

Quantitative determination of Pre-albumin IVD

Store 2 - 8°C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

PRE-ALBUMIN is a quantitative turbidimetric test for the measurement of prealbumin in human serum or plasma. Anti-prealbumin antibodies when mixed with samples containing prealbumin, form insoluble complexes. These complexes cause an absorbance change, dependent upon the prealbumin concentration of the patient sample, that can be quantified by comparison from a calibrator of known prealbumin concentration.

CLINICAL SIGNIFICANCE

The prealbumin is a non-glycosylated protein synthesized mainly in the liver and choroid plexus of the brain. It binds and transport approximately 10% of serum thyroxin and triiodothyronine, and also plays a role in the transport of vitamin A in complex with retinal-binding protein. Prealbumin is the earliest laboratory indicator of nutritional status and has emerged as the preferred marker for malnutrition because it correlates with patient outcomes in wide variety of clinical conditions. It is also a negative acute phase protein; serum levels falls in inflammation and malignancy, as well as cirrhosis, protein-losing enteropathy and zinc deficiency. However, the presence of a prealbumin producing tumor or Hodgkin's disease will increase serum concentrations.

REAGENTS

Diluent (R1)	Tris buffer 20 mmol/L, PEG 8000, pH 8.3. Sodium azide 0.95 g/L.
Antibody (R2)	Goat serum, anti-human prealbumin pH 7.5. Sodium azide 0.95 g/L.
Optional	Ref: 1102003 PROT CAL

CALIBRATION

The assay has been standardized against the Reference Material CRM 470/RPPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). It is recommended the use of the PROT CAL for calibration. The reagent (both monoreagent and bireagent) should be recalibrated every three weeks, when the controls are out of specifications, and when changing the reagent lot or the instrument settings. For monoreagent, a reagent blank should be run daily before sample analysis.

PREPARATION

Reagents: Ready to use.

Calibration Curve: Prepare the following PROT CAL Calibrator dilutions in CINA 9 g/L as diluent. Multiply the concentration of the pre-albumin calibrator by the corresponding factor stated in table below to obtain the prealbumin concentration of each dilution.

Calibrator dilution	1	2	3	4	5	6
Calibrator (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0.25	0.5	0.75	1.0

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations are prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

Reagent deterioration: The presence of particles and turbidity.

Do not freeze; frozen Antibody or Diluent could change the functionality of the test.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Thermostatic bath at 37°C.
- Spectrophotometer or photometer thermostatable at 37°C with a 340 nm filter (320 – 360 nm).

SAMPLES

Fresh serum or plasma. EDTA or heparin should be used as anticoagulant. Stable 7 days at 2-8°C or 3 months at -20°C. The samples with presence of fibrin should be centrifuged before testing. Do not use highly hemolyzed or lipemic samples.

PROCEDURE

1. Bring the reagents and the photometer (cuvette holder) to 37°C.
2. Assay conditions:

Wavelength : 340 nm
Temperature : 37 °C
Cuvette lighth path : 1cm

3. Adjust the instrument to zero with distilled water.
4. Pipette into a cuvette:

Reagent R1 (µL)	800
Sample or Calibrator (µL)	10

5. Mix and read the absorbance (A_1) after the sample addition.
6. Immediately, pipette into de cuvette:

Reagent R2 (µL)	200
-----------------	-----

7. Mix and read the absorbance (A_2) of calibrators and sample exactly 2 minutes after the R2 addition.

Spinreact has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

CALCULATIONS

Calculate the absorbance difference ($A_2 - A_1$) of each point of the calibration curve and plot the values obtained against the prealbumin concentration of each calibrator dilution. Pre-albumin concentration in the sample is calculated by interpolation of its ($A_2 - A_1$) in the calibration curve.

