



Stanbio Albumin LiquiColor® Procedure No. 0285

Quantitative Colorimetric Determination of
Albumin in Serum or Plasma

Summary and Principle

In 1964 bromocresol green (BCG) was reported as useful in the quantitative determination of serum albumin by Bartholomew and Delaney¹ and by Rodkey². This dye binding technique was again published a year later by Rodkey³ who described a BCG inverse colorimetric procedure specific for albumin at pH 7.05 and 615 nm. At the same time Watson⁴ reported BCG to be more sensitive for albumin than were either methyl orange or HABA (2-(4'-hydroxyazobenzene)-benzoic acid), two compounds also used in serum albumin quantitation by dye binding.

There followed reports by Dow and Pinto¹ and by Miyada et al⁶ of BCG method linearity up to 5 g/dL, minimum interference by lipids, hemoglobin and bilirubin, further evidence of high specificity and sensitivity, as well as excellent correlation for albumin values between BCG techniques and electrophoresis.

The method presented is essentially that of Dumas, Watson and Biggs^{7,8} modified by use of citrate instead of succinate buffer, a lower buffer concentration and reading of the final color at 550 instead of 630 nm⁹.

Reagents

Albumin Reagent, Cat. No. 0286

Contains bromocresol green, 18.8 mg/dL in citrate buffer, pH 4.2 ± 0.05 at 25°C. Also contains a surfactant.

Albumin Standard, Cat. No. 0287 (6.0 g/dL)

Aqueous solution of bovine fraction V albumin, equivalent to value stated on label. Sodium azide added as a preservative.

Precautions: For in Vitro Diagnostic Use.

Reagent Preparation: Reagent and Standard are ready to use.

Reagent Storage and Stability: Reagent is stable, if unopened and stored at 2 - 30°C, until expiration date on label. Standard is stable until expiration date on label when stored at 2-8°C. Bring Reagent and Standard to room temperature before use.

Materials Required But Not Provided

Spectrophotometer capable of absorbance readings at 550 nm (550-630 nm).
Accurate pipetting devices.

Cuvets Test Tubes
Interval timer

Specimen Collection and Preparation⁸

Serum, carefully removed from clot, is specimen of choice. Plasma may be used from blood collected with either EDTA or heparin as anticoagulant.

Sample Stability: Albumin is reportedly stable in serum for 1 week at room temperature, one month at 2-8°C and indefinitely when frozen.

Interfering Substances:¹⁰ BCG methods are reportedly free from interference by low levels of lipids, hemoglobin, bilirubin (20 mg/dL) and salicylate (60 mg/dL). Gross hemolysis must be avoided. Highly lipemic samples can be corrected by use of a serum blank.

Automated Analyzer

Parameters:

Wavelength	550 nm
Reaction Type.....	Endpoint
Reaction Direction	Increasing
Reaction Temperature	37°C
Sample/Reagent Ratio	1:100
Equilibration Time	3 Seconds
Read Time	4 Seconds
Lag Time	30 Seconds
Blank Absorbance Limit	0.450
High Absorbance	2.000A
Standard.....	6.0 g/dL
Low Normal	3.8 g/dL
High Normal	5.1 g/dL
Linearity	7.0 g/dL

Above parameters should be employed in programming automated analyzers for Albumin. Consult your instrument manual for programming instructions. Specific programming applications for most automated analyzers are available from Stanbio Customer Service Department.

Manual Procedure

1. Pipet into cuvetts the following volumes (mL) and mix well:

	Reagent Blank (RB)	Standard (S)	Sample (U)
Reagent	1.0	1.0	1.0
Standard	-	0.01	-
Sample	-	-	0.01

NOTE: All volumes may be increased x2 if the instrument requires volumes greater than 1.0mL.

2. Mix contents of each cuvet. Color develops immediately.

3. Read S and U vs RB at 550 nm within 15 minutes.

Quality Control: Use of commercial control serum, or pooled serum previously assayed and divided into frozen aliquots is recommended for use with each series of assays.

Results

Values are derived by the following equations:

$$1. \text{ Serum Albumin (g/dL)} = \frac{A_u}{A_s} \times 6.0$$

Where Au and As are the absorbance values of unknown and standard, respectively, and 6.0 the concentration of the standard (g/dL).

When a serum blank is required (icteric or hemolyzed specimen), label another tube SB. Add 1.0 mL "normal" saline, 0.01 mL serum, mix by inversion, transfer to cuvet and read absorbance (Asb) vs distilled water at 550 nm. Use this value to correct that of the unknown as follows:

$$2. \text{ Serum Albumin (g/dL)} = \frac{A_u - A_{sb}}{A_s} \times 6.0$$

NOTE: Samples having Albumin values greater than 7.0 dL are diluted 2-fold (1 + 1) with normal saline (sodium chloride, 8.5 g/L), the assay repeated and results multiplied by the dilution factor of 2.

