

# НАБІР ІФА ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ МІКРОАЛЬБУМІНУ

## ORG 5MA, Micro-Albumin

Каталог. №: **ORG 5MA**

Методика від **08-2012**

Кількість : **96**

Виробник : **ORGENTEC GmbH,**  
(Німеччина)



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

### НАЗВА ТА ПРИЗНАЧЕННЯ

Мікроальбумін є конкурентною тестовою ІФА системою для кількісного визначення людського альбуміну в сечі.

Цей продукт призначений для професійного діагностичного *in vitro* використання.

### ПРИНЦИП ТЕСТУ

Високо очищений людський альбумін прищеплений до мікрочайок. Калібратори, контролю і нерозбавлені зразки пацієнтів піпетують з анти-людським альбумін-пероксидаза кон'югатом в ячейки. Мікроальбумін, якщо присутній в розведеній сечі, конкурує з прив'язаним альбуміном за зв'язування з кон'югатом анти-альбуміну. Промивання мікрочайок видаляє неактивні компоненти сироватки. Ферментний субстрат при присутності зв'язаного кон'югату гідролізується для формування блакитного забарвлення. Додавання кислоти зупиняє реакцію, формуючи жовтий кінцевий продукт. Інтенсивність цього жовтого кольору прямо пропорційна концентрації альбуміну, присутнього у зразку.

### КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Білки, що проходять через клубочкову базальну мембрану нирок, піддаються диференціальній фільтрації. Проникність обернено пропорційна молекулярній вазі (альбумін близько 0,6%, міоглобін близько 75%). Тим не менше, тільки мінімальна кількість білків визначається в сечі, тому що велика кількість адсорбується в каналцях. Підвищена клубочкова проникність білків і висока елімінація білків плазми можуть бути диференційовані при вимірюванні розподілу молекулярного ваги еліминувати білків.

Структура елімінованих білків у сечі дає інформацію про:

- Підвищену елімінацію білків
- Диференціацію протенурії
- Попередню діагностику хвороб нирок
- Клубочкову або каналцеву протенурію

Діагностично значущі білки:

- IgG (MM 150000)
- Альбумін (MM 66000)
- Альфа-1-мікроглобулін (MM 33000)
- Ретинол зв'язуючий білок (MM 21000)
- Бета-2-мікроглобулін (MM 12000)
- Легкі цілі імуноглобулінів (білок Bence-Jones) (MM 22000)

Альбумін має відносну молекулярну масу 66000 D. Він міститься в сечі в дуже малих концентраціях. У разі дуже активного клубочкового процесу фільтрації секреція альбуміну може зростати без виникнення захворювань нирок. Ця ситуація називається «мікроальбумінарія». Виявлення цих малих секретуючихся кількостей (від 30 до 150 мкг/хв або мл) вимагає дуже чутливих тест-систем, тобто імунологічних технологій. Фізичний стрес також може викликати підвищену секрецію альбуміну без появи захворювання нирок.

При діабеті секреція альбуміну - дуже важливий параметр для оцінки функції нирок. Значення в сечі більше 25 мкг/мл свідчить про шкідливу функцію нирок при інсулін-залежному (тип I) та інсулін-незалежному (тип II) діабеті. Отже, визначення альбуміну - важливий діагностичний інструмент при діабетичних нефропатіях.

### МАТЕРІАЛИ, ЩО ПОСТАВЛЯЮТЬСЯ

1. Мікропланшет, що складається з 12 смужок по 8 ячеек кожен, покритих високоочищеним лізоцимом - **1 планшет**.
2. Калібратори мікроальбуміну в буфері, що містять 0,15; 1,5; 6; 25; 100 і 400 мкг/мл людського альбуміну - **6 флаконів, 1,5 мл кожен**. Готові до використання.
3. Контролі мікроальбуміну в буфері (позитивний і негативний), див. вкладиш зі значеннями - **2 флакона, 0,5 мл кожен**. Готові до використання.

4. Буфер зразків, жовтий, готовий до використання - **1 флакон, 15 мл**.
5. Розчин ферментного кон'югата (блідо червоний), що містить поліклональний анти-людський альбумін, мічений пероксидазою хрому - **1 флакон, 15 мл**. Готовий до використання.
6. Розчин субстрату ТМБ - **1 флакон, 15 мл**. Готовий до використання.
7. Стоп розчин (1M HCl) - **1 флакон, 15 мл**. Готовий до використання.
8. Буферний розчин для промивання, **концентрат - 1 флакон, 20 мл**.

### НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ

1. Мікропланшетний рідер з довжиною хвилі вимірювання 450 нм
2. Багатоканалний диспенсер чи піпетка для дозування на 100 мкл
3. Вортекс
4. Піпетки на 10, 100 та 1000 мкл
5. Лабораторний годинниковий пристрій
6. Програмне забезпечення
7. Дистильована або деіонізована вода
8. Мірні циліндри на 100 і 1000 мл
9. Пластиковий контейнер для зберігання промивного розчину

### ЗБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

1. Зберіть ранкову сечу.
2. Зразки можуть зберігатися при охолодженні до 2 - 8 ° C 5 діб. Для більш тривалого зберігання до 6 місяців зразки слід заморозити до -20 ° C.
3. Уникайте повторних циклів заморожування і розморожування. Це може впливати на результати.

### ЗБЕРІГАННЯ І СТАБІЛЬНІСТЬ

1. Зберігайте набір при 2-8 °C.
2. Містить ячейки мікропланшетів, запечатані в сухому пакеті з осушувачем.
3. Реагенти стабільні до закінчення терміну придатності.
4. Не піддавайте реагенти впливу спеки, сонця або сильного світла під час зберігання чи використання.
5. Розбавлені буфер зразків і миючий буфер стабільні 30 днів при зберіганні при 2-8 °C.

### ПРОЦЕДУРНІ ЗАУВАЖЕННЯ

1. Не використовуйте компоненти набору після закінчення терміну придатності.
2. Не міняйте компоненти набору між різними лотами.
3. Всі матеріали слід привести до кімнатної температури.
4. Всі реагенти при початку аналізу повинні бути готові до роботи. Після початку аналіз необхідно проводити безперервно для отримання надійних і точних результатів.
5. Проводьте всі кроки аналізу в зазначеному порядку.
6. Завжди використовуйте свіжу розбавлену сироватку.
7. Піпетувати всі реагенти та зразки на дно ячеек.
8. Для запобігання забрудненню міняйте наконечники між зразками і різними контролями набору.
9. Дуже важливо промивати ячейки ретельно і видаляти повністю всю рідину для отримання оптимальних результатів.
10. Всі кроки інкубації повинні проводитися на протязі визначеного часу.
11. Контрольна сироватка повинна аналізуватися як невідома для перевірки реагентів і аналізу.
12. Не використовуйте повторно ячейки мікропланшета.

### ЗАУВАЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Всі реагенти набору призначені строго для діагностики *in vitro*.
2. Не змішуйте компоненти наборів з різних лотів.
3. Компоненти набору містять матеріали людського походження, які протестовані методами, схваленими FDA, на відсутність антитіл до гепатиту В і ВІЛ. Однак, жоден метод не може гарантувати, що продукти людського походження не інфіковані. Отже, з реагентами і зразками сироватки слід поводитися як з потенційно інфекційно небезпечними.
4. Уникайте контакту з ТМБ (3,3', 5,5' - тетраметилбензидином). Якщо ТМБ потрапив на шкіру, ретельно вимийте водою з милом.
5. Стоп розчин містить соляну кислоту. Якщо розчин потрапив на шкіру, ретельно промийте водою і зверніться до лікаря.
6. Деякі компоненти набору (напр. Контролі, буфер зразків і буферний миючий розчин) містять азид натрію в якості консерванту. Азид натрію є високо токсичним і реактивним в чистій формі. При концентрації в продукті тим не менш не небезпечний. Всупереч класифікації як безпечний, ми настійно рекомендуємо використовувати звичайні правила безпеки.
7. Деякі набори містять Проклін 300 в якості консерванту. При знищенні реагентів, що містять Проклін 300, промийте великою

кількістю води для розбавлення компонентів до нижче активного рівня.

- Використовуйте рукавички при роботі зі зразками та реагентами і ретельно мийте руки після роботи.
- Не піпетувати ротом.
- Не їжте, не пийте, не паліть або не застосовуйте косметику в місцях роботи із зразками або реагентами набору.
- Не допускайте контакту між буферним розчином перекису і матеріалами, що легко окислюються: підвищена температура може викликати спонтанне загоряння.

Дотримуватися встановлених правил для проведення контролю якості в медичних лабораторіях шляхом аналізу контролів та/або об'єднаної сироватки. При роботі з усіма реагентами, контролями та зразками сироватки дотримуватися існуючих правових норм.

#### ПРИГОТУВАННЯ РЕАГЕНТІВ

##### Приготування буферного промивного розчину

Розбавте вміст флакона з 50-кратним концентратом промивального буфера дистильованою водою до кінцевого об'єму 1000 мл перед використанням.

##### Приготування розчинника

Буфер для зрізів РА готовий до використання.

##### Приготування взірців

Використовуйте нерозбавлений зразок сечі. Якщо дуже високі концентрації очікуються, сечу необхідно розвести із буфером для зрізів і розведення враховувати при розрахунку.

Примітка: калібратори/контролі готові до використання і не потребують розведення.

#### МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Приготуйте достатню кількість смужок для постановки калібраторів, контролів і розведених проб пацієнтів в дублях.

