



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)

60 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A
- 1 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1009944)*

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.



α 1-Antitrypsin

Método imunoturbidimétrico para a determinação de α 1-antitripsina em soro ou plasma

SIGNIFICADO CLÍNICO

A α 1-antitripsina é uma glicoproteína de 52 kDa, produzida nos hepatócitos que integra a família de inibidores das serinproteases. É o inibidor de proteases mais importante do organismo. Constitui a maior parte da faixa α 1-globulina na electroferese de proteínas séricas.

Atua como inibidor da função de enzimas como a tripsina, quimotripsina, plasmina, trombina e colagenase. A sua função mais importante, no entanto, é a inibição da elastase leucocitária, uma enzima que atua a nível dos alvéolos pulmonares.

O déficit de α 1-antitripsina é uma desordem genética bem descrita que conduz à formação de uma quantidade menor à normal da enzima.

Os indivíduos com déficit hereditário de α 1-antitripsina apresentam uma variedade de manifestações clínicas, sendo as mais frequentes as respiratórias como enfisema e perda progressiva do pulmão.

Em outras oportunidades a deficiência da glicoproteína é manifestada por desordens hepáticas como hepatite neonatal, hepatite crônica ativa, cirrose e carcinoma hepatocelular.

Além disso, foi observado que a α 1-antitripsina aumenta em processos inflamatórios agudos, portanto sua quantificação é utilizada como marcador de fase aguda da inflamação.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

A α 1-antitripsina reage com o anticorpo específico formando imunocomplexos insolúveis. A turbidez produzida pelos imunocomplexos é proporcional à concentração de α 1-antitripsina na amostra e pode ser lida em espectrofotômetro.

REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: tampão fosfato, pH 7,4.

B. Reagente B: anticorpos policlonais anti- α 1-antitripsina humana (cabra) em tampão fosfato, pH 7,4.

REAGENTES NÃO FORNECIDOS

- Solução fisiológica.

- **Calibrador Proteínas nível alto Turbitest AA** da Wiener lab.

INSTRUÇÕES DE USO

Reagentes Fornecidos: prontos para uso.

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Todas as amostras de pacientes devem ser manipuladas como potencialmente infectantes.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais

de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Reagentes Fornecidos: estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem. Não congelar.

AMOSTRA

Soro ou plasma heparinizado

a) Coleta: obter a amostra da maneira habitual.

b) Aditivos: se a amostra a ser utilizada for plasma se recomenda o uso de heparina como anticoagulante.

c) Substâncias interferentes conhecidas: não utilizar amostras hemolisadas, lipêmicas ou contaminadas.

As amostras que possuem precipitados devem ser centrifugadas antes de serem analisadas. Não se observam interferências por hemoglobina até 1100 mg/dl, bilirrubina até 24 mg/dl, triglicérides até 2800 mg/dl, nem fator reumatóide até 300 UI/ml.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: a amostra deve ser preferencialmente recém-coletada. Caso não seja possível realizar a prova na hora, a amostra pode ser conservada 48 horas sob refrigeração (2-10°C) ou por períodos maiores a -20°C.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro.

- Cubetas espectrofotométricas de faces paralelas.

- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.

- Tubos de Kahn ou hemólise.

- Cronômetro.

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda: 340 nm

- Temperatura de reação: temperatura ambiente (25°C). O controle de temperatura não é crítico, podendo oscilar entre 22 e 30°C.

- Tempo de reação: 15 minutos

- Volume de amostra: 30 μ l

- Volume final de reação: 1830 μ l

Os volumes de amostra e reagentes podem ser alterados proporcionalmente sem que sejam afetados os fatores de cálculo.

PROCEDIMENTO

CURVA DE CALIBRAÇÃO

Realizar em tubos de Kahn as seguintes diluições em solução fisiológica do **Calibrador Proteínas nível alto**: 1:10; 1:20; 1:40; 1:80 e 1:160 utilizando solução fisiológica como ponto zero.

Calibrador Proteínas diluído	30 ul
-------------------------------------	-------

Reagente A	1500 ul
-------------------	---------

Homogeneizar e ler a absorbância de cada diluição a 340 nm (DO_1) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

Reagente B	300 ul
-------------------	--------

Misturar e incubar 15 minutos a temperatura ambiente. Ler a absorbância a 340 nm (DO_2) zerando o aparelho com água destilada.

Calcular a diferença de absorbância ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) para cada diluição do Calibrador Proteínas, incluindo o ponto zero.

