

Quantitative determination of α_1 -Acid Glycoprotein (α_1 -Ac GLY) IVD

Store 2 - 8°C.

INTENDED USE

The α_1 -Ac Gly is a quantitative turbidimetric test for the measurement of α_1 -Ac Gly in human serum or plasma.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Anti- α_1 -Ac Gly antibodies when mixed with samples containing α_1 -Ac Gly, form insoluble complexes. These complexes cause an absorbance change, dependent upon the α_1 -Ac Gly concentration of the patient sample, that can be quantified by comparison from a calibrator of known α_1 -Ac Gly concentration.

CLINICAL SIGNIFICANCE

α_1 -Ac Glycoprotein (also known as orosomucoid) is a glycoprotein synthesized by hepatic parenchymal cells, but granulocytes and monocytes also contribute significantly to plasma levels in sepsis. It has long been known to bind a large number of basic and lipophilic compounds (progesterone and related hormones). It is an acute phase response protein that shows a 3 to 4-fold increase in most conditions associated with inflammation or tissue necrosis, and may be one of the most reliable indicators of clinical activity of ulcerative colitis. Levels also are increased by glucocorticoid effect. Synthesis and plasma levels are decreased by estrogens.

REAGENTS

Diluent (R1)	Tris buffer 20 mmol/L, PEG 8000, pH 8.3. Sodium azide 0.95 g/L.
Antibody (R2)	Goat serum, anti-human α_1 -Ac Glycoprotein, pH 7.5. Sodium azide 0.95 g/L.
Optional	Ref: 1102003 PROT CAL.

CALIBRATION

The assay has been standardized against the Reference Material CRM 470/RPPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). It must be used the PROT CAL to calibrate the reagent. The reagent (both monoreagent and bireagent) should be recalibrated every month, when the controls are out of specifications, and when changing the reagent lot or the instrument settings.

PREPARATION

Reagents: Ready to use.

Calibration Curve: Prepare the following PROT CAL dilutions in ClNa 9 g/L as diluent. Multiply the concentration of the α_1 -Ac Glycoprotein calibrator by the corresponding factor stated in table below to obtain the α_1 -Ac Glycoprotein concentration of each dilution.

Calibrator dilution	1	2	3	4	5	6
Calibrator (μ L)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (μ L)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0.25	0.5	0.75	1.0

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations are prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

Reagent deterioration: The presence of particles and turbidity.

Do not freeze; frozen Antibody or Diluent could change the functionality of the test.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Thermostatic bath at 37°C.
- Spectrophotometer or photometer thermostatable at 37°C with a 340 nm filter (320 - 360 nm).

SAMPLES

Fresh serum or plasma. EDTA or heparin should be used as anticoagulant. Stable 7 days at 2-8°C or 3 months at -20°C.

The samples with presence of fibrin should be centrifuged before testing. Do not use highly hemolyzed or lipemic samples.

PROCEDURE

- Bring the reagents and the photometer (cuvette holder) to 37°C.
- Assay conditions:

Wavelength : 340 nm
 Temperature : 37 °C
 Cuvette light path : 1cm

- Adjust the instrument to zero with distilled water.
- Pipette into a cuvette:

Reagent R1 (μ L)	800
Sample or Calibrator (μ L)	10

- Mix and read the absorbance (A_1) after the sample addition.
- Immediately, pipette into the cuvette:

Reagent R2 (μ L)	200
-----------------------	-----

- Mix and read the absorbance (A_2) of calibrators and sample exactly 4 minutes after the R2 addition.

Spinreact has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

CALCULATIONS

Calculate the absorbance difference (A_2-A_1) of each point of the calibration curve and plot the values obtained against the α_1 -Ac Gly concentration of each calibrator dilution. α_1 -Ac Gly concentration in the sample is calculated by interpolation of its (A_2-A_1) in the calibration curve.

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of manual and automated assay procedures. Spinreact PROT CONTROL (Ref.:1102004) is available. Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES²

Between 50 - 120 mg/dL. Each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

- Measurement range:** Up to 250 mg/dL under the described assay conditions. Samples with higher concentrations, should be diluted 1/5 in NaCl 9 g/L and retested again. The linearity limit depends on the sample / reagent ratio. It will be higher by decreasing the sample volume, although the sensitivity of the test will be proportionally decreased.
- Detection Limit:** Values less than 12.9 mg/dL give non-reproducible results.
- Prozone effect:** No prozone effect was detected upon 1000 mg/dL.
- Sensitivity:** Δ 5.0 mA / mg/dL.
- Precision:** The reagent has been tested for 20 days, using two levels of serum in a EP5-based study.

