

Quantitative determination of α₁-antitrypsin (α₁-ATRYP)

IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Anti- α₁-antitrypsin antibodies when mixed with samples containing α₁-antitrypsin, form insoluble complexes. These complexes cause an absorbance change, dependent upon the α₁-antitrypsin concentration of the patient sample, that can be quantified by comparison from a calibrator of known α₁-antitrypsin concentration.

CLINICAL SIGNIFICANCE

α₁-antitrypsin is a glycoprotein synthesized in the hepatic parenchyma cells that circulates in the bloodstream. It is the second highest proteinase inhibitor in plasma after α₂-macroglobulin. α₁-antitrypsin is a strong reactor with elastase, skin collagenase, chymotrypsin, plasmin, and thrombin, and also shows inhibitory activity against fungal and leukocytic proteases.

α₁-antitrypsin deficiency is an inherited disorder, and occurs when both parents pass on an abnormal gene (PiZ) to their child. This deficiency is associated with a very high risk for development of pulmonary emphysema and diseases of the liver - neonatal cholestasis, hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma.

α₁-antitrypsin increases in inflammatory or necrosis process. Serum levels begin to rise after approximately 24 hours and peak at 3 or 4 days if the insult is acute and short-lived.

REAGENTS

| | |
|-----------------|---|
| R 1 | Tris buffer 20 mmol/L, PEG 8000, pH 8.3. |
| Diluent | Preservative. |
| R 2 | Goat serum, anti-human α ₁ -antitrypsin, pH 7.5. |
| Antibody | Preservative. |
| Optional | Ref: 1102003 PROT CAL. |

CALIBRATION

The assay has been standardized against the Reference Material ERM-DA470k/IFCC. 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 NaCl 9 g/L as diluent. Multiply the concentration of the α₁-antitrypsin calibrator by the corresponding factor stated in table below to obtain the α₁-antitrypsin concentration of each dilution.

| Calibrator dilution | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---------------------|-----|-----|------|-----|------|-----|
| Calibrator (μL) | -- | 10 | 25 | 50 | 75 | 100 |
| NaCl 9 g/L (μL) | 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

- Spinlab 180 autoanalyzer
- Laboratory equipment.

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.

REFERENCE VALUES

Newborn: Between 124 - 348 mg/dL.

Adults: 90 - 200 mg/dL.

Each laboratory should establish its own reference range.

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.

SPINLAB 180 APPLICATION

| | | | |
|---------------------|-------------|------------------|-----------|
| Name | Antitrypsin | Ref. male low | 90 mg/dL |
| Abbr. Name | ATRYP | Ref. male high | 200 mg/dL |
| Mode | Twopoints | Ref. female low | 90 mg/dL |
| Wavelength | 340 nm | Ref. female high | 200 mg/dL |
| Units | mg/dL | Ref. Ped. Low | 124 mg/dL |
| Decimals | 0 | Ref. Ped. High | 348 mg/dL |
| Low Conc. | 16 mg/dL | Control 1 | * |
| High Conc. | 400 mg/dL | Control 2 | * |
| Calibrator name | SP CAL | Control 3 | * |
| Prozone check | No | Correlat. factor | 1.000 |
| | | Correlat. offset | 0.000 |
| DUAL MODE | | | |
| Sample blank | No | | |
| R1 bottle (mL) | 25 mL | | |
| normal volume | 318 μL | | |
| rerun volume | 318 μL | | |
| Sample | | | |
| normal volume | 2.0 μL | | |
| rerun volume | 2.0 μL | | |
| R2 bottle (mL) | 5 mL | | |
| normal volume | 80 μL | | |
| rerun volume | 80 μL | | |
| Predilución | No | | |
| Slope blank | No | | |
| Point one,two | -3.130 sec. | | |
| Reagent blank | No | | |
| Low Absorbance | -0.100 Abs | | |
| High Absorbance | 3.000 Abs | | |
| R. Abs. L. Limit | -0.100 Abs | | |
| R. Abs. H. Limit | 3.000 Abs | | |
| Substr.Depletion | 3.000 Abs | | |

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measurement range: Up to 500 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 16 mg/dL give non-reproducible results.

Prozone effect: No prozone effect was detected upon 750 mg/dL

Precision: The reagent has been tested for 20 days, using three levels of serum in a EP5-based study.

| EP5 | CV (%) | | |
|-------------|-------------|------------|-------------|
| | 34.39 mg/dl | 92.7 mg/dl | 181.8 mg/dl |
| Total | 4.2% | 2.6% | 2.8% |
| Within Run | 0.8% | 1.1% | 1.6% |
| Between Run | 3.8% | 2.4% | 2.3% |
| Between Day | 1.6% | 0% | 0% |

Sensitivity: Δ 3.4 mA / mg/dL.

Accuracy: Results obtained using this reagent (y) were compared to those obtained using the Beckman Array 360 CE. 35 samples ranging from 70 to 250 mg/dL of α₁antitrypsin were assayed. The correlation coefficient (r) was 0.92 and the regression equation y = 0.8567x +26.5.

