



Microalbumin

Finalidade

Método imunoturbidimétrico para a determinação quantitativa de microalbuminúria.

Significado clínico

A microalbuminúria é o aumento de excreção urinária de albumina acima dos níveis normais mas em ausência de nefropatia clínica manifestada. Define-se como a excreção de 30 a 300 mg de albumina em 24 horas (20-200 ug/min) em 2 de 3 coletas urinárias realizadas num período de poucas semanas.

A determinação de microalbumina (MAIb) é importante no seguimento de pacientes diabéticos posto que permite detectar antecipadamente àquelas pessoas com risco de desenvolver doença renal progressiva, permitindo assim a aplicação de medidas terapêuticas apropriadas. Na atualidade, a microalbuminúria é reconhecida como um fator de risco independente de doença cardiovascular em pacientes com e sem diabetes.

Fundamentos do método

A albumina reage com o anticorpo específico formando imunocomplexos insolúveis. A turbidez produzida pelos imunocomplexos é proporcional à concentração de albumina na amostra e pode ser lida com espectrofotômetro.

Reagentes fornecidos

A. Reagente A: solução fisiológica tamponada, pH 7,6.

B. Reagente B: anticorpos mono específicos (cabra) anti-albumina humana.

Calibrador: solução de albumina humana, com conservantes apropriados.

Reagentes não fornecidos

- Solução fisiológica

Instruções de uso

Reagentes A e B: prontos para uso.

Calibrador: pronto para uso.

Antes de realizar a prova, inverter o frasco várias vezes evitando a formação de espuma. Extrair só a quantidade de Calibrador a utilizar. Não devolver o material utilizado ao frasco original.

Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Evitar a ingestão e contato com a pele.

O calibrador foi preparado partindo do material não reativo para antígeno de superfície de hepatite B (HBsAg) e anticorpos contra o vírus da hepatite C (HCV) e da imunodeficiência humana (HIV). No entanto, o Calibrador deve ser manipulado como se tratando de material infectante.

Todas as amostras de pacientes devem ser manipuladas como se tratando de material infectante.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

Estabilidade e instruções de armazenamento

Reagentes Fornecidos: estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem. Não congelar.

Uma vez aberto, o Calibrador é estável por 4 semanas sob refrigeração (2-10°C). Manter o frasco bem fechado e sob refrigeração após do seu uso. Evitar qualquer ação que possa contaminar o Calibrador.

Amostra

a) Coleta: obter a amostra da maneira habitual.

Pode ser utilizada tanto a primeira urina da manhã, como urinas de 3, 8, 12 ou 24 horas de coleta.

As amostras não se podem coletar após de realizar exercício físico, em caso de infecção do trato urinário, durante doença aguda, após duma cirurgia ou sobrecarga líquida aguda.

b) Aditivos: não são necessários.

c) Estabilidade e instruções de armazenamento: as amostras podem ser conservadas durante 7 dias sob refrigeração (2-10°C) ou 2 meses congeladas (a -20°C).

Interferências

Não são observadas interferências por creatinina até 440 mg/dl, ureia até 4500 mg/dl, bilirrubina até 25 mg/dl (250 mg/l), ácido ascórbico até 500 mg/dl, nem IgG até 2300 mg/dl. Não se devem utilizar amostras de urina contendo hemoglobina e/ou sangue.

Amostras com turbidez devem ser centrifugadas, utilizando somente o sobrenadante para realizar a prova.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro.

- Cubetas espectrofotométricas de faces paralelas.

- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.

- Tubos de Kahn ou hemólise.

- Banho-maria a 37°C.

- Relógio ou timer.

Condições de reação

- Comprimento de onda: 340 nm

- Temperatura de reação: 37°C

- Tempo de reação: 10 minutos

- Volume de amostra: 70 ul

- Volume final de reação: 1,27 ml

Os volumes de amostra e reagentes podem variar-se proporcionalmente, sem que sejam

alterados os fatores de cálculo.

Procedimento

Curva de calibração

Em tubos de Kahn, realizar as seguintes diluições em solução fisiológica do Calibrador: 1/1; 1/2; 1/4; 1/8 e 1/16 utilizando solução fisiológica como ponto zero.

Calibrador diluído	70 ul
Reagente A	1000 ul

Homogeneizar e incubar 5 minutos a 37°C. Ler a absorbância de cada diluição a 340 nm (DO₁) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

Reagente B	200 ul
------------	--------

Homogeneizar. Incubar 5 minutos exatos a 37°C e logo após ler a absorbância a 340 nm (DO₂) zerando o aparelho com água destilada.

Calcular a diferença de absorbância ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) para cada diluição do Calibrador, incluindo o ponto zero.

Representar numa folha de papel marcada com milímetros as diferenças de absorbância (ΔA) em função da concentração em mg/l de Calibrador.

