

## Uso previsto

Determinazione quantitativa di bassi livelli di albumina nelle urine mediante analisi immunoturbidimetrica. Per utilizzi diagnostici *in vitro*. **Solo su prescrizione.**

## Introduzione

Ogni giorno nelle urine degli individui sani viene escretata una piccola quantità di proteine. Le proteine escrete sono mucoproteine, la maggior parte delle quali viene filtrata dai tubuli uriniferi e dai glomeruli. L'albumina, una proteina con peso molecolare di 50.000 dalton, è difficile da filtrare e viene escretata nell'urina (microalbuminuria).<sup>1,2</sup> Per questo l'escrezione di albumina nelle urine è un utile indicatore di glomerulonefrite incipiente.

La microalbuminuria è una condizione caratterizzata da un'umentata escrezione urinaria di albumina in assenza di una nefropatia conclamata.<sup>3,4</sup> In diversi studi è stato riportato che la microalbumina è un forte predittore per lo sviluppo della nefropatia diabetica e il relativo rischio di mortalità nei pazienti diabetici.<sup>2,5,6,7,8,9</sup> Il rilevamento precoce della microalbuminuria può presentare benefici per i programmi di trattamento dei pazienti diabetici, giacché il danno renale può essere reversibile se il diabete è adeguatamente controllato.

L'albumina nelle urine veniva misurata con diversi metodi. Molti di questi, però, non presentavano la necessaria sensibilità per misurare la microalbumina. L'analisi radioimmunologica (RIA) e l'analisi immunoturbidimetrica assicurano la sensibilità necessaria.<sup>10</sup> Il presente metodo per la microalbumina utilizza un sistema immunoturbidimetrico.

## Principio

Quando si miscela un campione con antisiero caprino anti-albumina umana, la reazione antigene-anticorpo dà luogo ad agglutinazione. La torbidità si misura a 340 nm e a 700 nm e si effettua la rilevazione quantitativa di albumina nel campione.

## Caratteristiche

1. I reagenti non richiedono operazioni di preparazione, come dissoluzione, miscelazione o diluizione.
2. Fino a 30 mg/dl (300ug/ml), il campione non va diluito.
3. Dopo l'apertura, il reagente resta stabile a lungo (1 mese).
4. Buona correlazione con la RIA.
5. Nessuna interferenza da farmaci.
6. Nessun effetto prozona nel consueto intervallo di misurazione.
7. Compatibile con la maggior parte degli analizzatori automatici per analisi chimico-cliniche.

## Composizione del kit

Reagenti (liquido stabile)

R1: Reagente tampone, pH 7,6  
100mM Tris (idrossimetil) amminometano

R2: Reagente antisiero, pH 7,6  
20% Antisiero caprino anti-albumina umana  
100mM Tris (idrossimetil) amminometano

## Avvertenze e precauzioni

1. PER UTILIZZI DIAGNOSTICI IN VITRO.
2. Non indicato per uso interno nell'uomo o negli animali.
3. Adottare le normali precauzioni per la manipolazione dei reagenti di laboratorio.
4. Non mescolare o utilizzare i reagenti di un kit insieme a quelli provenienti da un altro lotto.
5. Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta del rispettivo contenitore.
6. Non pipettare per bocca. Evitare l'ingestione e il contatto con la pelle.

7. I reagenti di questo kit contengono, come conservante, del sodio azide, sostanza che può formare composti esplosivi nelle condotte di scarico metalliche. Quando si smaltiscono i reagenti attraverso le tubature, si raccomanda di sciacquare con abbondanti quantità di acqua.

## Preparazione dei reagenti

I reagenti sono pronti all'uso e non necessitano di ricostituzione.

## Conservazione e manipolazione

Tutti i reagenti vanno conservati in frigorifero (2-8°C). Dopo l'uso, riportare immediatamente i reagenti a 2-8°C. I reagenti non aperti possono essere utilizzati fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta della confezione e del flacone.

## Stabilità dei reagenti

Non utilizzare i reagenti in caso di contaminazione. Non utilizzare i reagenti in presenza di torbidità o di particolato nella soluzione. Non utilizzare i reagenti se l'assorbanza della soluzione salina isotonica è superiore a 0,1 o se l'assorbanza del calibratore da 5,0 mg/dl è inferiore a 0,15. I reagenti aperti possono essere utilizzati per 1 mese se conservati a 2-8°C.

