



Kit Alfa-1 microglobulina en orina Optilite®

Solo para uso diagnóstico *in vitro*

Código de producto: NK036.U.OPT

Producto fabricado por:
The Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, UK
www.bindingsite.co.uk

The Binding Site Group Limited Sucursal en España
Bruc 72 2ª planta, 08009 Barcelona, España
Teléfono 902027750
Fax: 902027752
e-mail: info@bindingsite.es
web: www.bindingsite.es

Optilite es una marca registrada de The Binding Site Group Limited (Birmingham, Reino Unido) en determinados países.



1 APLICACIÓN

El kit Alfa-1 microglobulina en orina Optilite está diseñado para la cuantificación *in vitro* de Alfa-1 microglobulina en orina utilizando del analizador Optilite de Binding Site. Este test se debe usar junto con otras determinaciones clínicas y de laboratorio.

2 RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La Alfa-1 microglobulina es una proteína de 26 kd, que también se conoce como proteína humana formadora de complejos. Perteneció a la superfamilia de proteínas de las lipocalinas, que tiene estructuras tridimensionales altamente conservadas que forman un bolsillo de unión con el ligando interno. La Alfa-1 microglobulina es sintetizada por las células del hígado y se conjuga fácilmente con la Inmunoglobulina en suero, aunque únicamente la forma libre se filtra a través del glomerulo y es reabsorbida por las células tubulares. (Ref. 1 y 2). la alfa-1 microglobulina urinaria puede utilizarse para evaluar la función tubular y como indicador precoz de proteinuria. La lesión tubular proximal puede dar lugar a una reabsorción comprometida y a niveles incrementados de Alfa-1 microglobulina en orina. La Alfa-1 microglobulina incrementada puede ser, en consecuencia, un indicio de daños renales, principalmente en el nivel tubular proximal. (Ref. 3 y 4)

3 PRINCIPIO

La evaluación de la concentración de un antígeno soluble por turbidimetría supone la reacción con un antisuero específico para formar complejos insolubles. Al pasar la luz a través de la suspensión formada, se transmite y focaliza una porción de esta luz a un fotodiodo mediante un sistema de lentes ópticas. La cantidad de luz transmitida es indirectamente proporcional a la concentración de proteína específica en la muestra analizada. Las concentraciones se calculan automáticamente a partir de una curva de calibración almacenada en el instrumento.

4 REACTIVOS

- 4.1 Antisuero:** Se suministra en forma líquida estabilizada. Conservantes: 0,1 mol/L de cloruro sódico y 15 nmol/L de azida sódica.
- 4.2 Calibradores y controles:** Preparados a partir de una mezcla de suero humano, se suministran en forma líquida estabilizada. Contienen 0,099% de azida sódica, 0,1 % de ácido E-amino-n-caproico (EACA) y 0,01% de benzamida como conservantes. La concentración indicada en el certificado de control de calidad se ha obtenido mediante comparación con un patrón de calibración interno.
- 4.3 Buffer de reacción:** Contiene 15 mmol/L de ázida sódica como conservante.

5 PRECAUCIONES

Los sueros humanos suministrados en el kit han sido sometidos a screening para donantes, resultando negativos a la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) y a la presencia de los anticuerpos del virus de inmunodeficiencia humana (HIV1 y HIV2) y del virus de la hepatitis C. Las técnicas usadas están aprobadas por la FDA (EE. UU.) o para el diagnóstico *in vitro* en la UE (directriz 98/79/CE, Anexo II). Sin embargo, estas pruebas no garantizan la ausencia de agentes infecciosos. Deben establecerse métodos de manipulación y eliminación adecuados para todos los materiales potencialmente infecciosos, incluyendo el uso de guantes y vestuario protector adecuado en todo momento al manipular este producto. Los procedimientos deben ser accesibles únicamente a personal con formación específica.

ADVERTENCIA: Este producto contiene azida sódica, por lo que debe ser manipulado con precaución. Se deben usar guantes y vestuario protector adecuado en todo momento al manipular este producto. No trague ni permita el contacto con la piel (especialmente si hay heridas) o las mucosas. En caso de contacto, lave con abundante agua y consulte a un

médico urgentemente. En caso de contacto prolongado de la azida sódica con tuberías de plomo y cobre pueden formarse azidas metálicas explosivas. Cuando se elimine el reactivo, enjuague con mucha agua los recipientes para evitar la acumulación de azida.

