



Microalbúmina

Método inmunoturbidimétrico para la determinación cuantitativa de microalbuminuria

SIGNIFICACION CLINICA

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

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

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

FUNDAMENTOS DEL METODO

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

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución fisiológica tamponada, pH 7,6.

B. Reactivo B: anticuerpos monoespecíficos (cabra) anti-albúmina humana.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Solución fisiológica.

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

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

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

MUESTRA

Orina

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

b) Aditivos: no se requieren.

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

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

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

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

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

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro

- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas

- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados

- Tubos de Kahn o hemólisis

- Baño de agua a 37°C

- Cronómetro

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 340 nm

- Temperatura de reacción: 37°C

- Tiempo de reacción: 10 minutos

- Volumen de muestra: 70 µl

- Volumen final de reacción: 1,27 ml

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

PROCEDIMIENTO

CURVA DE CALIBRACION

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

VALORES DE REFERENCIA

Excreción urinaria de Albúmina

mg/24 hs	ug/min	mg/g de Creatinina
< 30	< 20	< 30
30-300	20-200	30-300
> 300	> 200	> 300

Normal
Microalbuminuria
Albuminuria clínica

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

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

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

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

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

PERFORMANCE

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

Precisión intraensayo

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

Precisión total

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

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

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

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

Microalbúmina Calibrador diluido	70 ul
Reactivo A	1000 ul
Homogeneizar e incubar 5 minutos a 37°C. Leer la absorbancia de cada dilución a 340 nm (DO ₁) llevando el aparato a cero con agua destilada. Luego agregar:	
Reactivo B	200 ul
Homogeneizar. Incubar 5 minutos exactos a 37°C e inmediatamente leer la absorbancia a 340 nm (DO ₂), llevando el aparato a cero con agua destilada. Calcular la diferencia de absorbancia ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) para cada dilución del Calibrador, incluyendo el punto cero. Representar en papel milimetrado las diferencias de absorbancia (ΔA) en función de la concentración en mg/l de Microalbúmina Calibrador.	
PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS En tubos de Kahn debidamente marcados, colocar:	
Muestra	70 ul
Reactivo A	1000 ul
Homogeneizar e incubar 5 minutos a 37°C. Leer la absorbancia a 340 nm (DO ₁) llevando el aparato a cero con agua destilada. Luego agregar:	
Reactivo B	200 ul
Homogeneizar. Incubar 5 minutos exactos a 37°C e inmediatamente leer la absorbancia a 340 nm (DO ₂), llevando el aparato a cero con agua destilada.	

CALCULO DE LOS RESULTADOS

1) Calcular la diferencia de absorbancia ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) correspondiente a cada muestra analizada. Interpolarse ΔA en la curva de calibración para determinar la concentración de MAIb (mg/l) correspondiente a la muestra estudiada.

Las muestras con absorbancias superiores al último punto de calibración deben ser diluidas (1:2 ó 1:4) con solución fisiológica y procesadas nuevamente. Multiplicar el resultado obtenido por la dilución efectuada.

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

siendo:

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

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

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

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

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Microalbúmina Control 2 niveles Turbitest AA.

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

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

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Referirse a las adaptaciones específicas de cada analizador.

PRESENTACION

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

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

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


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

BIBLIOGRAFIA


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

SIMBOLOS


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

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

 Representante autorizado en la Comunidad Europea


 Uso diagnóstico "in vitro"


 Contenido suficiente para <n> ensayos


 Fecha de caducidad

 Límite de temperatura (conservar a)

 No congelar

 Riesgo biológico


 Volumen después de la reconstitución

 Contenido


 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Caústico


 Irritante


 Consultar instrucciones de uso


 Calibrador

 Control

 Control Positivo

 Control Negativo

 Número de catálogo

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



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina