafico.) Con regressione lineare:

(IML) = 0,92 (DAb) + 1,9 µg/mL  
r = 0,972

Valore medio:  
24,7 µg/mL (IMMULITE)  
24,9 µg/mL (Doppio Anticorpo)

### Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore DPC Nazionale.

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

---

## Português

---

### Albumina

**Utilização:** Para o diagnóstico *in vitro*, com os Analisadores IMMULITE e IMMULITE 1000 na quantificação de Microalbuminúria, isto é, concentrações de Albumina na urina humana não detectáveis pelos métodos de tira convencionais. É usado como ajuda na monitorização do desenvolvimento da nefropatia diabética incipiente.

Números de catálogo: **LKHA1** (100 testes), **LKHA5** (500 testes)

Código do teste: **ALB**.

Cor: **Castanho**

### Sumário e explicação do teste

A Microalbuminúria é uma situação caracterizada pelo aumento da excreção urinária de albumina na ausência de outras nefropatias.<sup>9,10,21</sup> As tiras convencionais e os testes de precipitação ácida usados para detectar proteínas na urina não têm a sensibilidade necessária para controlar esta situação. As tiras podem indicar *negativo* ou *vestígios* mesmo para taxas de excreção de albumina 10 ou 20 vezes o normal; e a taxa necessita aumentar para 200 or 300 microgramas por minuto (µg/min) antes que a nefropatia se torne clinicamente aparente como proteinúria persistente.<sup>14,21</sup> Estudos publicados baseados em imunoensaios altamente sensíveis para a albumina estabeleceram como limite superior normal para adultos aproximadamente 12 ou 15 µg/min; assim, os investigadores definiram uma zona entre 15 e 30 µg/min para cerca de 150 µg/min como definição operacional de microalbuminúria.<sup>11,12,20</sup>

O doseamento da albumina urinária tem sido usado em conjunto com outros ensaios para ajudar a localizar o local de falha renal. Assim, níveis elevados de albumina urinária são esperados quando o processo de filtração glomerular está com actividade excessiva; a reabsorção tubular comprometida, por outro lado, leva ao aumento dos níveis urinários de pequenas moléculas como; β<sub>2</sub>-microglobulina.<sup>16</sup>

Uma variedade de factores para além da integridade glomerular "exercício por exemplo" podem ter influência nos valores de referência da albumina urinária. Alguns estudos referem que os resultados baseados em amostras noturnas são inferiores aos diurnos ou amostras de 24 horas.<sup>2,6,17</sup> Isto é tentado explicar em termos de diferenças de postura e actividade a que os tempos de colheita reportam. Mas outros estudos demonstraram que o exercício, moderado, não tem efeito significativo na taxa de excreção de albumina em adultos saudáveis.<sup>1,7,15</sup>

Isto pode não ser aplicado a indivíduos com diabetes e hipertensão.<sup>1,8,13,15,18,24</sup> Apesar de diabéticos diagnosticados recentes poderem apresentar níveis basais dentro dos valores normais, os seus níveis de albumina urinários mostram um aumento na resposta ao exercício, uma reacção que pode ser eliminada a curto prazo por um controlo metabólico cuidado.<sup>4,5,19,25</sup>

O interesse no doseamento de subidas sub-clínicas da taxa de excreção de albumina tem sido estudada em indivíduos com um diagnóstico já esbelecido de diabetes or hipertensão.<sup>3</sup> Se for tido em conta cuidados para minimizar a influência do exercício e do baixo control metabólico na taxa de excreção da albumina, o nível de albumina urinário tem provado ser um excelente indicador da progressão para evidente nefropatia tanto em diabetes insulino dependentes como não dependentes.<sup>11,12,14,20,23</sup> Assim e de acordo com a literatura, é pouco provável que um diabético com um nível- em descanso – inferior a 15 µg/min venha a evoluir numa década para nefropatia clinica 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 (em média) 25 µg/min.<sup>12</sup>

### Princípio do procedimento

O IMMULITE/IMMULITE 1000 Albumina é um imunoensaio competitivo de fase sólida, de enzimas quimico-luminosas.

**Ciclos de incubação:** 1 × 30 minutos.

### Colheita

A colheita pode ser de amostras de urina de: 3 horas estabelecidas, noturna ou de 24-horas — sem conservante — recordando o tempo, duração e o volume total da colheita. Agitar bem e retirar um alíquota para análise. As amostras não devem ser acidificadas.

A urina deve ser clarificada por filtração ou centrifugação antes de ser usada. (amostras de sangue não podem ser utilizadas.) Remover a urina sobrenadante do sedimento e agite por turbilhão suave ou inversão. Usar pitetas de ponta descartável.

**Volume de amostra:** 50 µl de urina. (A cuvete de amostra deve conter um mínimo de 100 µl a mais que o volume total exigido.)

**Estabilidade:** 14 dias a 2–8°C,<sup>28</sup> Não congele.<sup>27,28</sup>

Antes de usar, permita que as amostras fiquem à temperatura ambiente (15–28°C). Amostras que estiverem turvas ou possuírem material em partículas devem ser clarificadas através de centrifugação de baixa velocidade.

Consulte o sumário, secção de explicação e valores de referência para informação relacionada com o efeito do exercício e outros factores na determinação 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, dando 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:** Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula do substrato).

**Água:** Use água destilada ou deionizada.

### **Materiais fornecidos**

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. Os códigos de barras no interior das caixas são necessários para o ensaio.

