

a₁-ANTITRIPSINA

a₁-Antitripsina - Turbidimetría Ref.: KANT-003
Determinación cuantitativa de la a₁-Antitripsina (ATRYP)
 Solo para uso in vitro en el laboratorio clínico
 Conservar a 2-8°C 1 x 40 mL R1
 1 x 10 mL R2

PRINCIPIO DEL METODO

Ensayo turbidimétrico para la cuantificación de a₁-antitripsina en suero o plasma humano.

Los anticuerpos a₁-antitripsina forman compuestos insolubles cuando se combinan con la a₁-antitripsina de la muestra del paciente, ocasionando un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de a₁-antitripsina en la muestra, y que puede ser cuantificada por comparación con un calibrador de a₁-antitripsina de concentración conocida.

SIGNIFICADO CLINICO

La a₁-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 a₂-macroglobulina. La a₁-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 a₁-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 a₁-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, g/L, PEG 8000, pH, 8,2. Azida sódica 0,95.
Anticuerpo (R2)	Suero de cabra, a ₁ -antitripsina 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.

PREPARACION

Reactivos: Listos para el uso.

Curva de Calibración: Preparar las siguientes diluciones del PROT CAL en CiNa 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución del calibrador, multiplicar la concentración de a₁-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
CiNa 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 termostizable a 37°C para lecturas a 340 nm (320-360 nm).

MUESTRAS

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

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 (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.

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 (A₂ - A₁) obtenidas para los distintos calibradores, y construir la curva de calibración de los valores obtenidos frente a las concentraciones de a₁-antitripsina de cada dilución del Calibrador. La concentración de a₁-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. 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

- Límite de linealidad:** hasta 400 mg/dL (Nota 1), en las condiciones descritas del ensayo. Las muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 con CiNa 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.
- Sensibilidad:** Δ 3.4 mA / mg/dL.
- Efecto prozona:** No se observa hasta valores de 750 mg/dL.
- Precisión:**

Media (mg/dL)	Intraserie (n=10)		Interserie (n=10)	
	84,9	238	84,9	238
SD	2,4	6,6	2,4	8,9
CV	2,8	2,8	2,9	3,8

6. **Exactitud:** El comportamiento de este método fue comparado con reactivos de referencia. Los resultados obtenidos no muestran diferencias significativas. Los detalles del estudio están disponibles bajo solicitud.

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

- La linealidad depende del valor de concentración del calibrador utilizado.
- 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. AACCPres, 1995.
- Friedman and Young. Effects of disease on clin. laboratory tests, 3th ed. AACCPres, 1997.