

K-ASSAY®



Microalbumin

Souprava pro kvantitativní stanovení nízkých hladin albuminu v moči

Obj.č. KAI-019/KAI-057

ÚČEL POUŽITÍ

Souprava je určena ke kvantitativnímu určení nízkých hladin albuminu v moči imunoturbidimetrickou analýzou. POUZE PRO POUŽITÍ *IN VITRO*.

ÚVOD

U zdravých jedinců dochází denně k vylučování malého množství bílkoviny do moči. Jedná se o mukoproteiny, většina z nich je v tubulech a glomerulech z moči filtrována. Albumin, bílkovina o molekulové váze 50000 je filtrována obtížněji a dochází proto k jejímu vylučování do moči (mikroalbuminurie)^{1,2}. Exkrece albuminu do moči tak slouží jako užitečný indikátor raného glomerulárního onemocnění.

Mikroalbuminurie je stav, charakterizovaný zvýšenou exkrecí albuminu do moči za nepřítomnosti zjevné nefropatie^{3,4}.

V několika studiích byl mikroalbumin popsán jako indikátor možného vzniku diabetické nefropatie a nebezpečí ohrožení života u diabetických pacientů. Jelikož mikroalbuminurie je vratný jev, pokud je diabetes kontrolován, je včasná detekce mikroalbuminu velmi prospěšná pro léčebné programy tohoto onemocnění.

Albumin v moči lze měřit různými metodami, mnohé z nich však nejsou dostatečně citlivé. Potřebnou citlivost poskytuje radioimunoanalýza (RIA) a imunoturbidimetrie. Souprava **K-ASSAY®** MICROALBUMIN používá imunoturbidimetrickou metodu.

PRINCIP TESTU

Při smíchání vzorku s antisérem, obsahujícím kozí protilátka proti lidskému albuminu, dochází v důsledku reakce antigenu s protilátkou k aglutinaci. Turbidita se měří při 340 nm a 700 nm a albumin ve vzorku je tak kvantitativně stanoven.

CHARAKTERISTIKA

1. K přípravě reagensů není zapotřebí žádné speciální přípravy, jako je rozpouštění, míchání nebo ředění.

- Vzorky až do koncentrace 30 mg/dl (300 µg/ml) není třeba ředit.
- Dlouhá stabilita reagensů po otevření (až 1 měsíc).
- Dobrá korelace s RIA metodou.
- Nedochází k interferencím s léčivými.
- Při běžném měřicím rozsahu nedochází k prozónovému efektu.
- Souprava je kompatibilní s většinou biochemických analyzátorů.

SLOŽENÍ SOUPRAVY

Reagencie (v kapalném stavu)

R1: Pufr, pH 7.6

100 mM Tris(hydroxymetyl)aminometan

R2: Antisérum, pH 7.6

20% kozí antisérum proti lidskému albuminu

100 mM Tris(hydroxymetyl)aminometan

DŮLEŽITÁ UPOZORNĚNÍ

POUZE PRO POUŽITÍ *IN VITRO*

Činidla nesmí být používána vnitřně u zvířat ani u lidí. Dodržujte běžné zásady pro zacházení s laboratorními činidly.

Nepoužívejte společně reagensy ze souprav, majících různé šarže. Nepoužívejte reagensy s prošlou expirací (údaj je uvedený na obalu).

Nepipetujte ústy. Zabraňte požití a potřísnění kůže.

Reagensy, obsažené v soupravě, obsahují jako konzervans azid sodný. Azid sodný může tvořit v kovovém odpadním potrubí explozivní sloučeniny. Proto reagensy při odstraňování naředte dostatečným množstvím vody.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Reagensy jsou připraveny k použití a není třeba je rekonstituovat.

Uskladnění a manipulace

Všechny reagensie musí být skladovány v lednici (2 – 10°C). Po použití všechny reagensie co nejdříve uložte zpátky do lednice (2 – 10°C). Neotevřené reagensie se mohou použít do 1 roku od data výroby, dle data expirace na balení a štítku na lahvičce. Kalibrátor musí být během skladování uzavřený, aby se zamezilo odpařování.

Stabilita reagensií

Dojde-li ke kontaminaci reagensií, zlikvidujte je. Viditelný zákal nebo částice přítomné v roztoku jsou důvodem pro jeho likvidaci. Je-li absorbance fyziologického roztoku větší než 0,1 nebo je-li absorbance kalibrátoru o koncentraci 5,0 mg/dl menší než 0,15, reagensie nepoužívejte. Otevřené reagensie se mohou používat po dobu jednoho měsíce, pokud jsou uskladněny při teplotě 2 - 10°C.

INTERFERENCE

Kyselina askorbová, glukóza, kyselina močová, kreatin, Ca, NaCl, Mg, KCl ani močovina s analýzou neinterferují.

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU

Jako vzorek používejte čerstvou moč nebo moč odebíranou po 24 h.. Vzorky moči skladujte v chladu (2 – 10°C). Při této teplotě lze vzorky skladovat až 1 týden, pokud se zamrazí na teplotu –20°C až 1 rok.