EP5	CV (%)	
		56.4 mg/dl
Total	3.3%	3.1%
Within Run	1.1%	1.6%
Between Run	3%	2.1%
Between Day	0.7%	1.6%

- Accuracy:** Results obtained using this reagent (y) were compared to those obtained using the method Immage from Beckman. 51 samples ranging from 50 to 120 mg/dL of α_1 -Ac Gly were assayed. The correlation coefficient (r) was 0.95 and the regression equation $y = 0.9304x + 6.5367$.

The results of the performance characteristics depend on the used analyzer.

INTERFERENCES⁵⁻⁶

Hemoglobin (10 g/L), bilirubin (20 mg/dL), rheumatoid factors (200 IU/mL) and lipemia (2.5 g/L), do not interfere. Other substances may interfere ^{5,6}.

NOTES

- Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

BIBLIOGRAPHY

- 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.
- Bienvenue J et al. Clin Chem Clin Biochem 1981; 27: 721-726.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.

PACKAGING

Ref.: 1102154

Cont.

R1. Diluent: 1 x 40 mL
R2. Antibody: 1 x 10 mL

Determinación cuantitativa de α_1 -Glicoproteína ácida (α_1 -Ac GLY) IVD

Conservar a 2 - 8°C.

USO RECOMENDADO

La α_1 -Ac Gly es un ensayo turbidimétrico para la cuantificación de α_1 -Ac Gly en suero o plasma humano.

PRINCIPIO DEL METODO

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, PEG 8000, pH, 8,3. Azida sódica 0,95 g/L.
Anticuerpo (R2)	Suero de cabra, anti- α_1 -Ac Gly 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 CRM 470/TRPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). 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 CINA 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
CiNa 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 termostatable 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.

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 ($A_2 - A_1$) 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. 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

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

CARACTERISTICAS DEL METODO

1. **Rango de medida:** hasta 250 mg/dL 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.
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:** El reactivo ha sido probado durante 20 días con dos niveles diferentes de suero en un estudio basado en las normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)	
	56.4 mg/dl	112.07 mg/dl
Total	3.3%	3.1%
Within Run	1.1%	1.6%
Between Run	3%	2.1%
Between Day	0.7%	1.6%

6. **Exactitud:** El comportamiento de este método (y) fue comparado con el método Immage de Beckman. 51 muestras de concentraciones de α_1 -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. 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.

PRESENTACION

Ref.: 1102154	Cont.	R1. Diluyente: 1 x 40 mL R2. Anticuerpo: 1 x 10 mL
---------------	-------	---

Détermination quantitative de α_1 -Glycoprotéine acide (α_1 -Ac GLY) IVD

Conserver à 2 - 8°C.

USAGE RECOMMANDÉ

L' α_1 -Ac Gly est un essai turbidimétrique pour quantifier l' α_1 -Ac Gly en sérum ou plasma humain.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Les anticorps anti- α_1 -Ac Gly forment des composés insolubles quand ils sont associés avec l' α_1 -Ac Gly de l'échantillon du patient, occasionnant un changement d'absorbance proportionnel à la concentration d' α_1 -Ac Gly dans l'échantillon, et qui peut être quantifiée par comparaison avec un calibreur d' α_1 -Ac Gly de concentration connue.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L' α_1 -Ac Gly (également connu comme orosomucoïde) est une glycoprotéine synthétisée par les cellules du parenchyme hépatique, même si les granulocytes et monocytes peuvent contribuer de manière significative à augmenter leur niveau dans le plasma pendant les processus de septicémie. Cette glycoprotéine s'unit à un grand nombre de composants lipophiles (progestérone et dérivés hormonaux).

C'est une protéine de phase aiguë qui augmente de 3 à 4 fois sa concentration normale dans la plupart des conditions associées à des processus inflammatoires et nécroses de tissus, et considérée comme un des indicateurs les plus fiables de la colite ulcéreuse. L'effet des glucocorticoïdes peut également augmenter son niveau dans le sang.

Sa synthèse et son niveau en plasma peut être réduit par la présence d'œstrogènes.