Este producto debe ser utilizado únicamente por personal especializado para los fines indicados en el apartado Aplicación. Resulta esencial seguir estas instrucciones de forma estricta en todo momento. No se garantiza la validez de los resultados si se utilizan parámetros diferentes a los indicados en estas instrucciones.

Los reactivos de diferentes lotes NO son intercambiables.

6 ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Los kits no abiertos deben conservarse a 2-8 °C y se pueden usar hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja del kit. NO CONGELAR. El reactivo, el calibrador y los controles pueden conservarse refrigerados a 2-8 °C durante tres meses como máximo tras la apertura, tomando precauciones para evitar la evaporación. El reactivo puede almacenarse, sin proteger, en el analizador Optilite durante un máximo de 30 días, siempre y cuando se deje encendido el interruptor de alimentación.

7 OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras de orina pueden almacenarse a 2-8°C durante un máximo de 30 días; en otro caso, se deberán alícuotar y congelar a -20°C o a temperatura inferior y almacenarse durante hasta un máximo de 6 meses (Ref. 5). No congelar y descongelar los sueros más de una vez. Evitar el uso de muestras lipémicas, hemolizadas o contaminadas por microbios, o de muestras que contengan partículas. Es responsabilidad cada laboratorio el uso de todas las referencias disponibles y/o sus propios estudios para determinar los criterios de estabilidad específicos para su laboratorio.

8 METODOLOGÍA

8.1 Materiales suministrados

- 8.1.1 1 x 100 Test Optilite A1M Urine Reagent (reactivo en orina A1M Optilite)
8.1.2 1 x 2,4 mL Optilite A1M Urine Calibrator (calibrador en orina A1M Optilite)
8.1.3 1 x 1,9 mL Optilite A1M Urine High Control (Control Alto en orina A1M optilite)
8.1.4 1 x 1,9 mL Optilite A1M Urine Low Control (Control Bajo en orina A1M)

8.2 Materiales necesarios no suministrados con el kit

- 8.2.1 Materiales necesarios para la preparación de las muestras como tubos para la recolección de la sangre, centrífuga, etc.
8.2.2 Analizador Optilite completamente equipado y operativo.
8.2.3 Las instrucciones actuales de funcionamiento del analizador: Manual de funcionamiento de Optilite, código INST00.OPT
8.2.4 Diluyente 1 Optilite, código de producto IK709

8.3 Preparación de los reactivos

Antes de cargar, mezclar por inversión evitando la formación de espuma o burbujas que podrían interferir en el momento de la aspiración del reactivo.

8.4 Procedimiento de la prueba

El usuario deberá estar familiarizado con el funcionamiento de/ analizador Optilite antes de realizar la prueba. Preparar el equipo para su uso según las instrucciones del manual de funcionamiento Optilite.

- 8.4.1 Los parámetros para este ensayo se indican en el código de barras del certificado de control de calidad que acompaña al kit (QCcert036.U.OPT). Escanee los códigos Barcode 1 y Barcode 2 para cargar los parámetros.

8.5 Rango de medición

El rango de medición aproximado del ensayo se indica en la siguiente tabla:

Dilución del analizador Optilite	Rango aproximado (mg/L)
1+0	5 - 100
1+4	25 - 500
1+9	50 - 1000

9 CONTROL DE CALIDAD

Se deben analizar al menos dos niveles de material de control adecuado una vez al día como mínimo. Además, se deben analizar controles tras la calibración, con cada nuevo lote de reactivo y tras el mantenimiento específico o los pasos de resolución de problemas descritos en el Manual de funcionamiento de Optilite.

El análisis de control se debe realizar de acuerdo a los requerimientos reglamentarios y el procedimiento estándar de cada laboratorio.

Las concentraciones de los controles que se facilitan se recogen en el adjunto certificado de control de calidad (QCcert036.U.OPT) Los resultados obtenidos sólo pueden aceptarse si los resultados de los controles entran dentro del ±15 % de la(s) concentración(es) indicada(s).

En caso de que un control dé un resultado fuera del rango y se haya empleado una curva de calibración almacenada, se recomienda calibrar de nuevo el ensayo. Si al volver a calibrar los valores del control medidos con la nueva curva siguen fuera del rango, deberán comprobarse el instrumento y los parámetros del ensayo antes de repetir el ensayo. Si no se solucionara el problema, rogamos se dirijan al servicio de asistencia técnica de su proveedor.

