

α₁-Acid Glycoprotein

Turbidimetry

Quantitative determination of α₁-Acid Glycoprotein (α₁-Ac GLY) IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

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

CLINICAL SIGNIFICANCE

α₁-Ac Glycoprotein (also known as orosomucoid) is a glycoprotein synthesized by hepatic parenchymal cells, but granulocytes and monocytes may 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

R 1 Diluent	Tris buffer 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Preservative.
R 2 Antibody	Goat serum, anti-human α ₁ -Ac Glycoprotein, pH 7.5. Preservative.
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 NaCl 9 g/L as diluent. Multiply the concentration of the α₁-Ac Glycoprotein calibrator by the corresponding factor stated in table below to obtain the α₁-Ac Glycoprotein 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

Between 50 - 120 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	Glycoprot.	Ref. male low	50 mg/dL
Abbr. Name	GLY	Ref. male high	120 mg/dL
Mode	Twopoints	Ref. female low	50 mg/dL
Wavelength	340 nm	Ref. female high	120 mg/dL
Units	mg/dL	Ref. Ped. Low	*
Decimals	0	Ref. Ped. High	*
Low Conc.	10 mg/dL	Control 1	*
High Conc.	250 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	240 μL
rerun volume	240 μL
Sample	
normal volume	2.0 μL
rerun volume	2.0 μL
R2 bottle (mL)	5 mL
normal volume	60 μL
rerun volume	60 μL
Predilución	No
Slope blank	No
Point one,two	6.236 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 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	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%

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 α₁-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.

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. 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.

PRESENTATION

Ref: SP1102154	Cont.	R1: 2 x 20 mL
		R2: 2 x 5 mL

α₁-Glicoproteína ácida

Turbidimetría

Determinación cuantitativa de α₁-Glicoproteína ácida (α₁-Ac GLY)

IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL METODO

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

SIGNIFICADO CLINICO

La α₁-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

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

CALIBRACIÓN

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 NaCl 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución de α₁-Ac Gly, multiplicar la concentración de α₁-Ac Gly 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 (Nota 2).

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.

VALORES DE REFERENCIA

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

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.

APLICACIÓN AL SPINLAB 180

Nombre	Glicoprot.	Ref. Hombre Inf.	50 mg/dL
Nombre abreviado	GLY	Ref. Hombre Sup.	120 mg/dL
Modo	Twopoint	Ref. Mujer Inf.	50 mg/dL
Long. ondas	340 nm	Ref. Mujer Sup.	120 mg/dL
Unidades	mg/dL	Ref. Ped. Inf.	*
Decimales	0	Ref. Ped. Sup.	*
Conc. Inferior	10 mg/dL	Control 1	*
Conc. Superior	250 mg/dL	Control 2	*
Calibrador	CAL P5	Control 3	*
Chequeo prozona	No	Factor correl.	1.000
		Offset de correl.	0.000

MODO DUAL	
Blanco muestra	No
Frasco R1 (mL)	25 mL
Vol. normal	240 μL
Vol. repet.	240 μL
Muestra	
Vol. normal	2,0 μL
Vol. repet.	2,0 μL
Frasco R2 (mL)	5 mL
Vol. normal	60 μL
Vol. repet.	60 μL
Predilución	No
Pendiente Blco.	No
1er,2º punto	6.236 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

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.

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: hasta 250 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 12,9 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.

Sensibilidad: 5,0 mA / mg/dL.

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

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%

Exactitud: El comportamiento de este método (y) fue comparado con el método Immage de Beckman. 51 muestras de concentraciones de α₁-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.

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: SP1102154	Cont.	R1:	2 x 20 mL
		R2:	2 x 5 mL