Procedimento para amostras

Em tubos de Kahn corretamente marcados, colocar:

Amostra	70 ul
Reagente A	1000 ul

Homogeneizar e incubar 5 minutos a 37°C. Ler a absorbância a 340 nm (DO₁) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

Reagente B	200 ul
------------	--------

Homogeneizar. Incubar 5 minutos exatos a 37°C e logo após ler a absorbância a 340 nm (DO₂) zerando o aparelho com água destilada.

Cálculo dos resultados

1) Calcular a diferença de absorbância ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) que corresponde a cada amostra analisada. Interpolar os dados (ΔA) na curva de calibração para determinar a concentração em mg/dl (g/l) que corresponde à amostra estudada.

As amostras com absorbância superior a do último ponto de calibração, devem ser diluídas (1:2 ou 1:4) com solução fisiológica e processadas novamente. Multiplicar o resultado obtido pela diluição realizada.

2) MAIb em urina (mg/24 hs) = MAIb (mg/l) x V

sendo:

V = volume da diurese expresso em litros/24 hs

3) Para evitar a necessidade de cronometrar a coleta de urina, utiliza-se a **Relação MAIb/Creatinina**:

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

Sendo 1000 o fator de conversão de mg a g de Creatinina.

Exemplo:

1) Curva de calibração

	Valor teórico	DO
Calibrador 0	0	0.000
Calibrador 1	13.75	0.112
Calibrador 2	27.5	0.157
Calibrador 3	55	0.256
Calibrador 4	110	0.440
Calibrador 5	220	0.710

2) MAIb em urina (mg/24 hs)

Diurese (V) = 1,4 litros/24 hs

Concentração MAIb encontrada = 35 mg/l

MAIb em urina = 35 mg/l x 1,4 l/24 hs = 49 mg/24 hs

3) Relação MAIb/Creatinina

Concentração MAIb encontrada = 35 mg/l

Creatinina (urina) = 0,778 g/l = 778 mg/l

35 mg/l

MAIb/Creatinina = 1000 mg/g x =
45 mg/g

778 mg/l

Método de controle de qualidade

Microalbumin Control de Laborlab.

Os controles são processados da mesma maneira que as amostras.

Valores de referência

Excreção urinária de Albumina

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

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios intervalos de referência, dentro de sua população de pacientes. Os resultados de microalbuminúria devem ser avaliados em conjunto com a história clínica do paciente, o exame médico e outras características de laboratório.

Limitações do procedimento

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA.

Recomenda-se realizar uma re-calibração completa, quando é utilizado outro lote de reagente ou quando seja necessário segundo o controle de qualidade.

Para evitar problemas de prozona em amostras com excesso de antígeno, é recomendável que todas as amostras sejam provadas com tiras reativas prévio ao ensaio. As amostras com níveis de proteínas superiores a 250 mg/l deverão ser diluídas em solução fisiológica a fim de que o nível medido fique dentro da faixa de medição.

A fim de preservar a integridade dos reagentes devem-se evitar as contaminações, utilizando para a medição unicamente micropipetas preferivelmente limpas e secas.

Desempenho

a) Reprodutibilidade: determinou-se através de uma modificação do protocolo EP5-A do CLSI. Processou-se uma amostra controle e amostras com diferentes níveis de microalbuminúria. Com os dados obtidos, calcularam-se as precisões intra-ensaio e total.

Precisão intra-ensaio

	Nível	D.P.	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 %

Precisão total

	Nível	D.P.	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) Limite de detecção: é a mínima quantidade do analito capaz de ser detectada como uma amostra distinta de zero. Corresponde à concentração 0,7 mg/l de MAIb.

c) Faixa de medição: corresponde ao intervalo de valores exatamente quantificáveis e compreende desde 4 mg/l até o último ponto de calibração (aproximadamente 250 mg/l).

d) Fenômeno prozona: não é evidente o efeito até 2700 mg/l de MAIb.

Os dados de desempenho obtiveram-se empregando analisador automático Konelab 60i, portanto estes valores podem variar cada vez que seja utilizado outro analisador ou técnica manual.

Parâmetros para analisadores automáticos

Vide as adaptações específicas para cada tipo de analisador.

Apresentação

30 ml:

- 1 x 25 ml **Reagente A**

- 1 x 5 ml **Reagente B**

- 1 x 1 ml **Calibrador**

(Código 1770420)

Referências

- Collins, AC. et al. - Diabetologia 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. (5ª Edition) WB Saunders, 2001.

- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCPress, 5ª ed., 2000.

Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.

SÍMBOLOS



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado na Comunidade Europeia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após da reconstituição



Conteúdo



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar as instruções de uso



Calibrador



Controle



Controle Positivo



Controle Negativo



Número de catálogo



Produtos para Laboratórios Ltda.
Estrada do Capão Bonito, 489
Guarulhos - SP - Brasil - CEP: 07263-010
CNPJ: 72.807.043/0001-94
Atendimento ao cliente:
+55 (11) 2480 0529/+55 (11) 2499 1277
sac@laborlab.com.br
www.laborlab.com.br