RÉACTIFS

Diluant (R1)	Tampon tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azoture de sodium 0,95 g/L.
Anticorps (R2)	Sérum de chèvre, anti- α_1 -Ac Gly humaine, pH 7,5. Azoture de sodium 0,95 g/L.
En option :	Réf : 1102003 PROT CAL

ÉTALONNAGE

L'essai est étalonné par rapport au matériel de référence CRM 470/TRPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). Pour l'étalonnage il faut utiliser le PROT CAL. Le réactif (aussi bien monoréactif que biréactif) doit être recalibré tous les mois, quand les contrôles sont en dehors des spécifications, et quand le lot de réactif ou la configuration de l'instrument change.

PRÉPARATION

Réactifs : Prêt à l'usage.

Courbe d'étalonnage : Préparer les dilutions suivantes du PROT CAL en CINA 9 g/L comme diluant. Pour obtenir les concentrations de chaque dilution de α_1 -Ac Gly, multiplier la concentration de α_1 -Ac Gly du calibreur par le facteur correspondant indiqué dans le tableau :

Dilution calibreur	1	2	3	4	5	6
Calibreur (μ L)	--	10	25	50	75	100
CINA 9 g/L (μ L)	100	90	75	50	25	-
Facteur	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

CONSERVATION ET STABILITÉ

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date d'expiration quand les flacons sont gardés bien fermés à 2-8°C, et que la contamination est évitée au cours de leur utilisation. Ne pas utiliser de réactifs qui ont dépassé la date d'expiration.

Indicateurs de détérioration : Présence de particules et de turbidité.

Ne pas congeler, la congélation de l'anticorps ou du diluant peut affecter leur fonctionnalité.

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE

- Bain - marie à 37°C.

- Spectrophotomètre ou photomètre avec cuvette thermostatable à 37°C pour des lectures à 340 nm (320-360 nm).

ÉCHANTILLONS

Sérum ou plasma frais, recueilli avec héparine ou EDTA comme anticoagulants. Stable 7 jours à 2-8°C ou 3 mois à -20°C.

Les échantillons avec des restes de fibrine doivent être centrifugés.

Ne pas utiliser d'échantillons fortement hémolysés ou lypémiques.

PROCÉDURE

1. Chauffer les réactifs et le photomètre (porte- cuvettes) à 37°C.

2. Conditions de l'essai :

Longueur d'onde : 340 nm

Température : 37°C

Passage de lumière de la cuvette: 1 cm

3. Ajuster le spectrophotomètre à zéro face à l'eau distillée.

4. Introduire la pipette dans une cuvette.

Réactif R1 (μ L)	800
Échantillon ou calibreur (μ L)	10

5. Mélanger et lire l'absorbance (A_1) après l'ajout de l'échantillon.

6. Introduire la pipette dans la cuvette tout de suite après :

Réactif R2 (μ L)	200
-----------------------	-----

7. Mélanger et lire l'absorbance (A_2) exactement 4 minutes après avoir ajouté le réactif R2.

Spinreact dispose d'adaptations détaillées pour la plupart des analyseurs automatiques du marché. Veuillez contacter votre distributeur pour obtenir des informations.

CALCULS

Calculer la différence d'absorbances ($A_2 - A_1$) obtenues pour les différents calibreurs, et construire la courbe d'étalonnage des valeurs obtenues face aux concentrations d' α_1 -Ac Gly de chaque dilution du calibreur. La concentration d' α_1 -Ac Gly dans l'échantillon est calculée par interpolation de sa différence ($A_2 - A_1$) dans la courbe d'étalonnage.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il est recommandé d'utiliser des sérums de contrôle, afin de contrôler les essais aussi bien lors de procédures manuelles qu'automatiques. Spinreact dispose du PROT CONTROL Réf : 1102004.

Chaque laboratoire doit établir son propre Contrôle de Qualité et des corrections en cas de non-conformité des contrôles en termes de tolérances exigées.

VALEURS DE RÉFÉRENCE²

Entre 50 - 120 mg/dL. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

1. **Limite de linéarité :** jusqu'à 250 mg/dL dans les conditions décrites de l'essai. Les échantillons avec des valeurs supérieures doivent être dilués 1/5 avec CINA 9 g/L et testés à nouveau. L'intervalle de mesure dépend du rapport échantillon/réactif. En réduisant le volume d'échantillon, on augmente la limite supérieure de l'intervalle de mesure, même si la sensibilité est réduite.

2. **Limite de détection :** les valeurs en dessous de 12,9 mg/dL entraînent des résultats peu reproductibles.

3. **Sensibilité :** 5,0 mA / mg/dL.