### **Unidades de Teste de Albumina (LHA1)**

Cada unidade identificada com código de barras contém uma pérola revestida com anticorpo monoclonal de rato anti-HSA (albumina de soro humana). Estável até a data de validade a 2–8°C.

**LKHA1:** 100 unidades.

**LKHA5:** 500 unidades.

Antes de abrir as saquetas com Unidades de Teste, deixe que estas atinjam a temperatura ambiente. Corte as saquetas pela borda superior, mantendo o fecho intacto. Feche novamente as saquetas para proteger contra a humidade.

### **Embalagem de reagentes de Albumina (LHA2)**

Com código de barras. Contém 7,5 mL de contendo fosfatase alcalina (de intestino bovino) conjugada com albumina de soro humana em tampão, com conservante. Armazene tapado e refrigerado: Estável até à data de validade a 2–8°C.

Recomenda-se a utilização até 30 dias após aberto quando armazenado de acordo com as indicações.

**LKHA1:** 1 embalagem.

**LKHA5:** 5 embalagens.

### **Ajustes de Albumina (LHAL, LHAH)**

Contém dois frascos (nível alto e baixo) de albumina liofilizada em matriz proteica tamponizada de origem, com conservante.

Pelo menos 30 minutos antes do uso:

Reconstitua cada frasco com **2,0 ml** de água destilada ou desionizada. Misture por inversão ou movimentos lentos até o material liofilizado dissolver completamente. Estável, após a reconstituição, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

**LKHA1:** 1 conjunto. **LKHA5:** 2 conjuntos.

## **Componentes do Dispositivo fornecidos separadamente**

### **Diluyente de amostra para Albumina (LHAZ)**

Para a diluição manual de amostras de doentes. Um frasco com 25 ml de matriz baseada em proteína, sem albumina humana e com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

**LSUBX:** Substrato quimioluminescente

**LPWS2:** Solução de lavagem

**LKPM:** Dispositivo de limpeza do pipetador

**LCHx-y:** Suportes de cuvetes de amostra (com código de barras)

**LSCP:** Cuvetes de amostra (descartáveis)

**LSCC:** Tampa de cuvetes de amostra (opcional)

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

Também necessário :

Pipetas de transferência de amostra; água destilada ou desionizada; controlos.

### **Procedimento de doseamento**

Têr em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador do IMMULITE ou IMMULITE 1000.

Ver o Manual do Operador do IMMULITE ou IMMULITE 1000 para: preparação, setup, diluições, ajustes, procedimento do ensaio e controlo de qualidade.

Confirme a presença da esfera em cada Unidade de Teste antes de a colocar no sistema.

**Intervalo entre ajustes aconselhável:**  
2 semanas.

### **Amostras de controlo de qualidade:**

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

### **Valores de Referência**

Os resultados para albumina são geralmente reportados em 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 pelo valor da colheita (em minutos).

Tendo por base a relação com o Dispositivo da DPC Double Antibody Albumin (ver Comparação de métodos), o ensaio do IMMULITE Albumin podem esperar-se aproximadamente os mesmos valores limites para amostras de urina, expressas em microgramas de albumina excretada por minuto ( $\mu\text{g}/\text{min}$ ):

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

com um valor médio aproximado de  $6 \mu\text{g}/\text{min}$ . Um total de 55 — com tempo anotado— amostras de urina de 3 horas (de manhã) foram colhidas de indivíduos voluntários saudáveis dadores de laboratório em dois laboratórios separados e ensaiados pelo kit de Albumina DA da DPC. 95% apresentaram taxas de excreção inferiores a  $13 \mu\text{g}/\text{min}$ . As amostras de 24 horas bem como as de 3 horas foram colhidas de 20 voluntários num dos dois laboratórios: 90% dos resultados obtidos apresentaram-se inferiores a  $11,5$  e  $12,5 \mu\text{g}/\text{min}$  para as amostras de 24 e 3 horas, respectivamente.

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

### Limitações

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

Amostras com um pH inferior a 4 ou maior que 8 podem originar resultados muito baixos ou muito altos. Amostras acidificadas não podem ser usadas.

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

Amostras com sangue não podem ser utilizadas, mesmo que clarificadas 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 aproximados de 4 000 vezes aos normalmente encontrados na urina

### Características do ensaio

Ver tabelas e gráficos para dados representativos da performance do doseamento. Os resultados são apresentados em  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . (Salvo referência em contrário, todos os dados provêm de amostras de urina.)

**Calibração:**  $2,5 - 60 \mu\text{g}/\text{ml}$

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

**Precisão:** As amostras foram doseadas em duplicado durante 20 dias, 2 ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Ver a tabela de "Precision".)

**Linearidade:** As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearity" para dados representativos.)

**Recuperação:** As amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções de albumina ( $200$ ,  $300$  e  $400 \mu\text{g}/\text{ml}$ ) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery." para dados representativos.)

**Especificidade:** O doseamento é específico para albumina humana. (Ver tabela de "Specificity".)

**Comparação de métodos:** O ensaio foi comparado ao kit de Albumina DA da DPC em 124 amostras de urina. (Zona de trabalho: aproximadamente  $5$  a  $60 \mu\text{g}/\text{ml}$ . Ver gráfico.) Regressão linear:

$(\text{IML}) = 0,92 (\text{DAb}) + 1,9 \mu\text{g}/\text{ml}$   
 $r = 0,972$

Médias:  
 $24,7 \mu\text{g}/\text{ml}$  (IMMULITE)  
 $24,9 \mu\text{g}/\text{ml}$  (Double Antibody)

### 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

2005-04-29

PILKHA – 9



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