## Raccolta e conservazione dei campioni

Il campione deve essere di urina fresca o delle 24 ore. I campioni di urina vanno conservati in frigorifero (2-8°C). I campioni possono essere conservati in frigorifero fino a due settimane o congelati a -70°C per 5 mesi.<sup>11</sup>

## Utilizzo con analizzatore automatico

Kit adatto all'uso in analizzatori automatici a due reagenti che utilizzano un metodo di calibrazione a due punti. Le misure di assorbanza devono essere effettuate con uno spettrofotometro in grado di leggere accuratamente l'assorbanza a 340 e 700 nm. Consultare il manuale dello strumento per:

- a) Uso o funzioni
- b) Procedure e requisiti di installazione
- c) Principi di funzionamento
- d) Caratteristiche e specifiche delle prestazioni
- e) Istruzioni per il funzionamento
- f) Procedure di calibrazione, compresi materiali e/o attrezzature da utilizzare
- g) Precauzioni e limitazioni operative
- h) Pericoli
- i) Assistenza e manutenzione

## Materiali in dotazione

- |                                       |        |
|---------------------------------------|--------|
| 1. Reagente 1 (R1) Reagente tampone   | 4x20ml |
| 2. Reagente 2 (R2) Reagente antisiero | 2x10ml |

## Materiali necessari non in dotazione

1. Calibratori: kit multi-calibratore per microalbumina, 6 calibratori; valori approssimativi: 0; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0; 30,0 mg/dl (per i valori effettivi, si rimanda alle etichette dei flaconi)
2. Spettrofotometro: in grado di effettuare una lettura accurata dell'assorbanza a 340 e 700 nm con apposite cuvette.
3. Pipette: in grado di erogare con precisione i volumi richiesti
4. Provette: in vetro o plastica
5. Bagnomaria per laboratorio: in grado di mantenere la temperatura di 37°C

## Procedura (automatica)

Consultare le istruzioni per l'utilizzo dello strumento.

## Curva di calibrazione

Per concentrazioni di albumina inferiori a 10 mg/dl, è possibile realizzare una curva di calibrazione a due punti utilizzando un bianco salino (0mg/dl) e uno standard di albumina. Quando si analizza un campione con una concentrazione di albumina più elevata (>10 mg/dl), si raccomanda di realizzare una curva di calibrazione a più punti

# Kit reagenti per microalbumina Pointe

utilizzando il kit multicalibratore di microalbumina. Si raccomanda di eseguire una curva di calibrazione tutti i giorni.

## Controllo qualità

Si raccomanda a tutti i laboratori di analisi cliniche di adottare un programma di controllo della qualità. Si raccomanda di analizzare urine di controllo (normali e patologiche) insieme a ciascun lotto di campioni, per monitorare la procedura. I valori ottenuti per i controlli devono rientrare nell'intervallo specificato dal produttore. Ogni laboratorio può realizzare i propri controlli analizzando le urine per un numero di volte sufficiente a generare una media valida e un intervallo accettabile.

## Calcoli

I livelli di albumina vengono rilevati utilizzando la curva di calibrazione predefinita.

## Limitazioni

L'intervallo misurabile dal kit per l'albumina è di 0,5 mg/dl - 30 mg/dl. Se le concentrazioni di albumina sono superiori a 30 mg/dl, diluire 1 parte del campione con 4 parti di soluzione fisiologica isotonica contenente Tween 20 allo 0,5% e ripetere il test. Moltiplicare i risultati per 5 per compensare la diluizione.