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

NOTES

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

BIBLIOGRAPHY

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. Sharp HL. Hospital Practice; May 1971: 83-96
5. Carrel RW et al. Assays Med Biochem 1978; 4: 83-119
6. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Pres, 1995.
7. Friedman and Young. Effects of disease on clin. laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PRESENTATION

| | | |
|----------------|-------|---------------|
| Ref: SP1102054 | Cont. | R1: 2 x 20 mL |
| | | R2: 2 x 5 mL |

Determinación cuantitativa de α₁-Antitripsina (α₁-ATRYP)

IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL METODO

Los anticuerpos α₁-antitripsina forman compuestos insolubles cuando se combinan con la α₁-antitripsina de la muestra del paciente, ocasionando un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de α₁-antitripsina en la muestra, y que puede ser cuantificada por comparación con un calibrador de α₁-antitripsina de concentración conocida.

SIGNIFICADO CLINICO

La α₁-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 α₂-macroglobulina. La α₁-antitripsina reacciona fuertemente con la elastasa, colágenasa de la piel, quimioproteína, plasmina y trombina, y también muestra actividad inhibidora frente a proteasas de leucocitos y hongos.

La deficiencia de α₁-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 α₁-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 les 3-4 horas del inicio.

REACTIVOS

| | |
|--------------------------|--|
| R 1 Diluyente | Tampón tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Conservante. |
| R 2 Anticuerpo | Suero de cabra, α ₁ -antitripsina humana, pH 7,5. Conservante. |
| Opcional | Ref: 1102003 PROT CAL. |

CALIBRACIÓN

El ensayo está calibrado frente al Material de Referencia ERM-DA470k/IFCC. 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 NaCl 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución del calibrador, multiplicar la concentración de α₁-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 |
| NaCl 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: Presencia de partículas y turbidez.

No congelar; la congelación del Anticuerpo o Diluyente puede afectar la funcionalidad de los mismos.

MATERIAL ADICIONAL

- Autoanalizador Spinlab 180
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o 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.

VALORES DE REFERENCIA

Recién nacidos: 124 – 348 mg/dL.

Adultos: 90 – 200 mg/dL.

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

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.

APLICACIÓN AL SPINLAB 180

SPITIS33-E 10/10/19

| | | | |
|-----------------------|--------------|-------------------|-----------|
| Nombre | Antitripsina | Ref. Hombre Inf. | 90 mg/dL |
| Nombre abreviado | ATRYP | Ref. Hombre Sup. | 200 mg/dL |
| Modo | Twopoint | Ref. Mujer Inf. | 90 mg/dL |
| Long. ondas | 340 nm | Ref. Mujer Sup. | 200 mg/dL |
| Unidades | mg/dL | Ref. Ped. Inf. | 124 mg/dL |
| Decimales | 0 | Ref. Ped. Sup. | 348 mg/dL |
| Conc. Inferior | 16 mg/dL | Val.pánico bajo | * |
| Conc. Superior | 400 mg/dL | Val.pánico alto | * |
| Calibrador | CAL PS | Control 1 | * |
| Chequeo prozona | No | Control 2 | * |
| | | Control 3 | * |
| | | Factor correl. | 1.000 |
| | | Offset de correl. | 0.000 |
| MODO DUAL | | | |
| Blanco muestra | No | | |
| Frasco R1 (mL) | 25 mL | | |
| Vol. normal | 318 μL | | |
| Vol. repet. | 318 μL | | |
| Muestra | | | |
| Vol. normal | 2.0 μL | | |
| Vol. repet. | 2.0 μL | | |
| Frasco R2 (mL) | 5 mL | | |
| Vol. normal | 80 μL | | |
| Vol. repet. | 80 μL | | |
| Predilución | No | | |
| Pendiente Blco. | No | | |
| 1er, 2º punto | -3.130 sec. | | |
| Blanco reactivo | No | | |
| Absorbancia inf. | -0.100 Abs | | |
| Absorbancia sup. | 3.000 Abs | | |
| Lim.Inf. Abs. React. | -0.100 Abs | | |
| Lim.Sup. Abs. React. | 3.000 Abs | | |
| Agotam. sustrato | 3.000 Abs | | |

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: hasta 500 mg/dL en las condiciones descritas del ensayo. Las muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 con NaCl 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.

efecto prozona: No se observa hasta valores de 1000 mg/dL.

Precisión: El reactivo ha sido probado durante 20 días con tres niveles diferentes de suero en un estudio basado en las normas EP5 (NCCLS).

| EP5 | CV (%) | | |
|--------------|-------------|------------|-------------|
| | 34.39 mg/dl | 92.7 mg/dl | 181.8 mg/dl |
| Total | 4.2% | 2.6% | 2.8% |
| Intra-series | 0.8% | 1.1% | 1.6% |
| Entre-series | 3.8% | 2.4% | 2.3% |
| Entre-días | 1.6% | 0% | 0% |

Sensibilidad: Δ 3.4 mA / mg/dL.

Exactitud: El comportamiento de este método (y) fue comparado con el método Beckman Array 360 CE. 35 muestras de concentraciones de α₁antitripsina entre 70 y 250 mg/dL fueron analizadas con ambos métodos.

El coeficiente de regresión (r) fue de 0,92 y la ecuación de la recta de regresión y = 0.8567x + 26,5.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

NOTAS

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. Sharp HL. Hospital Practice; May 1971: 83-96
5. Carrel RW et al. Assays Med Biochem 1978; 4: 83-119
6. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Pres, 1995.
7. Friedman and Young. Effects of disease on clin. laboratory tests, 3tn ed. AACC Pres, 1997.

PRESENTACION

Ref: SP1102054

Cont.

R1: 2 x 20 mL

R2: 2 x 5 mL