

Determinación cuantitativa de α₁-antitripsina (α₁-ATRYP) IVD

Conservar a 2 - 8°C.

USO RECOMENDADO

Ensayo turbidimétrico para la cuantificación de α₁-antitripsina en suero o plasma humano.

PRINCIPIO DEL METODO

Los anticuerpos α₁-antitripsina forman compuestos insolubles cuando se combinan con la α₁-antitripsina de la muestra del paciente, ocasionando un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de α₁-antitripsina en la muestra, y que puede ser cuantificada por comparación con un calibrador de α₁-antitripsina de concentración conocida.

SIGNIFICADO CLINICO

La α₁-antitripsina es una glicoproteína sintetizada por las células del parénquima hepático y liberada al torrente circulatorio. Es el inhibidor de proteasas más importante del plasma, después de la α₂-macroglobulina. La α₁-antitripsina reacciona fuertemente con la elastasa, colágenasa de la piel, quimiotripsina, plasmina y trombina, y también muestra actividad inhibidora frente a proteasas de leucocitos y hongos.

La deficiencia de α₁-antitripsina es un problema hereditario, y aparece cuando ambos progenitores transfieren el gen anormal (PiZ) al recién nacido. Esta deficiencia está asociada a un elevado riesgo de desarrollo de enfisema pulmonar y enfermedades hepáticas como la colestasis neonatal, hepatitis, cirrosis y carcinoma hepatocelular.

El aumento de la α₁-antitripsina es consecuencia de inflamación o procesos necróticos. Su nivel en suero empieza a aumentar aproximadamente después de 24 horas de iniciar el proceso y alcanza un máximo a las 3-4 horas del inicio.

REACTIVOS

Diluyente (R1)	Tampón tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azida sódica 0,95 g/L.
Anticuerpo (R2)	Suero de cabra, α ₁ -antitripsina humana, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
Opcional:	Ref: 1102003 PROT CAL

CALIBRACION

El ensayo está calibrado frente al Material de Referencia ERM-DA470k/IFCC. Debe utilizarse el PROT CAL para la Calibración. El reactivo (tanto monoreactivo como bireactivo) se debe recalibrar cada mes, cuando los controles están fuera de especificaciones, y cuando el lote de reactivo o la configuración del instrumento cambia.

PREPARACION

Reactivos: Listos para el uso.

Curva de Calibración: Preparar las siguientes diluciones del PROT CAL en NaCl 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución del calibrador, multiplicar la concentración de α₁-ATRYP 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
NaCl 9 g/L (μL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

CONSERVACION 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 citrato sódico como anticoagulantes. Estable 7 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C.

No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

PROCEDIMIENTO

- Calentar los reactivos y el fotómetro (portacubetas) a 37°C.
- Condiciones del ensayo:
 - Longitud de onda: 340 nm
 - Temperatura: 37°C
 - Paso de luz de la cubeta: 1 cm
- 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 (A₁) después de la adición de la muestra.

6. Inmediatamente después, pipetear en la cubeta:

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

7. Mezclar y leer la absorbancia (A₂) 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.

CALCULOS

Calcular la diferencia de absorbancias (A₂ - A₁) obtenidas para los distintos calibradores, y construir la curva de calibración de los valores obtenidos frente a las concentraciones de α₁-antitripsina de cada dilución del Calibrador. La concentración de α₁-antitripsina en la muestra se calcula por interpolación de su diferencia (A₂ - A₁) en la curva de calibración.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. Spinreact dispone del 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

Recién nacidos: 124 - 348 mg/dL.

Adultos: 90 - 200 mg/dL.

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: hasta 500 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.

Límite de detección: valores por debajo de 16 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.

Efecto prozona: No se observa hasta valores de 1000 mg/dL.

Precisión: El reactivo ha sido probado durante 20 días con tres niveles diferentes de suero en un estudio basado en las normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	34.39 mg/dl	92.7 mg/dl	181.8 mg/dl
Total	4.2%	2.6%	2.8%
Intra-series	0.8%	1.1%	1.6%
Entre-series	3.8%	2.4%	2.3%
Entre-días	1.6%	0%	0%

Sensibilidad: Δ 3.4 mA / mg/dL.

Exactitud: El comportamiento de este método (y) fue comparado con el método Beckman Array 360 CE. 35 muestras de concentraciones de α₁-antitripsina entre 70 y 250 mg/dL fueron analizadas con ambos métodos.

El coeficiente de regresión (r) fue de 0,92 y la ecuación de la recta de regresión y = 0.8567x + 26,5.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (hasta 40 mg/dL), hemoglobina (hasta 8 g/L), lípidos (hasta 16 g/L) y factores reumatoides (hasta 790 UI/mL), no interfieren. Otras sustancias pueden interferir^{6,7}.

NOTAS

- 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.

BIBLIOGRAFIA

- Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
- Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34:517-520.
- Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
- Sharp HL. Hospital Practice; May 1971: 83-96
- Carrel RW et al. Assays Med Biochem 1978; 4: 83-119
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Pres, 1995.
- Friedman and Young. Effects of disease on clin. laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PRESENTACION

Ref.: 1102054	Cont.	R1. Diluyente: 1 x 40 mL R2. Anticuerpo: 1 x 10 mL
---------------	-------	---