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of manual and automated assay procedures. It should be used the SPINREACT PROT CONTROL (Ref.:1102004). Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES²

Between 20 - 40 mg/dL. Each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. **Measurement range:** Up to 100 mg/dL, under the described assay conditions. Samples with higher concentrations, should be diluted 1/5 in NaCl 9 g/L and retested again. The linearity limit depends on the sample /reagent ratio. It will be higher by decreasing the sample volume, although the sensitivity of the test will be proportionally decreased.
2. **Detection Limit:** Values less than 1.89 mg/dL give non-reproducible results.
3. **Prozone effect:** No prozone effect was detected up to 1000 mg/dL.
4. **Precision:**

EP5	CV (%)		
	20.04mg/dL	39.49 mg/dL	58.67 mg/dL
Total	4.9%	4.6%	4.9%
Within Run	1.8%	2.3%	1.4%
Between Run	2.4%	2.7%	2.4%
Between Day	3.9%	3.0%	4.0%

5. **Accuracy:** Results obtained using this reagent (y) were compared to those obtained using another immunoturbidimetric method. 60 samples ranging from 1 to 40 mg/dL of pre-albumin were assayed. The correlation coefficient (r) was 0.93 and the regression equation $y = 1.031x - 4.617$.

The results of the performance characteristics depend on the used analyzer.

INTERFERENCES

Hemoglobin (16 g/L), bilirubin (40 mg/dL), rheumatoid factors (200 IU/mL), do not interfere. Lipemia (≥ 8 g/L), interfere. Other substances may interfere^{5,6}.

NOTES

1. Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

BIBLIOGRAPHY

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
2. Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34:517-520.
3. Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
4. Jayle MF et al. Progress in Hematology 1962; 3: 343-359.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Pres, 1995.
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3tn ed. AACC Pres, 1997.

PACKAGING

Ref.: 1102124

Cont.

R1 Diluent: 1 x 40 mL
R2 Antibody: 1 x 10 mL

Determinación cuantitativa de Prealbúmina IVD

Conservar a 2 - 8°C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

PREALBUMIN es un ensayo turbidimétrico para la cuantificación de prealbúmina en suero o plasma humano.

Los anticuerpos anti-prealbúmina forman compuestos insolubles cuando se combinan con la prealbúmina de la muestra del paciente, ocasionando un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de prealbúmina en la muestra, y que puede ser cuantificada por comparación con un calibrador de prealbúmina de concentración conocida.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La prealbúmina es una proteína no glicosilada sintetizada principalmente en el hígado y en el plexo corioide del cerebro. Se une y transporta aproximadamente el 10% de la tiroxina y triyodotironina del suero, así como también juega un importante papel en el transporte de la vitamina A formando un complejo con la proteína de fijación del retinol.

La prealbúmina es uno de los indicadores más precoces del estado nutricional y ha adquirido cierta importancia como marcador de estados de malnutrición ya que correlaciona muy bien con el estado del paciente en diversas condiciones clínicas. También se le considera una proteína de fase aguda negativa; su concentración disminuye en el suero del paciente durante procesos inflamatorios y neoplásicos, así como en cirrosis, enteropatías de pérdida de proteínas y deficiencias de zinc. Sin embargo, la presencia de algunos tumores y la enfermedad de Hodgkin incrementan su concentración.

REACTIVOS

Diluyente (R1)	Tampón tris 20 mmol/L, g/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azida sódica 0,95.
Anticuerpo (R2)	Suero de cabra, anti-prealbúmina humana, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
Opcional:	Ref: 1102003 PROT CAL.

CALIBRACIÓN

El ensayo está calibrado frente a un Material de Referencia CRM 470/RPPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). Se recomienda el uso del Calibrador PROT CAL para la Calibración. El reactivo (tanto monoreactivo como bireactivo) se debe recalibrar cada tres semanas, cuando los controles están fuera de especificaciones, y cuando el lote de reactivo o la configuración del instrumento cambia. En el caso de monoreactivo debe correrse un blanco de reactivo antes de las muestras.

PREPARACIÓN

Reactivos: Listos para el uso.