- Додайте **20 мкл** калібраторів, контролів і нерозбавлених зрізів пацієнтів.  
Додайте **100 мкл** розчину ферментного кон'югата до калібраторів, контролів і проб пацієнтів.  
Інкубуйте **30 хвилин** при кімнатній температурі (18 - 28 °C).  
Видаліть вміст ячеек і тричі промийте з **300 мкл** промивного розчину.
- Додайте **100 мкл** розчину субстрату ТМБ в кожен ячейку.  
Інкубуйте **15 хвилин** при кімнатній температурі.
- Додайте **100 мкл** стоп розчину в кожен ячейку і витримайте 5 хвилин.  
Зчитайте оптичну щільність при 450 нм і розрахуйте результати. Біхроматичне вимірювання проводьте при 600-690 нм. Забарвлення, яке розвинулося, є стабільним протягом 30 хвилин. Зчитайте оптичну щільність за цей час.

	1	2	3	4	5	6
A	SA	SE	P1	P5		
B	SA	SE	P1	P5		
C	SB	SF	P2	P..		
D	SB	SF	P2	P..		
E	SC	C1	P3			
F	SC	C1	P3			
G	SD	C2	P4			
H	SD	C2	P4			

SA-SF: стандарти від А до F  
P1,P2..взрізці пацієнтів 1,2  
C1: позитивний контроль  
C2: негативний контроль

#### ОЦІНКА

Даний тест вважається дійсним тільки в разі, якщо ОП при 450 нм для Калібраторів/Контролів збігається з відповідним діапазоном, зазначеним у Сертифікаті контролю якості, доданому до набору. Якщо який-небудь із зазначених критеріїв не відповідає, результати мають бути визнані недійсними і тестування має бути повторено.

#### ПІДРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Для кількісного обчислення результатів пацієнтів концентрація контролів може бути використана для створення калібрувальної кривої. Концентрація невідомих показників може бути обчислена за допомогою цієї калібрувальної кривої.

#### РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

##### Діапазон вимірювання

Діапазон становить 1.5 - 400 мкг/мл

##### Очікувані значення

У нормальному діапазоні дослідження із зразками від здорових донорів крові такі діапазони були встановлені з цим аналізом ІФА: Граничне значення 0 – 25 мкг/мл

#### Інтерпретація результатів

Нормальний: < 25 мкг/мл

Завищений: ≥ 25 мкг/мл

#### Паралелізм

Зразки пацієнтів, що містять високі рівні альбуміну, серійно розводили в буфері для зразка, щоб продемонструвати динамічний діапазон аналізу і верхній / нижній межа лінійності. Активність для кожного розведення розраховували за калібрувальною кривою з використанням 4-параметричного-Fit з лінійно-логіфімічною системою координат.

Mean	Dilution	Observed µg/ml	Expected µg/ml	O/E [%]
1	1:1	368.0	368.0	100
-	1:2	186.0	184.0	101
-	1:4	90.8	92.0	99
-	1:8	45.2	46.0	98
-	1:16	22.1	23.0	96
2	1:1	280.0	280.0	100
-	1:2	143.4	140.0	102
-	1:4	71.9	70.0	103
-	1:8	33.8	35.0	97
-	1:16	17.7	17.6	101

#### Межа виявлення

Функціональна чутливість складала: 0.5 мкг/мл.

#### Відтворюваність

Усереднені тестова точність: Коефіцієнт варіації (CV) розраховували для кожного з трьох зрізів з результатів 24 визначень в одному аналізі. Результати для точності в межах аналізу наведені в таблиці нижче.

Межсерійна точність: Коефіцієнт варіації (CV) розраховували для кожного з трьох зрізів за результатами 6 визначень в 5 різних аналізах. Результати для виконання до запуску точності наведені в таблиці нижче.

В середині аналізу		
Взирець №	Середнє [мкг/мл]	CV [%]
1	25,2	5,3
2	50,9	3,3
3	80,2	3,6

Між аналізами		
Взирець №	Середнє [мкг/мл]	CV [%]
1	24,2	4,2
2	50,1	5,1
3	78,6	2,9

#### Інтерферуючі речовини

Не виявлено.

#### ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Даний набір є діагностичним. Визначення клінічного діагнозу не повинно ґрунтуватися на результатах одного тесту і має враховувати всі дані клінічних та лабораторних досліджень.

#### СХЕМА ІНКУБАЦІЇ

- Піпетувати **20 мкл** калібраторів, контролів або зразка пацієнтів  
→ додати 100 мкл ферментного кон'югата  
→ Інкубувати **30 хвилин** при кімнатній температурі  
→ Видалити вміст комірок і тричі промити з **300 мкл** промивного розчину
- Піпетувати **100 мкл** розчину Субстрату  
→ Інкубувати **15 хвилин** при кімнатній температурі
- Додати **100 мкл** Стоп розчину  
→ Витримати **5 хвилин**  
→ Зчитати результат при **450 нм**



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ»  
вул.Чорновола, 97  
м. Івано-Франківськ, 76005  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 123  
e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)