4. **Effet prozone :** Aucun effet prozone n'a été observé jusqu'à des valeurs de 1000 mg/dL.

5. **Précision :** Le réactif a été testé pendant 20 jours avec deux niveaux de sérum différents dans une étude basée sur les normes EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)	
	56,4 mg/dL	112,07 mg/dL
Total	3,3%	3,1%
Pendant l'exécution	1,1%	1,6%
Entre l'exécution	3%	2,1%
Entre jours	0,7%	1,6%

6. **Exactitude :** Le comportement de cette méthode (y) a été comparé avec la méthode Immage de Beckman. 51 échantillons de concentrations de α_1 -Ac Gly entre 50 et 120 mg/dL ont été analysés avec les deux méthodes. Le coefficient de régression (r) a été de 0,95 et l'équation de la droite de régression $y = 9304x + 6,5367$.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier selon l'analyseur utilisé.

INTERFÉRENCES⁵⁻⁶

Bilirubine (20 mg/dL), hémoglobine (10 g/L), lipides (2.5 g/L) et facteurs rhumatoïdes (200 UI/mL), n'interfèrent pas. D'autres substances peuvent interférer^{5,6}.

REMARQUES

1. Le diagnostic clinique ne doit pas être réalisé uniquement avec les résultats d'un seul essai, mais doit également tenir compte des données cliniques du patient.

BIBLIOGRAPHIE

- 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.
- Bienvenue J et al. Clin Chem Clin Biochem 1981; 27: 721-726.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACCPres, 1995.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACCPres, 1997.

PRÉSENTATION

Réf : 1102154	Cont.	R1. Diluant : 1 x 40 mL R2. Anticorps : 1 x 10 mL
---------------	-------	--

Determinação quantitativa de α_1 -Glicoproteína ácida (α_1 -Ac GLY) IVD

Armazenar a 2 - 8 °C.

UTILIZAÇÃO RECOMENDADA

A α_1 -Ac Gly é um ensaio turbidimétrico para a quantificação de α_1 -Ac Gly no soro ou plasma humano.

PRINCÍPIO DO MÉTODO

Os anticorpos anti- α_1 -Ac Gly formam compostos insolúveis quando se combinam com a α_1 -Ac Gly da amostra do doente, ocasionando uma alteração na absorvância proporcional à concentração de α_1 -Ac Gly existente na amostra, e que pode ser quantificada por comparação com um calibrador de α_1 -Ac Gly de concentração conhecida.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A α_1 -Ac Gly (também conhecida como orosomucóide) é uma glicoproteína sintetizada pelas células do parênquima hepático, embora os granulócitos e os monócitos possam contribuir significativamente para o aumento do seu nível no plasma durante processos de sépsis. Esta glicoproteína liga-se a um elevado número de compostos lipofílicos (progesterona e derivados hormonais).

É uma proteína de fase aguda que aumenta entre 3 a 4 vezes a sua concentração normal na maioria das condições associadas a processos inflamatórios e necrose de tecidos, e é considerada como um dos indicadores mais fiáveis de colite ulcerosa. O efeito dos glucocorticóides também pode aumentar o seu nível no sangue.

A sua síntese e o seu nível plasmático pode diminuir devido à presença de estrogénios.

REAGENTES

Diluyente (R1)	Tampão tris 20 mmol/l, PEG 8000, pH, 8,3. Azida sódica 0,95 g/l.
Anticorpo (R2)	Soro de cabra, anti- α_1 -Ac Gly humana, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
Opcional:	Ref: 1102003 PROT CAL

CALIBRAÇÃO

O ensaio está calibrado comparativamente ao Material de Referência CRM 470/TRPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). Deve utilizar-se o PROT CAL para a Calibração. O reagente (tanto monoreagente como bireagente) deve ser recalibrado todos os meses, quando os controlos estiverem fora de especificações, e quando se utilizar um lote de reagente diferente ou se ajustar o instrumento.

PREPARAÇÃO

Reagentes: prontos para utilização.

Curva de Calibração: Preparar as diluições seguintes de PROT CAL em NaCl 9 g/m como solvente. Para obter as concentrações de cada diluição de α_1 -Ac Gly, multiplicar a concentração de α_1 -Ac Gly do calibrador pelo factor correspondente indicado na tabela:

Diluição do calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (µl)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µl)	100	90	75	50	25	-
Fator	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até à data de validade que consta da etiqueta quando armazenados bem fechados a 2-8°C e as contaminações são evitadas durante a sua utilização. Não utilizar os reagentes após passar o prazo de validade.