Pro skladování vzorků používejte plastové zkušavky, ne skleněné.

APLIKACE NA BIOCHEMICKÉ ANALYZÁTORY

Souprava je vhodná pro biochemické analyzátory, pracující s dvoureagenčními metodami při dvoubodové kalibraci. Pro měření absorbance je nutný spektrofotometr, odečítající absorbanci při 340 a 700 nm. Údaje o dalších vlastnostech přístroje, souvisejících s použitím soupravy na analyzátoru, vyhledejte v návodu k použití od výrobce viz:.

a) účel použití nebo funkce přístroje

- b) instalace přístroje a požadavky na instalaci
- c) principy činnosti
- d) charakteristiky a specifikace výkonu
- e) návod k použití
- f) provádění kalibrace, včetně materiálu a nutného vybavení
- g) provozní upozornění a omezení
- h) možná rizika
- i) servis a údržba

PROVEDENÍ TESTU

Materiál obsažený v soupravě

KAI-019 Microalbumin

Reagent 1 (R-1) pufr	4 x 20 ml
Reagent 2 (R-2) antisérum	2 x 10 ml

KAI-057 Microalbumin (L)

Reagent 1 (R-1) pufr	3 x 80 ml
Reagent 2 (R-2) antisérum	1 x 80 ml

Materiál nutný k provedení testu, který ale není součástí soupravy

Kalibrátory: Souprava **K-ASSAY[®]** MICROALBUMIN Multi-Calibrator, obj. č. KAI-020C, 6 kalibrátorů; přibližné hodnoty: 0, 0,5, 1,0, 5,0, 10,0, 30,0 mg/dl (aktuální hodnoty viz. příbalový leták)

Spektrofotometr: schopný přesného měření absorbance při 340 nm a 700 nm, s vhodnými kyvetami.

Pipety: pro přesné dávkování požadovaných objemů.

Zkušavky: skleněné nebo plastové

Vodní lázeň: lze nastavit stálou teplotu 37°C

Postup měření

Příklad aplikace na biochemický analyzátor (Hitachi 717):

Vzorek 10 µl

KAMIYA BIOMEDICAL COMPANY

- ↓
- ←--- R1 (Pufr) 300 µl
- ↓ 37°C, 5 min.
- ←--- R2 (Antisérum) 100 µl
- ↓ 37°C, 5 min.
- 2-point endpoint, 340/700 nm

Poznámka: Nechejte všechny reagenty a vzorky zahřát na pokojovou teplotu. Před použitím všechny reagenty opatrně promíchejte.

Automatizovaná metoda (příklad)

Nastavení pro biochemický analyzátor

Přístroj s vícebodovou kalibrací :	Hitachi 717
Teplota:	37°C
TEST	(Micro-Alb)
KÓD ANALÝZY	(2 POINT):(24)-(50)
OBJEM VZORKU	(10)-(10)
OBJEM R1	(300) (20) (NO)
OBJEM R2	(100) (20) (NO)
VLNOVÁ DÉLKA	(700)-(340)
KALIB. METODA	(NONLINEAR)(4)(6)
STD.(1) KONC.-POS.	(0.00)-(1)
STD.(2) KONC.-POS.	(*1)-(2)
STD.(3) KONC.-POS.	(*2)-(3)
STD.(4) KONC.-POS.	(*3)-(4)
STD.(5) KONC.-POS.	(*4)-(5)
STD.(6) KONC.-POS.	(*5)-(6)
SD LIMIT	(999)
DUPLIKAČNÍ LIMIT	(10000)
LIMIT CITLIVOSTI	(0)
ABS. LIMIT (SLOPE)	(32000)(INCREASE)
PROZÓNOVÝ LIMIT	(-32000)(LOWER)
OČEKÁVANÉ HODNOTY	(-99999)(99999)
VÝSTRAŽNÉ HODNOTY	(-99999)(99999)
FAKTOR PŘÍSTROJE	(1.00)

Parametry pro jiné biochemické analyzátoři Vám dodáme na vyžádání.

Kalibrační křivka

Pokud je koncentrace albuminu menší než 10 mg/dl, lze použít dvoubodovou kalibrační křivku – využije se fyziologický roztok

jako slepá zkouška (0 mg/dl) a standard albuminu. Pokud je koncentrace albuminu ve vzorku vyšší (> 10mg/dl), doporučujeme provést vícebodovou kalibraci pomocí soupravy **K-ASSAY[®]** MICROALBUMIN Multi-Kalibrátor. Doporučujeme, aby si uživatel stanovil četnost kalibrací v závislosti na přístroji, typu a počtu dalších vyšetření. Zpočátku provádějte kalibraci každý den

Kontrola kvality

Doporučujeme provádět kontrolu kvality ve všech klinických laboratořích. S každou sérií vzorků by se měly měřit kontrolní moče, jak normální tak abnormální. Je tak zaručen správný průběh měření.