10 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- 10.1 Los ensayos turbidimétricos no son adecuados para la cuantificación de muestras hemolizadas o muestras que contengan materiales particulados, por el grado no predecible de dispersión no específica que esos tipos de muestras pueden generar. Los resultados no previstos deberán verificarse con un método alternativo.
- 10.2 No puede darse un diagnóstico ni puede realizarse un tratamiento sobre la base de, únicamente, las cuantificaciones de Alfa-1 microglobulina. Deben tenerse en cuenta también la historia clínica y resultados de otras pruebas de laboratorio.

11 VALORES ESPERADOS

El intervalo de referencia que consta en la literatura médica para Alfa-1 microglobulina en orina es <12 mg/L (Ref. 6).

12 CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

12.1 Precisión

El estudio de precisión se basó en CLSI EP5-A2 *Evaluation of Precision Performance of Clinical Quantitative Measurement Methods*. El estudio se llevó a cabo durante 21 días laborables con dos análisis al día. Un usuario evaluó cinco muestras diferentes, usando tres lotes de reactivos diferentes en tres analizadores.

	Valor medio (mg/L)	Resumen de precisión							
		Intraensayo		Interensayo		Interdía		Total	
		Desviación estándar	Variación conc. %	Desviación estándar	Variación conc. %	Desviación estándar	Variación conc. %	Desviación estándar	Variación conc. %
Nivel 1	7,870	0,089	1,1	0,180	2,3	0,265	3,4	0,332	4,2
Nivel 2	14,554	0,095	0,7	0,279	1,9	0,350	2,4	0,458	3,1
Nivel 3	39,281	0,214	0,5	0,964	2,5	0,889	2,3	1,329	3,4
Nivel 4	81,178	0,897	1,1	1,003	1,2	2,388	2,9	2,741	3,4

12.2 Estudio comparativo

Se realizó un estudio comparativo analizando 136 muestras (incluidas 48 muestras con niveles de analito dentro del intervalo de referencia) con el kit Alfa-1 microglobulina en orina Optilite y otro ensayo alternativo disponible en el mercado. El análisis de regresión de Passing-Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 0,93x + 0,04 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{analizador prediado})$$

coeficiente de correlación $r = 0,997$ (calculado mediante regresión lineal)

12.3 Límite de cuantificación

El límite de cuantificación para este ensayo se define como el valor inferior del rango de medición, 5 mg/L. El estudio de validación del límite de cuantificación se basó en CLSI EP17-A *Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation*.

12.4 Linealidad

Se llevó a cabo un estudio siguiendo el documento CLSI *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline (EP6-A)*. La linealidad de este ensayo ha sido confirmada mediante diluciones seriadas de muestras de orina sobre el rango de 5-100 mg/L con desviaciones de linealidad de <10%

12.5 Sustancias interferentes

Se realizó un estudio siguiendo las pautas CLSI EP7-A2: *Interference Testing in Clinical Chemistry, Approved Guideline*(documento CLSI EP7-A2). Se analizaron una muestra de orina normal, una muestra de orina con valores cercanos a los puntos de decisión médica y muestras de orina anormales. No se observaron interferencias significativas en los ensayos con hemoglobina (1,25g/L), bilirrubina conjugada (200mg/L), urobilinógeno (45 mg/L), albumina (1,000 mg/L) o ácido ascórbico (200mg/L).

12.6 Exceso de antígeno

No se observó exceso de antígeno hasta el nivel de 5 veces el punto más alto de la curva de calibración a la dilución de muestra estándar de 1+0. Ello equivale a 500 mg/L.

13 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alhorn M, Berggård T, Nordberg J, Olsson ML, Akerström B. Processing of the lipocalin α 1-microglobulin by hemoglobin induces heme-binding and heme-degradation properties. *Blood*. 2002 Mar 15;99(6):1894-901.
2. Weber MH, Verwiebe R. Alpha 1-microglobulin (protein HC): features of a promising indicator of proximal tubular dysfunction. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1992;30:683-91
3. Penders J, Delanghe JR. Alpha 1-microglobulin: clinical laboratory aspects and applications. *Clin Chim Acta*. 2004 Aug 16;346(2):107-18.
4. Liakos CI, Vyssoulis GP, Markou MI, Kafkas NV, Toutouzas KP, Tousoulis D. Twenty-four-hour urine alpha-microglobulin as a marker of hypertension-induced renal impairment and its response on different blood pressure-lowering drugs. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. Oct 2016;18(10):1000-1006
5. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2 2002
6. Hofmann W and Guder WG (1989). Präanalytische und analytische Faktoren bei der Bestimmung von IgG, Albumin, α 1-Mikroglobulin und Retinol-bindendem Protein im Urin mit dem Behring Nephelometer System (BNS). *Lab med*, 13: 470-8.