Curva de Calibración: Preparar las siguientes diluciones del Calibrador PROT CAL en CiNa 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución de prealbúmina, multiplicar la concentración de prealbúmina del calibrador por el factor correspondiente indicado en la tabla:

Dilución calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (µL)	--	10	25	50	75	100
CiNa 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No utilizar reactivos que hayan sobrepasado la fecha de caducidad.

Indicadores de deterioro: La presencia de partículas y turbidez.

No congelar; la congelación del Anticuerpo o Diluyente puede afectar la funcionalidad de los mismos.

MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.
- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatable a 37°C para lecturas a 340 nm (320-360 nm).

MUESTRAS

Suero o plasma fresco, recogido con heparina o EDTA como anticoagulantes. Estable 7 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C.

Las muestras con restos de fibrina deben centrifugarse. No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

PROCEDIMIENTO

1. Calentar los reactivos y el fotómetro (portacubetas) a 37°C.
2. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 340 nm
 Temperatura: 37°C
 Paso de luz de la cubeta: 1 cm

3. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
4. Pipetear en una cubeta:

Reactivo R1 (µL)	800
Muestra o Calibrador (µL)	10

5. Mezclar y leer la absorbancia (A_1) después de la adición de la muestra.
6. Inmediatamente después, pipetear en la cubeta:

Reactivo R2 (µL)	200
------------------	-----

7. Mezclar y leer la absorbancia (A_2) exactamente después de 2 minutos de añadir el reactivo R2.

Spinreact dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de analizadores automáticos del mercado. Solicite la información a su distribuidor.

CÁLCULOS

Calcular la diferencia de absorbancias ($A_2 - A_1$) obtenidas para los distintos calibradores, y construir la curva de calibración de los valores obtenidos frente a las concentraciones de prealbúmina de cada dilución del Calibrador. La concentración de prealbúmina en la muestra se calcula por interpolación de su diferencia ($A_2 - A_1$) en la curva de calibración.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. Debe usarse el control de SPINREACT PROT CONTROL (Ref.: 1102004).

Cada laboratorio debería establecer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

VALORES DE REFERENCIA²

Entre 20 - 40 mg/dL. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

1. **Rango de medida:** hasta 100 mg/dL, en las condiciones descritas del ensayo. Las muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 con NaCl 9 g/L y ensayarse de nuevo. El intervalo de medida depende de la relación muestra/reactivo. Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el límite superior del intervalo de medida, aunque se reduce la sensibilidad.
2. **Límite de detección:** valores por debajo de 1.89 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.
3. **Sensibilidad:** 4.8 mA / mg/dL (50 mg/dL).
4. **Efecto prozona:** No se observa efecto prozona hasta valores de 1000 mg/dL.
5. **Precisión:**

EP5	CV (%)		
	20.04mg/dL	39.49 mg/dL	58.67 mg/dL
Total	4.9%	4.6%	4.9%
Within Run	1.8%	2.3%	1.4%
Between Run	2.4%	2.7%	2.4%
Between Day	3.9%	3.0%	4.0%

6. **Exactitud:** El comportamiento de este método (y) fue comparado con el obtenido usando otro método turbidimétrico. 60 muestras de concentraciones de prealbúmina entre 1 y 40 mg/dL fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r) fue de 0,93 y la ecuación de la recta de regresión $y = 1.031x - 4.617$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (40 mg/dL), hemoglobina (16 g/L), y factores reumatoides (200 UI/mL), no interfieren. Lípidos (≥ 8 g/L), interfieren. Otras sustancias pueden interferir^{5,6}.

NOTAS

1. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

BIBLIOGRAFÍA

1. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
2. *Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996; 34:517-520.
3. *Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.*
4. *Jayle MF et al. Progress in Hematology* 1962; 3: 343-359.
5. *Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests*, 4th ed. AACCPres, 1995.
6. *Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests*, 3th ed. AACCPres, 1997.

PRESENTACIÓN

Ref.: 1102124	R1 Diluyente: 1 x 40 mL
	R2 Anticuerpo: 1 x 10 mL