Representar numa folha de papel milimetrado as diferenças de absorbância ΔA em função da concentração em mg/dl (g/l) do Calibrador Proteínas.

PROCEDIMENTO PARA AMOSTRAS

Realizar diluições 1:10 da Amostra em solução fisiológica.

Amostra diluída	30 ul
------------------------	-------

Reagente A	1500 ul
-------------------	---------

Homogeneizar e ler a absorbância de cada diluição a 340 nm (DO_1) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

Reagente B	300 ul
-------------------	--------

Misturar e incubar 15 minutos a temperatura ambiente. Ler a absorbância a 340 nm (DO_2) zerando o aparelho com água destilada.

CÁLCULOS DOS RESULTADOS

Calcular a diferença de absorbância ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) que corresponde a cada amostra analisada. Interpolando os dados (ΔA) na curva de calibração para determinar a concentração em mg/dl (g/l) que corresponde à amostra estudada. As amostras com absorbância superior à do **Calibrador Proteínas nível alto** devem ser diluídas com solução fisiológica e processadas novamente. Multiplicar os resultados obtidos pelo fator de diluição.

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

É recomendado o uso de **Control Imunológico nível 1** ou **Control Imunológico nível 2 Turbitest AA** da Wiener lab. O controle é processado da mesma maneira que as amostras.

VALORES DE REFERÊNCIA

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

É recomendável que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. É recomendável realizar uma nova calibração quando for utilizado outro lote de reagente ou quando isto for determinado pelo controle de qualidade. Para preservar a integridade dos reagentes, todo tipo de contaminação deve ser evitado, utilizando para a medição somente micropipetas perfeitamente limpas e secas.

DESEMPENHO

a) Reprodutibilidade: realizando replicados de amostras com diferentes níveis de α 1-antitripsina, foi calculada a precisão intra-ensaio:

Nível	D.P.	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) Limite de detecção: 10 mg/dl.

c) Faixa de medição: 40 - 370 mg/dl.

d) Efeito prozona: não é evidenciado efeito prozona até 2000 mg/dl de α 1-antitripsina.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Vide as adaptações específicas para cada tipo de analisador.

APRESENTAÇÃO

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

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

60 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A
- 1 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1009944)*

REFERÊNCIAS

- 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.



α 1-Antitrypsin

Immunoturbidimetric method for quantitative determination of α 1-antitrypsin in serum or plasma

SUMMARY

α 1-antitrypsin (AAT) is a 52 kDa glycoprotein, produced by hepatocytes and belongs to the family of serine protease inhibitors. AAT constitutes the majority of the α 1-globulin fraction seen on protein electrophoresis.

AAT inactivates trypsin, chymotrypsin, collagenase, plasmin and thrombin. But the most important function is to inactivate leucocyte elastase, an enzyme which acts at alveolar level. AAT deficiency is inherited, resulting in pulmonary emphysema and hepatic disease.

Various presentations are possible, including neonatal hepatitis, chronic active hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma.

AAT levels are increased during acute inflammatory process, therefore its quantification is used as a marker of acute inflammation.

PRINCIPLE

The AAT reacts to the specific antibody forming insoluble immune complexes. The turbidity caused by these immune complexes is proportional to the AAT concentration in the sample and may be spectrophotometrically measured.

PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: phosphate buffer, pH 7.4.

B. Reagent B: polyclonal antibodies anti-human AAT (goat) in phosphate buffer, pH 7.4.

NON-PROVIDED REAGENTS

- Saline solution

- Wiener lab.'s **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA**

INSTRUCTIONS FOR USE

Provided Reagents: ready to use.

WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use.

All patient samples should be handled as capable of transmitting infectious diseases.

Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents: stable at 2-10°C until the expiration date stated on the box. Do not freeze.

SAMPLE

Serum or heparinized plasma

a) Collection: obtain in the usual way.

b) Additives: when using plasma, heparin is recommended as anticoagulant.

c) Known interfering substances: do not use hemolyzed, lipemic or contaminated samples. Before testing, particles in samples should be removed by centrifugation.

No interferences are observed with bilirubin up to 24 mg/dl, hemoglobin up to 1100 mg/dl, triglycerides up to 2800 mg/dl, and rheumatoid factor up to 300 IU/ml.

See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

d) Stability and storage instructions: sample should be preferably fresh. In case it cannot be processed immediately, the sample can be kept for up to 48 hours at 2-10°C or for longer period store at -20°C.

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer.

- Square spectrophotometric cuvettes.

- Micropipettes and pipettes for measuring the stated volumes.

- Kahn or hemolysis tubes.

- Stopwatch.