Expected Values⁸

Normal Range 3.8-5.1 g/dL

Performance Characteristics⁹

Precision: Replicate assays (21) on each of 6 serum pools (range 3.2-4.3 g/dL) over a 17-day period showed standard deviations (SD) of 0.07-0.12 g/dL.

Correlation: Comparison of results derived on 20 patient sera (range 3.2-4.3 g/dL) by the method described and by the Coulter Automated Direct (Non-Blanked) procedure resulted in a correlation coefficient (r) of .9738.

Linearity: When performed as directed this method is linear from 0 to 7 g/dL.

References

1. Bartholomew RJ, Delaney AM: Proc Australian Assoc Clin Biochem 1:64, 1964
2. Rodkey FL: Clin Chem 10:606, 1964
3. Rodkey FL: Clin Chem 11:478, 1965
4. Watson D: IN Advances in Clinical Chemistry Vol 8. Ed by Sobotka H, Stewart CP. Academic Press, New York 1965, p 237-282
5. Dow D, Pinto PVC: Clin Chem 15: 1006, 1969
6. Miyada DS et al: Clin Chem 18:52, 1972
7. Dumas BT, Watson WA, Biggs HG: Clin Chem Acta 31:87, 1971
8. Dumas BT, Biggs HG: IN Standard Methods of Clinical Chemistry Vol 7. Academic Press, New York, 1972, p 175
9. Stanbio Laboratory data
10. Young DS et al: Clin Chem 21:244D, 1975 (Special Issue)

For Technical Service call: 800-531-5535 • (830) 249-0772

Fax (830) 249-0851 • e-mail: stanbio@stanbio.com

http://www.stanbio.com

Stanbio Laboratory • 1261 North Main Street • Boerne, Texas 78006

DN: RBR.0285CE.00 • Last Revision: 08/04 • Procedure No. 0285CE



Stanbio LiquiColor® Albumina Proced. No. 0285

Para la determinación cuantitativa colorimétrica de Albumina en suero ó plasma

Agente de Diagnóstico Resúmen y Principio

En 1964 el verde de Bromocresol (BCG) fué reportado como útil en la determinación cuantitativa de Albumina en suero por Bartholomew and Delaney¹ por Rodkey². Esta técnica coloreada fué publicada una vez más al año siguiente por Rodkey², que describió un procedimiento colorimétrico inverso de BCG para Albumina con un pH 7.05 y 615 nm. Al mismo tiempo Watson⁴ reportó que BCG por ser el más sensible para Albumina. El otro fué el Metil naranja ó HABA (2-(4'-hidroxiazobenceno)-ácido benzoico). Los dos compuestos son usados para la cuantificación de Albumina en suero por desarrollo de color siguieron reportes de Dow y Pinto¹ y por Miyada et al⁶ de BCG, el método es lineal hasta 5 g/dL, con una mínima interferencia de Lípidos, Hemoglobina y Bilirrubinas. Aumentando evidentemente la especificidad y sensibilidad, con excelente correlación para los valores de Albumina entre las técnicas BCG y Electroforesis.

El presente método es esencialmente el de Dumas, Watson y Biggs^{7,8} modificado para usar en lugar de buffer de succinato se utiliza un buffer de citrato a baja concentración y lectura final del color a 550 nm en lugar de 630 nm⁹.

Reactivos

Reactivo Albumina, Cat. No. 0286

Verde de Bromocresol 18.8 g/dL en buffer de citrato pH 4.2 ± 0.05 a 25°C, contiene surfactantes.

Estandar de Albumina (6.0 g/dL), Cat. No. 0287

Solución acuosa de fracción V de Albumina Bovina, equivalente al valor indicado en la etiqueta. Se añade azida de sodio como preservativo.

Precaución: Para uso do diagnóstico in vitro.

Preparación del Reactivo: El reactivo y el estandar están listos para su uso.

Estabilidad y Almacenamiento del Reactivo: El reactivo es estable sin abrir y conservado a 2 - 30°C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. El estandar es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta cuando se conserve a 2-8°C.

Lleve el reactivo y el estandar a temperatura ambiente antes de usar.

Materiales Requeridos Pero No Incluidos

Espectrofotómetro capaz de leer absorbancias a 550 nm (550-630nm)
Pipetas con divisiones exactas
Celdillas
Tubos para prueba y crónometro

Recolección y Preparación de la Muestra⁸

El suero debe separarse del coagulo tan pronto este formado en caso de usar plasma, este debe obtenerse con EDTA o heparina como anticoagulante.

Estabilidad de la Muestra: La Albumina ha sido reportada estable en suero por 1 semana a temperatura ambiente, un mes a 2-8°C e indefinidamente cuando se congela.