Naměřené hodnoty musí spadat do rozsahu specifikovaného výrobcem. Laborať si může vytvořit své vlastní kontrolní moče. Vzorek moči musí projít dostatečným počtem měření, aby se dal stanovit platný průměr a přijatelný rozsah měření.

HODNOCENÍ

Výpočty

Hladina albuminu ve vzorku se určí pomocí připravené kalibrační křivky.

OMEZENÍ

Měřicí rozsah testu je 0,5 – 30 mg/dl. Je-li koncentrace albuminu větší než hodnota nejvyššího kalibrátoru, zředte 1 díl vzorku 4 díly fyziologického roztoku včetně 0,05 % Tween 20 a měření opakujte. Výsledek vynásobte 5.

PARAMETRY SOUPRAVY

Citlivost

Použijete-li místo vzorku fyziologický roztok (slepá zkouška), absorbance je menší než 0,05. Kalibrátor, obsahující lidský albumin o koncentraci 5 mg/dl, má absorbanci mezi 0,131 a 0,525 (po odečtení absorbance slepé zkoušky).

Specifita

Při testování vzorku se známou hodnotou se změřená hodnota odlišuje o ± 10 %.

Přesnost

Pokud vzorek, obsahující 5 mg/dl lidského albuminu, 20 x

KAMIYA BIOMEDICAL COMPANY

opakovaně měříme, je C.V. absorbance menší než 5 %.

Výsledky testování přesnosti:

(Po sobě jdoucí měření)

<u>Vzorek č.I</u>	<u>Vzorek č.II</u>	<u>Vzorek č.III</u>	<u>Vzorek č.IV</u>
N=10	N=10	N=10	N=10
Stř. hodnota:	Stř. hodnota:	Stř.hodnota:	Stř.hodnota:
0,372	0,574	0,959	1,926
SD=0,008	SD=0,010	SD=0,016	SD=0,023
CV=2,12%	CV=1,68%	CV=1,66%	CV=1,20%

Výsledky testování přesnosti:

(Mezi jednotlivými cykly měření)

<u>Vzorek č.I</u>	<u>Vzorek č.II</u>	<u>Vzorek č.III</u>
N=7	N=7	N=7
Stř. hodnota:	Stř. hodnota:	Stř.hodnota:
1,62	4,93	11,11
SD=0,016	SD=0,042	SD=0,018
CV=1,01%	CV=0,85%	CV=1,62%

Rozsah měření

0,5-30 mg/dl nebo 5-300 µg/ml (vícebodová kalibrace)

0,5-10 mg/dl nebo 5-100 µg/ml (dvoubodová kalibrace)

Korelace

Provedli jsme srovnání souprav **K-ASSAY[®]** Microalbumin a Beckman MA Microalbumin na biochemickém analyzátoru Hitachi 717 a nefelometru firmy Beckman Coulter Array. Výsledkem testu jsou následující údaje. Všechny hodnoty jsou v mg/dl albuminu:

$$y = 0.8693x + 12,850$$

$$r = 0.99435, n = 33$$

x = Beckman MA

x min = 2,04

x max = 2990

x stř.hodnota = 313,949

$$y = \text{K-ASSAY}^{\text{®}} \text{ MICROALBUMIN}$$

y min = 1,4

y max = 2464

y stř.hodnota = 285,77

INTERFERENCE

K-ASSAY[®] Microalbumin

Bilirubin: Do 20 mg/dl neinterferuje

Hemoglobin: Do 500 mg/dl neinterferuje

Lipemie: Do 5% neinterferuje

FYZIOLOGICKÉ HODNOTY

Fyziologické množství albuminu v moči vyloučené za 24 h. je pod 2,1 mg/dl. Tato hodnota byla získána pomocí soupravy **K-ASSAY[®]** MICROALBUMIN ze vzorků normální moči od 250 zdravých dárců. Každá laboratoř by si měla pro používání soupravy definovat vlastní fyziologický rozsah.

LITERATURA:

1. Harmoinen, A., *et al. Clinica Chimica Acta.* 149:269-274, 1985.
2. Morgensen, C.E., *N. Engl. J. Med.* 310:356-360, 1984.
3. Morgensen, C.E., Christensen, C.K., *N. Engl. J. Med.* 311: 89-93, 1984.
4. Viberti, G.C., *et al. Lancet.* 1430-32, 1982.
5. Horita, A. *Modern Medicine.* 17:66, 1988.
6. Killingsworth, L.M. and Savory, J. *J. Clin. Chem.* 19:403-407, 1973.
7. Sternberg, J.C., *Clin. Chem.*, 23:1444-56, 1977.

OBJEDNÁVKY/CENY/ TECHNICKÉ INFORMACE:

Zplnomocněný zástupce

Asvena Ltd.

Tower Business Centre, 2nd Flr.,

Tower Street, Swatar, BKR 4013 Malta

Výrobce

KAMIYA BIOMEDICAL COMPANY

Seattle, WA 98188 USA

www.kamiyabiomedical.com