ASSAY CONDITIONS

- Wavelength: 340 nm

- Reaction temperature: room temperature (25°C). Temperature control is not critical, it can range between 22 and 30°C.

- Reaction time: 15 minutes

- Sample volume: 30 μ l

- Final reaction volume: 1830 μ l

Sample and reagents volumes may be proportionally changed without affecting the calculation factors.

PROCEDURE

CALIBRATION CURVE

In Kahn tubes dilute the **Calibrador Proteínas nivel alto** with saline solution 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 and 1:160, using saline solution as the zero point.

Diluted Calibrador Proteínas	30 μ l
-------------------------------------	------------

Reagent A	1500 μ l
------------------	--------------

Homogenize and measure the absorbance of each dilu

tion at 340 nm (OD_1), setting the instrument to zero with distilled water. Then, add:

Reagent B	300 ul
------------------	--------

Mix and incubate 15 minutes at room temperature. Measure the absorbance at 340 nm (OD_2), setting the instrument to zero with distilled water.

Calculate the absorbance difference ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) for each Calibrador Proteínas dilution, including the zero point.

Draw on graph paper the ΔA absorbance differences based on the Calibrador Proteínas concentration in mg/dl (g/l).

SAMPLES PROCEDURE

Dilute the Samples 1:10 with saline solution.

Diluted Sample	30 ul
-----------------------	-------

Reagent A	1500 ul
------------------	---------

Homogenize and measure the absorbance at 340 nm (OD_1), setting the instrument to zero with distilled water. Then add:

Reagent B	300 ul
------------------	--------

Mix and incubate 15 minutes at room temperature. Measure the absorbance at 340 nm (OD_2), setting the instrument to zero with distilled water.

Intra-assay Precision

Level	S.D.	C.V.
33.2 mg/dl	± 1.2 mg/dl	3.7%
133.7 mg/dl	± 2.3 mg/dl	1.7%
312.1 mg/dl	± 7.3 mg/dl	2.4%

b) Detection limit: 10 mg/dl

c) Measuring range: 40 - 370 mg/dl

d) Prozone effect: not noted until 2000 mg/dl AAT.

WIENER LAB. PROVIDES

60 ml: - 1 x 50 ml Reagent A

- 1 x 10 ml Reagent B

(Cat. N° 1009351)

60 ml: - 1 x 50 ml Reagent A

- 1 x 10 ml Reagent B

(Cat. N° 1009636)

60 ml: - 1 x 50 ml Reagent A

- 1 x 10 ml Reagent B

(Cat. N° 1009944)*

REFERENCES

- 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.

CALCULATIONS

Calculate the absorbance difference ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) for each sample tested. Interpolate this ΔA in the calibration curve to determine the concentration in mg/dl (g/l) corresponding to the sample under study. Samples with an absorbance above that of the Calibrador Proteínas nivel alto must be diluted with saline solution and processed again. Multiply the obtained result by the dilution factor.

QUALITY CONTROL METHOD

Wiener lab.'s **Control Inmunológico nivel 1** or **Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA**.

The Control is processed in the same manner as the samples.

REFERENCE VALUES

90 - 200 mg/dl (0.9 - 2.0 g/l)

Each laboratory should set its own reference values.

PROCEDURE LIMITATIONS

See Known interfering substances under SAMPLE.

It is recommended to perform a complete recalibration when changing Reagent lot or when suggested by Quality Control. Avoid contamination to preserve the integrity of the reagents. Only use thoroughly clean and dry micropipettes for measurement.

PERFORMANCE

a) Reproducibility: replicates of samples containing different AAT levels were assayed and the following results were obtained:



α1-Antitrypsin

Immunoturbidymetryczna metoda do ilościowego oznaczenia α1-antytrypsyny w surowicy lub osoczu

Nr kat. 1009351
Nr kat. 1009636
Nr kat. 1009944

WSTĘP

α1-antytrypsyna (AAT) jest glikoproteiną o ciężarze cząsteczkowym 52 kDa, produkowaną w hepatocytach i należącą do rodziny inhibitorów proteaz serynowych. AAT stanowi główny składnik frakcji alfa-1 globulin w elektroforezie białek. AAT inaktywuje trypsynę, chymotrypsynę, kolagenozę, plazminę i trombinę. Najważniejszym działaniem jest inaktywacja elastazy leukocytów, enzymu który działa na poziomie pęcherzykowym. Niedobór AAT jest dziedziczny i wywołuje rozedmnę płuc i schorzenia wątroby. Różnorakie postacie schorzenia występują od żółtaczki cholestatycznej u noworodków i przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby do marskości i raka wątrobokomorowego. Poziom AAT podwyższa się w aktywnych stanach zapalnych dlatego jej oznaczanie jest wykorzystywane jako marker aktywnego stanu zapalnego.