## Prestazioni

- Sensibilità: quando si usa il bianco salino come campione, l'assorbanza è inferiore a 0,05. Quando si analizza un calibratore contenente 5 mg/dl di albumina umana, l'assorbanza (una volta sottratto il valore dell'assorbanza per il bianco salino) risulta compresa nell'intervallo 0,131-0,525.
- Specificità: quando si analizza un campione di urina con un valore noto è di  $\pm 10\%$ .
- Precisione: quando un campione contenente 5 mg/dl di albumina umana viene analizzato 20 volte, il C.V. dell'assorbanza è inferiore al 5%.
- Esame della precisione:

Intra-saggio (n=20)			Inter-saggio (n=20)		
Media	D.S.	C.V.%	Media	D.S.	C.V.%
0,96	0,05	5,2	0,97	0,11	11,3
5,47	0,12	2,2	5,26	0,22	4,2

Intervallo di analisi

0,5-30 mg/dl o 5-300 ug/ml (calibrazione multipunto)

0,5-10 mg/dl o 5-100 ug/ml (calibrazione a due punti)

- Correlazione: è stato eseguito un confronto tra questo kit per microalbumina e quello di Kamiya, utilizzando l'analizzatore automatico Hitachi 717. I risultati del test hanno fornito i seguenti dati. Tutti i valori sono espressi in mg/dl di albumina.  
 $y = 1,0738x + 0,01555$   
 $r = 0,995$ , (n=74, interv.= 0,9-20,7)  
x = kit di Kamiya y = questo kit per microalbumina  
x min = 0,900 y min = 1,000  
x max = 20,7 y max = 22,7  
x medio = 5,88 y medio = 6,33

## Interferenze

Acido ascorbico: nessuna interferenza fino a 200 mg/dl (< 5%)  
Glucosio: nessuna interferenza fino a 3,0 g/dl (< 15%)  
Acido urico: nessuna interferenza fino a 100 mg/dl (< 5%)  
Creatinina: nessuna interferenza fino a 300 mg/dl (< 8%)  
Creatina: nessuna interferenza fino a 100 mg/dl (< 5%)  
Calcio: nessuna interferenza fino a 30,0 mM (< 8%)  
NaCl: nessuna interferenza fino a 900 mg/dl (< 15%)  
Mg: nessuna interferenza fino a 30 mM (< 5%)  
KCl: nessuna interferenza fino a 300 mg/dl (< 5%)  
Urea: nessuna interferenza fino a 3,0 g/dl (< 8%)

## Valori attesi

Il valore atteso per la microalbumina è 30-300 mg/24 ore. <sup>9</sup> Si consiglia a ciascun laboratorio di definire il proprio intervallo di valori attesi.

## Riferimenti bibliografici

- Harmonien, A., et al. Clinica Chimica Acta. 149:269-274 (1985).
- Mogensen, C.E., N. Engl. J. Med. 310:356-360 (1984).
- Mogensen, C.E., et al, Diabetes 32 (Suppl2): 64 (1983).
- Viberti, G.C., et al, Kidney International 21:714 (1982).
- Viberti, G.C., et al, Lancet. 1430-32, (1982).
- Mogensen, C.E., Christensen, C.K., N. Engl. J. Med. 311:89-93 (1984).
- Schmitz, A., Vaeth, M., Diabetic Medicine 5:126 (1988).
- Mogensen, C.E., Schmitz, A. Med. Clin. North Amer. 72:1465-92 (1988).
- Stephenson, J.M., et al, Diab. Med. 12:149-155 (1995).
- Killingsworth, L.M. and Savory, J.J., Clin. Chem. 19:403-407 (1973).
- Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders, Philadelphia, PA., p. 799 (1999)

## Legenda

Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)	<b>LOT</b> Codice lotto e gruppo
<b>REF</b> N. catalogo	Fabbricante
<b>IVD</b> Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	Limiti di temperatura
Consultare il manuale utente	<b>Rx Only:</b> utilizzare solo su prescrizione
<b>CE</b> Marchio CE	<b>EC REP</b> Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea

<b>REF</b> M7562		Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated 5449 Research Drive Canton, MI 48188		2°C - 8°C	
------------------	--	---	--	-----------	--

Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated: Marchio Pointe  
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Rappresentante autorizzato per l'Europa:  
Obelis s.a.  
Boulevard Général Wahis 53  
1030 Bruxelles, BELGIO  
tel: (32)2.732.59.54 fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



## Reagenti certificati

I reagenti Pointe sono certificati per essere stati prodotti conformemente ai parametri specificati. Se entro la data di scadenza un reagente Pointe dovesse risultare non conforme alle specifiche, sarà prontamente sostituito senza alcun addebito.