

α 1-Glycoproteína ácida - Turbidimetría Ref.: KGLY-004
Determinación cuantitativa de la α -1-Glicoproteína ácida (α 1-Ac GLY)
 Solo para uso in vitro en el laboratorio clínico
 Conservar a 2-8°C

1 x 40 mL R1
 1 x 10 mL R2

α 1-GLYCOPROTEINA ACIDA

PRINCIPIO DEL METODO

La α -1-Ac Gly es un ensayo turbidimétrico para la cuantificación de α -1-Ac Gly en suero o plasma humano.

Los anticuerpos anti- α -1-Ac Gly forman compuestos insolubles cuando se combinan con la α -1-Ac Gly de la muestra del paciente, ocasionando un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de α -1-Ac Gly en la muestra, y que puede ser cuantificada por comparación con un calibrador de α -1-Ac Gly de concentración conocida.

SIGNIFICADO CLINICO

La α -1-Ac Gly (también conocido como orosomucoide) es una glicoproteína sintetizada por las células del parénquima hepático, aunque los granulocitos y monocitos pueden contribuir significativamente a aumentar su nivel en el plasma durante procesos de sepsis. Esta glicoproteína se une a un gran número de componentes lipófilos (progesterona y derivados hormonales).

Es una proteína de fase aguda que aumenta de 3 a 4 veces su concentración normal en la mayoría de condiciones asociadas a procesos inflamatorios y necrosis de tejidos, y se considera uno de los indicadores más fiables de la colitis ulcerosa. El efecto de los glucocorticoides también puede incrementar su nivel en sangre.

Su síntesis y su nivel en plasma puede verse reducido por la presencia de estrógenos.

REACTIVOS

Diluyente (R1)	Tampón tris 20 mmol/L, g/L, PEG 8000, pH, 8,2. Azida sódica 0,95.
Anticuerpo (R2)	Suero de cabra, anti- α -1-Ac Gly humana, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.

CALIBRACION

El ensayo está calibrado frente al Material de Referencia CRM 470/TRPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). Se recomienda el uso del PROT CAL para la Calibración.

PREPARACIÓN

Reactivos: Listos para el uso.

Curva de Calibración: Preparar las siguientes diluciones del PROT CAL en ClNa 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución de α -1-Ac Gly, multiplicar la concentración de α -1-Ac Gly del calibrador por el factor correspondiente indicado en la tabla:

Dilución calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (μ L)	--	10	25	50	75	100
ClNa 9 g/L (μ L)	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 termostatzable 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 (μ L)	800
Muestra o Calibrador (μ L)	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 (μ L)	200
------------------------	-----

7. Mezclar y leer la absorbancia (A_2) exactamente después de 4 minutos de añadir el reactivo R2.

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

CALCULOS

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 α -1-Ac Gly de cada dilución del Calibrador. La concentración de α -1-Ac Gly 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.

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 50 - 120 mg/dL. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

1. **Límite de linealidad:** hasta 250 mg/dL (Nota 1), en las condiciones descritas del ensayo. Las muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 con ClNa 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 12,9 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.
3. **Sensibilidad:** 5,0 mA / mg/dL.
4. **Efecto prozona:** No se observa hasta valores de 1000 mg/dL.
5. **Precisión:**

Media (mg/dL)	Intraserie (n=10)		Interserie (n=10)	
	44,2	86	44,2	86
SD	1,53	1,95	2,67	3,25
CV	3,5	2,3	6,0	3,8

6. **Exactitud:** El comportamiento de este método (y) fue comparado con el método Immage de Beckman. 51 muestras de concentraciones de α -Ac Gly entre 50 y 120 mg/dL fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r) fue de 0,95 y la ecuación de la recta de regresión $y = 0,9304x + 6,5367$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS⁵⁻⁶

Bilirrubina (20 mg/dL), hemoglobina (10 g/L), lípidos (2.5 g/L) y factores reumatoides (200 UI/mL), no interfieren. Otras sustancias pueden interferir^{5,6}.

NOTAS

1. La linealidad depende del valor de concentración del calibrador utilizado.
2. 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

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. Bienvenue J et al. Clin Chem Clin Biochem 1981; 27: 721-726.
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, 3th ed. AACC Pres, 1997.