ZASADA DZIAŁANIA

AAT reaguje ze specyficznym przeciwciałem tworząc nierozpuszczalne kompleksy. Zmętnienie spowodowane przez te kompleksy immunologiczne jest proporcjonalne do stężenia AAT w próbce i może być mierzone przy użyciu spektrofotometru.

DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: bufor fosforanowy, pH 7.4.
B. Odczynnik B: poliklonalne przeciwciała przeciwko ludzkim AAT (koza) w buforze fosforanowym, pH 7.4.

NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

- **Calibrador Proteinás nivel alto Turbitest AA** Wiener lab.
- Roztwór soli fizjologicznej

INSTRUKCJA UŻYCIA

Dostarczane odczynniki: są gotowe do użycia.

OSTRZEŻENIA

Odczynniki tylko do diagnostyki "in vitro".
Wszystkie próbki pacjentów powinny być traktowane jako potencjalnie zakaźne.
Przy pracy z odczynnikami stosować środki ostrożności typowe dla rutynowych procedur w laboratoriach klinicznych. Odpady należy utylizować zgodnie z obowiązującymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczane odczynniki: trwałe jeśli są przechowywane w

temperaturze 2-10°C do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu. Nie zamrażać.

MATERIAŁ BADANY

Surowica krwi lub osocze pobrane na heparynę.

a) Pobranie: otrzymana w klasyczny sposób.
b) Substancje dodatkowe: dla osocza zaleca się heparynę jako antykoagulant.

c) Znane interferencje: nie należy używać próbek z hemolizą, lipemicznymi lub zanieczyszczonymi. Przed wykonaniem oznaczenia próbki należy odwirować.

Hemoglobina do poziomu 1100 mg/dl, bilirubina do 24 mg/dl, triglicerydy do 2800 mg/dl i czynnik reumatoidalny do 300 mg/dl nie mają wpływu na wynik badania.

Wpływ leków: patrz dane źródłowe Young D.S.

d) Trwałość i instrukcja przechowywania: oznaczenie należy wykonać niezwłocznie po pobraniu. Jeśli badanie nie może być wykonane od razu surowicę można przechować do 48 godzin w lodówce (2-10°C) lub przez dłuższy okres czasu po zamrożeniu (-20°C).

WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczone)

- Pipety i mikropipety.
- Kuwety.
- Spektrofotometr.
- Probówki do hemolizy lub Kahna.
- Stoper.

WARUNKI OZNACZENIA

- Długość fali: 340 nm.
 - Czas reakcji: temperatura pokojowa (25°C). Monitorowanie temperatury nie jest istotne, może się wahać w granicach od 22 do 30°C.
 - Czas reakcji: 15 minut.
 - Objętość próbki: 30 µl.
 - Objętość końcowa: 1830 µl.
- Objętość próbki i odczynników można zmieniać proporcjonalnie bez zmiany współczynników do przeliczeń.

PROCEDURA

KRZYWA KALIBRACYJNA

W probówkach kahna przygotować rozcieńczenia Calibrador Proteinás nivel alto w soli fizjologicznej 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 i 1:160, stosując roztwór soli jako punkt zerowy.

Rozcieńczony Calibrator Proteinas	30 µl
Odczynnik A	1500 µl
Wymieszać i zmierzyć absorbancje każdego rozcieńczenia przy długości 340 nm (OD ₁), ustawiając aparat na zero względem wody destylowanej.	
Odczynnik B	300 µl
Wymieszać i inkubować 15 minut w temperaturze pokojowej. Zmierzyć absorbancje przy długości 340 nm (OD ₂), ustawiając aparat na zero względem wody destylowanej. Wyliczyć różnicę absorbancji ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) dla każdego rozcieńczenia kalibratora łącznie z punktem zerowym. Wykreślić na papierze milimetrowym wartości ΔA w stosunku do poszczególnych stężeń Calibrator Proteinas w mg/dl (g/l).	
PROCEDURA DLA PRÓBEK Rozcieńczyć próbkę (1:10) solą fizjologiczną	
Rozcieńczona próbka	30 µl
Odczynnik A 1500 µl Wymieszać i zmierzyć absorbancje każdego rozcieńczenia przy długości 340 nm (OD ₁), ustawiając aparat na zero względem wody destylowanej. Następnie dodać:	
Odczynnik B	300 µl
Wymieszać i zmierzyć absorbancje każdego rozcieńczenia przy długości 340 nm (OD ₂), ustawiając aparat na zero względem wody destylowanej	

OBLICZENIA

Obliczyć przyrost absorbancji ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) dla każdej próbki badanej. Odnieść wartość ΔA do krzywej kalibracyjnej i znaleźć odpowiadające mu stężenie w mg/dl (g/l) w badanej próbce. Próbkę o absorbancji powyżej **Calibrator Proteinas nivel alto** należy rozcieńczyć przy użyciu soli fizjologicznej i oznaczyć jeszcze raz. Otrzymany wynik należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

METODA KONTROLI JAKOŚCI

Do każdego oznaczenia należy dołączać dwa poziomy materiału kontrolnego (**Control Inmunologico nivel 1 Turbitest AA, Control Inmunologico nivel 2 Turbitest AA**) Wiener lab.

Materiał kontrolny należy traktować w ten sam sposób jak próbki badane.

WARTOŚCI REFERENCYJNE

90 - 200 mg/dl (0.9 - 2.0 g/l)

Zgodnie z zaleceniami IFCC każde Laboratorium powinno ustalić własne zakresy wartości referencyjnych.

OGRANICZENIA PROCEDURY

Patrz znane interakcje z innymi substancjami w rozdziale MATERIAŁ.

Zaleca się wykonywanie całej krzywej kalibracyjnej gdy zmienia się seria odczynnika lub ze wskazań kontroli jakości. Aby zapobiec kontaminacji odczynników należy stosować wyłącznie czyste i suche końcówki do pipet.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) Powtarzalność: oznaczano dwa razy próbki o różnej zawartości AAT. Otrzymano następujące wyniki:

Precyzja wewnątrz seryjna

Poziom	S.D.	C.V.
33.2 mg/dl	± 1.2 mg/dl	3.7 %
133.7 mg/dl	± 2.3 mg/dl	1.7 %
312.1 mg/dl	± 7.3 mg/dl	2.4 %

b) czułość testu: 10 mg/dl.

c) zakres pomiarowy: 10 - 370 mg/dl.

d) Efekt wysokiej dawki: nie występuje do 2000 mg/dl AAT.

WIENER LAB. DOSTARCZA

60 ml: -1x 50 ml odczynnika A
-1x10 ml odczynnika B
(Nr kat. 1009351)

60 ml: -1x 50 ml odczynnika A
-1x10 ml odczynnika B
(Nr kat. 1009636)


60 ml: -1x 50 ml odczynnika A
-1x10 ml odczynnika B
(Nr kat. 1009944)


ŹRÓDŁA


- 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 // SÍMBOLOS // SYMBOLS // OZNACZENIA

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits. // Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.


 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro" // Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro" // This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices // Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea // Representante autorizado na Comunidade Europeia // Authorized representative in the European Community // Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Uso diagnóstico "in vitro" // Uso médico-diagnóstico "in vitro" // "In vitro" diagnostic medical device // Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos // Conteúdo suficiente para <n> testes // Contains sufficient for <n> tests // Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Fecha de caducidad // Data de validade // Use by // Użyć przed


 Límite de temperatura (conservar a) // Limite de temperatura (conservar a) // Temperature limitation (store at) // Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 No congelar // Não congelar // Do not freeze // Nie zamrażać

 Riesgo biológico // Risco biológico // Biological risks // Ryzyko biologiczne

 Volumen después de la reconstitución // Volume após a reconstituição // Volume after reconstitution // Objętość po rozpuszczeniu

 Contenido // Conteúdo // Contents // Zawartość

 Número de lote // Número de lote // Batch code // numer serii

 Elaborado por // Elaborado por // Manufactured by // Wytwórca

 Nocivo // Nocivo // Harmful // Substancja szkodliwa

 Corrosivo / Cáustico // Corrosivo / Caústico // Corrosive / Caustic // Substancja żrąca

 Irritante // Irritante // Irritant // Substancja drażniąca

 Consultar instrucciones de uso // Consultar as instruções de uso // Consult instructions for use // Przed użyciem zapoznać się z instrukcją


 Calibrador // Calibrador // Calibrator // Kalibrator

 Control // Controle // Control // Próba kontrolna

 Control Positivo // Controle Positivo // Positive Control // Próba kontrolna dodatnia

 Control Negativo // Controle Negativo // Negative Control // Próba kontrolna ujemna

 Número de catálogo // Número de catálogo // Catalog number // Numer katalogowy

 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