α1-КИСЛЫЙ ГЛИКОПРОТЕИН (α1-acid glycoprotein (α1-Ac GLY)) 1102154

Турбидиметрический метод для определения α-1 кислого гликопротеина в сыворотке.

IVD (для диагностики in vitro) Хранить при 2–8°C.

Код: 1102154 R1 буфер 1x40 мл, R2 антитела 1x10 мл

ПРИНЦИП МЕТОДА

Тест на α1-кислый гликопротеин – это количественный иммунотурбидиметрический тест для определения α1-кислого гликопротеина в сыворотке и плазме человека. Антитела к α1-кислому гликопротеину при добавлении к пробам, содержащим α1-кислый гликопротеин, образуют нерастворимые комплексы. Эти комплексы вызывают изменение абсорбции пропорционально концентрации α1-кислого гликопротеина в пробе пациента. Расчет производится с помощью построения многоточечной калибровочной кривой по нескольким калибраторам.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

α1-кислый гликопротеин (также называемый орозомукоидом) – это гликопротеин, синтезируемый в клетках паренхимы печени, но гранулоциты и моноциты могут также вносить существенный вклад в уровень в плазме при сепсисе. Содержится в высоких концентрациях в углеводах. Выводится с помощью клубочковой фильтрации. Давно известно, что он связывается с большим количеством оснований и липофильных веществ (прогестерон и связанных с ним гормонов).

Относится к белкам острой фазы, показывает 3-х 4-х кратное увеличение при большинстве состояний, ассоциированных с воспалениями или некрозом тканей, и может быть одним из надежнейших индикаторов клинической активности язвенных колитов. Уровни также повышаются под действием глюкокортикоидов. Синтез и уровень в плазме снижается под действием эстрогенов.

РЕАГЕНТЫ

R1 дилюент	ТРИС-буфер 20ммоль/л, ПЭГ 8000, pH 8,3. Азид натрия 0,95 г/л.
R2 антитела	Козья сыворотка, Антитела к человеческому α1-кислому гликопротеину, pH 7.5. Азид натрия 0,95 г/л.
Дополнительно: не входит в набор	Калибратор протеинов (PROT CAL), кат.№ 1102003.

КАЛИБРОВКА

Тест был стандартизован по Референсному Материалу CRM 470/RPPHS (Институт Референсных Материалов и Измерений, IRMM). Для калибровки рекомендуется использовать Калибратор протеинов (PROT CAL), кат.№ 1102003.

ПОДГОТОВКА

Реагенты: готовы к использованию.

Калибровочная кривая: Подготовьте следующие разведения калибратора протеинов в физрастворе (NaCl 9г/л). Умножьте концентрацию α1-кислого гликопротеина в калибраторе на соответствующий коэффициент, приведенный в таблице, для получения концентрации α1-кислого гликопротеина каждого разведения.

Стандарты	1	2	3	4	5	6
Калибратор (мкл)	–	10	25	50	75	100
NaCl 9г/л (мкл)	100 мкл	90 мкл	75 мкл	50 мкл	25 мкл	–
Концентрация	0	0,1xC	0,25xC	0,5xC	0,75xC	1,0xC

Концентрация калибратора указана в инструкции к калибратору протеинов (**C**).

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Все компоненты набора стабильны вплоть до указанной на этикетке даты (Expiration Date) при хранении в плотно закрытом флаконе при 2-8°C с предотвращением контаминации при использовании. Не используйте реагенты после окончания срока годности.

Признаки порчи реагентов: присутствие частиц или мутности.

Не замораживайте, замороженные антитела или дилюент могут изменять функциональную активность.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- Термостат с 37°C.
- Спектрофотометр или термостатируемый анализатор (37°C) с фильтром 340нм (320–360нм).

ПРОБЫ

Свежие сыворотка или плазма. В качестве антикоагулянтов должны быть использованы гепарин или ЭДТА. Стабильность 7 дней при 2-8°C или 3 месяца при –20°C. Пробы с фибрином должны быть центрифугированы перед тестированием. Не используйте гемолизированные или липемические пробы.