Sinais de deterioração: Presença de partículas e turvação.

Não congelar; a congelação do Anticorpo ou do Solvente pode afectar a funcionalidade dos mesmos.

EQUIPAMENTO ADICIONAL

- Banho de água a 37 °C.
- Espectrofotómetro ou fotómetro com cubete termostaticável a 37 °C para leituras a 340 nm (320-360 nm).

AMOSTRAS

Soro ou plasma fresco, recolhido com heparina ou EDTA como anticoagulantes. Estável durante 7 dias a 2-8 °C ou durante 3 meses a -20 °C. As amostras com resíduos de fibrina devem ser centrifugadas. Não utilizar amostras altamente hemolizadas ou lipémicas.

PROCEDIMENTO

1. Colocar os reagentes e o fotómetro (suporte de cubetes) a 37 °C.
2. Condições dos ensaios:

Comprimento de onda: 340 nm
Temperatura: 37 °C
Caminho de luz da cubete: 1 cm

3. Ajustar o instrumento para zero com água destilada.

4. Pipeta numa cubete:

Reagente R1 (µl)	800
Amostra / Calibrador (µl)	10

5. Misturar e ler a absorvância (A_1) após a adição da amostra.

6. Imediatamente depois, pipetar na cubete:

Reagente R2 (µl)	200
------------------	-----

7. Misturar e ler a absorvância (A_2) exactamente 4 minutos após adicionar o reagente R2.

A Spinreact dispõe de instruções detalhadas para a maioria dos analisadores automáticos existente no mercado. Solicite informações ao seu distribuidor.

CÁLCULOS

Calcular a diferença de absorvâncias ($A_2 - A_1$) obtidas para os diferentes calibradores, e criar a curva de calibração dos valores obtidos comparativamente às concentrações de α_1 -Ac Gly de cada diluição do Calibrador. A concentração de α_1 -Ac Gly na amostra é calculada por interpolação da sua diferença ($A_2 - A_1$) na curva de calibração.

CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-se utilizar soros controlo para controlar os ensaios tanto no procedimento manual como no automático. A Spinreact dispõe do PROT CONTROL Ref: 1102004.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio esquema de Controlo de Qualidade e as ações corretivas no caso de os controlos não estarem de acordo com as tolerâncias aceitáveis.

VALORES DE REFERÊNCIA²

Entre 50 - 120 mg/dl. Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio intervalo de referência.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

1. **Limite de linearidade:** até 250 mg/dl nas condições descritas do ensaio. As amostras com concentrações superiores, devem diluir-se 1/5 em NaCl 9 g/l e serem testadas novamente. A linearidade depende da relação amostra/reagente. Diminuindo o volume de amostra, aumenta-se o limite superior de linearidade, embora se reduza a sensibilidade.
2. **Limite de detecção:** valores inferiores a 12,9 mg/dl originam resultados pouco reprodutíveis.
3. **Sensibilidade:** 5,0 mA / mg/dl.
4. **Efeito prozona:** Não se observa efeito prozona até valores de 1000 mg/dl.
5. **Precisão:** O reagente foi testado durante 20 dias, utilizando três concentrações FR distintas num estudo com base EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)	
	56,4 mg/dl	112,07 mg/dl
Total	3,3%	3,1%
Within Run	1,1%	1,6%
Between Run	3%	2,1%
Between Day	0,7%	1,6%

6. **Exactidão:** O comportamento deste método (y) foi comparado com o método Immage de Beckman. Foram analisadas 51 amostras com concentrações de α_1 -Ac Gly entre 50 e 120 mg/dl, com ambos os métodos. O coeficiente de regressão (r) foi de 0,95 e a equação da recta de regressão $y = 0,9304x + 6,5367$.

As características do método podem variar de acordo com o analisador utilizado.

INTERFERÊNCIAS⁵⁻⁶

A bilirrubina (20 mg/dl), hemoglobina (10 g/l), lípidos (2,5 g/l) e factores reumatóides (200 UI/ml), não interferem. Outras substâncias poderão interferir^{5,6}.

NOTAS

1. O diagnóstico clínico não deve realizar-se unicamente através dos resultados de um único ensaio, devendo considerar-se em simultâneo os dados clínicos do doente.

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.

APRESENTAÇÃO

Ref.: 1102154	Cont.	R1. Solvente: 1 x 40 ml R2. Anticorpo: 1 x 10 ml
---------------	-------	---