Substancias Interferentes¹⁰: El método BCG es reportado libre de interferencias para niveles bajos de lípidos, hemoglobina, bilirrubina (20 mg/dL) y salicilatos (60 mg/dL). Debe evitarse la hemolisis. Muestras altamente lipemicas deben ser corregidas usando un blanco de suero.

Analizador Automatizado

Parámetros:

Longitud de onda	550 nm
Tipo de reacción	Punto final
Dirección de la reacción	Incremento
Temperatura de la reacción	37°C
Relación muestra/reactivo	1:100
Tiempo de equilibrio	3 segundos
Tiempo de lectura	4 segundos
Tiempo lag	30 segundos
Absorbancia límite del blanco	0.450
Absorbancia alta	2.000 A
Estandar	6.0 g/dL
Normal bajo	3.8 g/dL
Normal alto	5.1 g/dL
Linealidad	7.0 g/dL

Los parámetros arriba mencionados deben ser empleados en analizadores automatizados programados para Albumina. Consulte su manual del instrumento para instrucciones de programación.

Procedimiento Manual

1. Pipetee a cada celdilla los siguientes volúmenes (mL) y mezcle bien.

	Reactivo Blanco (RB)	Estandar (S)	Muestra (U)
Reactivo	1.0	1.0	1.0
Estandar	—	0.01	—
Muestra	—	—	0.01

NOTA: Los volúmenes pueden ser incrementados al doble si el instrumento requiere volúmenes mayores de 1.0 mL.

2. Mezclar el contenido de cada celdilla. Desarrollo de color inmediato.

3. Lea S y U contra RB a 550 nm antes de 15 minutos.

Control de Calidad: El uso de suero control comercial o pool de sueros previamente probados y congelado en alícuotas es recomendable para cada serie de pruebas.

Resultado

Los valores se derivan de la siguiente ecuación:

$$1. \text{ Albumina en suero (g/dL)} = \frac{Au}{As} \times 6.0$$

Donde Au y As son los valores de las absorbancias de la muestra y el estandar respectivamente y 6.0 es la concentración del estandar (g/dL).

Cuando se requiera de un blanco de suero (en muestras icterica o hemolizada) marcar el tubo como SB, añadir 1.0 mL de solución salina "normal" y 0.01 mL de suero, mezclar por inversión, transferir a una celdilla y leer la absorbancia (Asb) contra agua destilada a 550 nm. Use este valor para corregir la muestra como sigue:

$$2. \text{ Albumina en suero (g/dL)} = \frac{Au - Asb}{As} \times 6.0$$

NOTA: Muestras que tengan valores de Albumina mayores de 7.0 g/dL se deben diluir 1:2 (1+1) con salina normal (cloruro de sodio 8.5 g/L) repetir la prueba y los resultados multiplicarlos por el factor de dilución 2.

Valores Esperados⁸

Rango normal 3.8 – 5.1 g/dL

Características⁷

Precisión: Pruebas por duplicado (21) en cada pool de 6 sueros (rango 3.2 – 4.3 g/dL) durante un período de 17 días mostrarán una desviación estandar (SD) de 0.07 – 0.12 g/dL.

Correlación: Comparación de los resultados derivados de 20 sueros de pacientes (3.2 – 4.3 g/dL) por el método descrito y por el procedimiento de Coulter automatizado directo (sin blanco) resultando un coeficiente de correlación (r) de .9738.

Linealidad: Cuando se realiza directamente este método es lineal de 0 – 7 g/dL.

Referencias

1. Bartholomew RJ, Delaney AM: Proc Australian Assoc Clin Biochem 1:64, 1964.
2. Rodkey FL: Clin Chem 10:606, 1964.
3. Rodkey FL: Clin Chem 11:478, 1965.
4. Watson D: IN Advances in Clinical Chemistry Vol 8, Ed by Sobotka H, Stewart CP. Academic Press, New York, 1965, p. 237-282.
5. Dow, Pinto PVC: Clin Chem 15: 1006, 1969.
6. Miyada DS et al: Clin Chem 18:52, 1972.
7. Dumas BT, Biggs HG: IN Standard Methods of Clinical Chemistry Vol 7, Academic Press New York, 1972.
9. Stanbio Laboratory data.
10. Young DS et al: Clin Chem 21:244D, 1975 (Special Issue).

Para asistencia tecnica llame: 800-531-5535 • (830) 249-0772

Fax (830) 249-0851 • e-mail: stanbio@stanbio.com

http://www.stanbio.com

Stanbio Laboratory • 1261 North Main Street • Boerne, Texas 78006

DN: RBR.0285CE.00 • Ultima Revisión: 08/04 • ProcedimeintoNo. 0285CE