ПРОЦЕДУРА

1. Доведите реагенты и анализатор (держатель кюветы) до 37°C.
2. Условия теста:

Длина волны:	340 нм (320–360нм).
Температура:	37°C.
Оптический путь:	1см

Метод: кинетика по фиксир. времени по многоточечной калибровке, время задержки 3с, время реакции – 240с.

3. Установите прибор на ноль по дистиллированной воде.
4. Отдозируйте в кюветы:

	Метод	Микрометод	ChemWell
Реагент R1 (мкл)	800 мкл	200 мкл	160 мкл
Калибраторы (мкл)	10 мкл	2,5 мкл	2 мкл
Проба (мкл)	10 мкл	2,5 мкл	2 мкл

5. Перемешайте, измерьте абсорбцию (A1) при 340 нм после добавления пробы.
6. Затем немедленно пипетируйте в кюветы:

Реагент R2 (мкл)	200 мкл	50 мкл	40 мкл

7. Перемешайте и точно через 4 минуты после добавления R2 измерьте абсорбцию (A2).

Реагенты могут быть использованы с различными автоматическими биохимическими анализаторами или в ручных процедурах на фотометрах с подходящей длиной волны. **У Spinreact есть адаптации к различным автоматическим анализаторам, которые доступны по запросу**.

РАСЧЕТЫ

Рассчитайте изменение абсорбции (ΔA=A1–A2) для каждой точки калибровочной кривой (каждого стандарта) и постройте калибровочную кривую зависимости концентрации каждого стандарта от его изменения абсорбции. Концентрация α1-кислого гликопротеина в пробе рассчитывается интерполяцией ее ΔA к калибровочной кривой.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля характеристик ручных и автоматических процедур рекомендуется использовать контрольную сыворотку Spinreact PROT CONTROL (кат.№: 1102004). Каждая лаборатория должна представить свою собственную схему контроля качества и действия по исправлению, если контроли вне приемлемых диапазонов.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ[2]

50 – 120 мг/дл

Каждая лаборатория должна представить свой референсный диапазон.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

1. ***Линейность***: до 250 мг/дл (Примечание 1), при описанных выше условиях. Пробы с большими концентрациями должны быть разведены 1/5 физраствором (NaCl 9г/л) и тестированы повторно, результат умножить на 5. Предел линейности зависит от соотношения проба/реагент. Он будет повышаться при снижения объема сыворотки, при этом также будет пропорционально снижаться чувствительность.
2. ***Определяемый уровень***: Значения ниже 12,9 мг/дл дают невоспроизводимые результаты.
3. ***Эффект прозоны***: Не наблюдается эффекта прозоны до 1000 мг/дл.
4. ***Чувствительность***: Δ 5,0 мА / мг/дл.
5. ***Воспроизводимость***: Реагент был тестирован в течение 20 дней с использованием сыворотки двух уровней:

	Внутри серии тестов (n=10)	
Среднее (мг/дл)	44,2	86
SD	1,53	1,95
CV %	3,5	2,3

Между сериями тестов (n=10)	
44,2	86
2,67	3,25
6,0	3,8

6. ***Правильность***: результаты, полученные с помощью этого теста (y) при сравнении с другими, полученными с использованием коммерческих реагентов (x) с похожими характеристиками, не давали систематических различий. Результаты обследования 51 пациента в диапазоне α1-кислого гликопротеина 50 – 120 мг/дл были следующими:
   Коэффициент корреляции: (r) 0,95. Уравнение регрессии: y=0,930x + 6,5367.

Результаты характеристик теста зависят от используемого анализатора.

ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

Не наблюдается интерференции с гемоглобином (до 10 г/л), билирубином до (20 мг/дл), ревматоидными факторами (до 200 МЕ/мл) и липемическими сыворотками (до 2,5 г/л). Другие вещества могут влиять[5,6].

ПРИМЕЧАНИЯ

Линейность зависит от концентрации калибратора.

Клинический диагноз не должен ставиться по результатам одиночного теста; он должен быть основан на совокупности клинических и других лабораторных данных.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Phipladelphia, 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, 3tn ed. AACC Pres, 1997.