



α 1-Antitrypsin

Método inmunturbidimétrico para la determinación de α 1-antitripsina en suero o plasma

SIGNIFICACION CLINICA

La α 1-antitripsina es una glicoproteína de 52 kDa, producida en los hepatocitos, que integra la familia de inhibidores de las serinoproteasas. Es el inhibidor de proteasas más importante del organismo. Constituye la mayor parte de la banda α 1-globulina en la electroforesis de proteínas séricas.

Actúa como inhibidor de la función de enzimas como la tripsina, quimotripsina, plasmina, trombina y colagenasa. Su función más importante, sin embargo, es la inhibición de la elastasa leucocitaria, una enzima que actúa a nivel de los alvéolos pulmonares.

El déficit de α 1-antitripsina es un trastorno genético bien descrito que conduce a la formación de una cantidad menor a la normal de la enzima.

Los individuos con déficit hereditario de α 1-antitripsina presentan una variedad de manifestaciones clínicas, siendo las más frecuentes las respiratorias como enfisema y pérdida progresiva del pulmón.

En otras oportunidades la deficiencia de esta glicoproteína se manifiesta por trastornos hepáticos como hepatitis neonatal, hepatitis crónica activa, cirrosis y carcinoma hepatocelular. Por otra parte, se ha observado que la α 1-antitripsina se encuentra aumentada en procesos inflamatorios agudos, por lo que se utiliza su cuantificación como marcador de fase aguda de la inflamación.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La α 1-antitripsina reacciona con el anticuerpo específico formando inmunocomplejos insolubles. La turbidez causada por estos inmunocomplejos es proporcional a la concentración de α 1-antitripsina en la muestra y puede ser medida espectrofotométricamente.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: buffer fosfato, pH 7,4.

B. Reactivo B: anticuerpos policlonales anti- α 1-antitripsina humana (cabra) en buffer fosfato, pH 7,4.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Solución fisiológica.

- **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA** de Wiener lab.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Todas las muestras de pacientes deben manipularse como

si fueran capaces de transmitir infección.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

MUESTRA

Suero o plasma heparinizado

a) Recolección: obtener la muestra de la manera usual.

b) Aditivos: en caso de que la muestra a utilizar sea plasma, se recomienda el uso de heparina como anticoagulante.

c) Sustancias interferentes conocidas: no emplear muestras hemolizadas, lipémicas o contaminadas.

Las muestras que poseen precipitados deben ser centrifugadas previo a su ensayo.

No se observan interferencias por hemoglobina hasta 1100 mg/dl, bilirrubina hasta 24 mg/dl, triglicéridos hasta 2800 mg/dl, ni factor reumatoide hasta 300 UI/ml.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra debe ser preferentemente fresca. Si el ensayo no es realizado en el día, la muestra puede ser conservada 48 horas a 2-10°C o por períodos más prolongados de tiempo a -20°C.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro

- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas

- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados

- Tubos de Kahn o hemólisis

- Cronómetro

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 340 nm

- Temperatura de reacción: temperatura ambiente (25°C). El control de la temperatura no es crítico, pudiendo oscilar entre 22 y 30°C.

- Tiempo de reacción: 15 minutos

- Volumen de muestra: 30 ul

- Volumen final de reacción: 1830 ul

Los volúmenes de muestra y reactivos pueden variarse proporcionalmente, sin que se alteren los factores de cálculo.

PROCEDIMIENTO

CURVA DE CALIBRACION

Realizar en tubos de Kahn, las siguientes diluciones en solución fisiológica del **Calibrador Proteínas nivel alto**: 1:10; 1:20; 1:40; 1:80; 1:160, empleando solución fisiológica como punto cero.

Calibrador Proteínas diluido	30 ul
-------------------------------------	-------

Reactivo A	1500 ul
-------------------	---------

Homogeneizar y leer la absorbancia de cada dilución a 340 nm (DO_1) llevando a cero con agua destilada. Luego agregar:

Reactivo B	300 ul
-------------------	--------

Mezclar e incubar 15 minutos a temperatura ambiente. Leer la absorbancia a 340 nm (DO_2), llevando el aparato a cero con agua destilada.

Calcular la diferencia de absorbancia ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) para cada dilución del Calibrador Proteínas, incluyendo el punto cero.

Representar en papel milimetrado las diferencias de absorbancia (ΔA) en función de la concentración en mg/dl (g/l) del Calibrador Proteínas.

PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS

Realizar una dilución 1:10 de las muestras en solución fisiológica.

Muestra diluida	30 ul
------------------------	-------

Reactivo A	1500 ul
-------------------	---------

Homogeneizar y leer la absorbancia de cada dilución a 340 nm (DO_1) llevando a cero con agua destilada. Luego agregar:

Reactivo B	300 ul
-------------------	--------

Mezclar e incubar 15 minutos a temperatura ambiente. Leer la absorbancia a 340 nm (DO_2), llevando a cero con agua destilada.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Calcular la diferencia de absorbancia ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) correspondiente a cada muestra analizada. Interpolar esta ΔA en la curva de calibración para determinar la concentración en mg/dl (g/l) correspondiente a la muestra estudiada.

Las muestras con absorbancias superiores a la del **Calibrador Proteínas nivel alto** deben ser diluidas con solución fisiológica y procesadas nuevamente. Multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de **Control Inmunológico nivel 1** o **Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA** de Wiener lab. El control deberá procesarse de la misma manera que las muestras.

VALORES DE REFERENCIA

90 - 200 mg/dl (0,9 - 2,0 g/l)

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias Interferentes conocidas en MUESTRA. Se recomienda realizar una recalibración completa, cuando se cambia de lote de reactivo o cuando el control de calidad así lo determina.

Para preservar la integridad de los reactivos debe evitarse todo tipo de contaminaciones, empleando para la medición únicamente micropipetas perfectamente limpias y secas.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: realizando replicados de muestras con distintos niveles de α 1-antitripsina, se calculó la precisión intraensayo:

Nivel	D.S.	C.V.
33,2 mg/dl	$\pm 1,2$ mg/dl	3,7%
133,7 mg/dl	$\pm 2,3$ mg/dl	1,7%
312,1 mg/dl	$\pm 7,3$ mg/dl	2,4%

b) Límite de detección: 10 mg/dl

c) Rango de medición: 40 - 370 mg/dl

d) Efecto prozona: no se evidencia efecto prozona hasta 2000 mg/dl de α 1-antitripsina.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Referirse a las adaptaciones específicas de cada analizador.

PRESENTACION

60 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A
- 1 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1009351)

60 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A
- 1 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1009636)

BIBLIOGRAFIA

- Dati, F et al. - Proteins-Laboratory testing and clinical use, 2005.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.

Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control




Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-57



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina