



Kit alfa-1-antitripsina Optilite®

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*

Código de Producto: NK034.OPT

Producto fabricado por:
The Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, Reino Unido
www.bindingsite.co.uk

The Binding Site Group Limited Sucursal en España
Bruc 72 2ª planta, 08009 Barcelona, España
Teléfono 902027750
Fax: 902027752
e-mail: info@bindingsite.es
web: www.bindingsite.es

Optilite® es una marca registrada de The Binding Site Group Limited (Birmingham, Reino Unido) en ciertos países.



1 APLICACIÓN

El kit alfa-1-antitripsina Optilite está diseñado para la cuantificación *in vitro* de alfa-1-antitripsina en suero, o en plasma obtenido con heparina lito o EDTA en el analizador Optilite de Binding Site. La determinación de alfa-1-antitripsina es útil en el diagnóstico de determinadas enfermedades como la cirrosis hepática en adultos. Además, se ha asociado la deficiencia de alfa-1-antitripsina con enfisema pulmonar. El resultado del test se debe tener en cuenta junto con otras determinaciones clínicas y de laboratorio.

2 RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Alfa-1-antitripsina es un inhibidor de la serín proteasa, que actúa principalmente en la elastasa de neutrófilo, protegiendo el pulmón de la degradación que causa esta enzima. Los niveles reducidos en suero están asociados con enfermedades hepáticas y pueden también tener lugar en los primeros años de la infancia, en edades avanzadas y por deficiencia hereditaria. Esto puede provocar un desequilibrio entre la elastasa de neutrófilo en el pulmón y las anti-elastasas que se ocupan de proteger el pulmón, y puede tener como consecuencia enfisema (refs. 1-2).

3 PRINCIPIO

La evaluación de la concentración de un antígeno soluble por turbidimetría supone la reacción con un antisuero específico para formar complejos insolubles. Al pasar la luz a través de la suspensión formada, se transmite y focaliza una porción de esta luz a un fotodiodo mediante un sistema de lentes ópticas. La cantidad de luz transmitida es indirectamente proporcional a la concentración de proteína específica en la muestra analizada. Las concentraciones se calculan automáticamente en referencia a una curva de calibración almacenada en el instrumento.

4 REACTIVOS

- 4.1 Antisuero:** Se suministra en forma líquida estabilizada. Conservantes: 0,099% de azida sódica, 0,1% de ácido E-amino-n-caproico (EACA) and 0,01% de benzamidina.
- 4.2 Calibradores y controles:** Preparados a partir de una mezcla de suero humano, se suministran en forma líquida estabilizada. Conservantes: 0,099% de azida sódica, 0,1% de ácido E-amino-n-caproico (EACA), 0,1% EDTA y 0,01% de benzamidina. La concentración que aparece en el certificado de control de calidad se ha obtenido por comparación con el material de referencia internacional DA470k.
- 4.3 Buffer de reacción:** Contiene 0,099% de azida sódica como conservante.

5 PRECAUCIONES

Los sueros humanos suministrados en el kit han sido sometidos a screening para donantes, resultando negativos a la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), de los anticuerpos del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH1 y VIH2) y del virus de la hepatitis C. Las técnicas usadas están aprobadas por la FDA (USA) o aprobadas para el diagnóstico *in vitro* en la UE (Directiva 98/79/EC, Anexo II); sin embargo dichos ensayos no garantizan la ausencia de agentes infecciosos. Deben establecerse métodos de manipulación y eliminación adecuados para todos los materiales potencialmente infecciosos, incluyendo el uso de guantes y vestuario protector adecuado en todo momento al manipular este producto. Los procedimientos deben ser accesibles sólo a personal con formación específica.

ADVERTENCIA: Este producto contiene azida sódica y debe ser manipulado con precaución; se deben usar guantes y vestuario protector adecuado en todo momento al manipular este producto. No trague ni permita el contacto con la piel o las mucosas (especialmente si hay heridas). En caso de contacto, lave con abundante agua y consulte a un médico. Con el plomo y el cobre pueden formarse azidas metálicas explosivas. Cuando se elimine el reactivo, lave con mucha agua los recipientes para evitar la acumulación de azida.

Este producto debe ser utilizado por personal especializado para los fines indicados en el apartado Aplicación. Se recomienda observar estrictamente el procedimiento indicado. No se garantizan resultados válidos obtenidos utilizando parámetros diferentes que los indicados.

Los reactivos de diferentes lotes **NO** son intercambiables.

6 ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Los kits no abiertos deben conservarse a 2-8°C y se pueden usar hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del kit. **NO CONGELAR.** El reactivo, el calibrador y los controles pueden conservarse refrigerados a 2-8°C durante tres meses como máximo tras la apertura, tomando precauciones para evitar la evaporación. El reactivo se puede conservar, sin proteger, hasta 30 días en el analizador Optilite, siempre y cuando se deje encendido el interruptor de alimentación.

7 OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras de sangre deben proceder de extracciones venosas, y en el caso del plasma separarlo lo antes posible. La sangre se ha de dejar que coagule de modo natural y separar el suero lo antes posible para prevenir la hemólisis. El suero/plasma debe conservarse a 2-8°C si el ensayo se ejecuta dentro de 48 horas. Para periodos más largos, se recomienda alícuotar y conservar sin diluir a -20°C o temperatura inferior. No congelar y descongelar más de una vez. Evitar el uso de sueros/plasmas lipémicos, hemolizados o contaminados por microbios, o de muestras que contengan partículas. Es responsabilidad de cada laboratorio el uso de todas las referencias disponibles y/o sus propios estudios para determinar los criterios de estabilidad específicos para su laboratorio (Ref 3).

8 METODOLOGÍA

8.1 Material suministrado

- 8.1.1 1 x 100 Tests *Optilite A1AT Reagent* (reactivo alfa-1-antitripsina Optilite)
8.1.2 1 x 2.1mL *Optilite A1AT Calibrator* (calibrador alfa-1-antitripsina Optilite)
8.1.3 1 x 1.5mL *Optilite A1AT High Control* (control elevado alfa-1-antitripsina Optilite)
8.1.4 1 x 1.5mL *Optilite A1AT Low Control* (control bajo alfa-1-antitripsina Optilite)

8.2 Materiales necesarios no suministrados con el kit

- 8.2.1 Materiales necesarios para la preparación de las muestras, como tubos para la recolección de la sangre, centrífuga, etc.
8.2.2 Analizador Optilite completamente equipado.
8.2.3 Las instrucciones actuales de funcionamiento del analizador: Manual de funcionamiento Optilite, código INS700.OPT
8.2.4 Diluyente 1 Optilite, código de producto IK709

8.3 Preparación de los reactivos

Antes de cargar, mezclar por inversión evitando la formación de espuma o burbujas que podrían interferir en el momento de la aspiración del reactivo.

8.4 Procedimiento de la prueba

El usuario deberá estar familiarizado con el funcionamiento del analizador Optilite antes de realizar la prueba. Preparar el equipo para su uso según las instrucciones del manual de funcionamiento Optilite.

- 8.4.1 Los parámetros de la prueba para este ensayo se indican en el código de barras del certificado de control de calidad que acompaña al kit (QCcert034.OPT). Escanee los códigos Barcode 1 y Barcode 2 para cargar los parámetros.

8.5 Rango de medición

El rango de medición aproximado del ensayo se indica en la siguiente tabla:

Dilución del analizador Optilite	Rango aproximado (g/L)
1+9	0.35 – 5.00

9 CONTROL DE CALIDAD

Se deben analizar al menos dos niveles de material de control adecuado una vez al día como mínimo. Además, se deben analizar controles tras la calibración, con cada nuevo lote de reactivo y tras el mantenimiento específico o los pasos de resolución de problemas descritos en el manual de funcionamiento Optilite.

El análisis de control se debe realizar de acuerdo a los requerimientos reglamentarios y el procedimiento estándar de cada laboratorio.

Las concentraciones de los controles suministrados están indicadas en el certificado de control de calidad que acompaña al kit (QCcert034.OPT). Los resultados obtenidos sólo pueden aceptarse si los resultados de los controles entran dentro del $\pm 15\%$ de las concentraciones indicadas.

En caso de que un control dé un resultado fuera del rango y se haya empleado una curva de calibración almacenada, se recomienda calibrar de nuevo el test. Si aún después de la nueva calibración estuviera fuera de rango, deberá verificarse el instrumento y los parámetros programados. Si no se solucionara el problema, rogamos se dirijan al soporte técnico de su proveedor.

10 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- 10.1 Los tests turbidimétricos no son adecuados para la determinación de muestras altamente lipémicas o hemolíticas o muestras que contengan complejos inmunes circulantes (CICs) dado que estas muestras pueden producir una cantidad impredecible de luz dispersa no especificable. Los resultados no previstos deberán verificarse con un método alternativo.
- 10.2 No debe realizarse el diagnóstico ni iniciarse un tratamiento basándose únicamente en la medida de alfa-1-antitripsina. Deben tenerse en cuenta también la historia clínica y resultados de otras pruebas de laboratorio.



- 10.3 En este ensayo no se ha validado el uso de muestras pediátricas, muestras procedentes de mujeres embarazadas o de individuos a quienes se haya administrado estrógeno.
- 10.4 Las variaciones en la temperatura del reactivo puede afectar a los resultados. Asegúrese de que los reactivos se transfieran directamente desde el refrigerador al compartimento refrigerado para reactivos del analizador: no deje que pasen a temperatura ambiente.
- 10.5 Se pueden encontrar niveles elevados de alfa-1-antitripsina en pacientes con inflamación aguda.

11 VALORES ESPERADOS

Los rangos indicados se han obtenido a partir de un número limitado de muestras y son únicamente orientativos. Los valores esperados pueden variar en función de la edad, sexo, tipo de muestra, dieta y localización geográfica. Cada laboratorio debe verificar la transmisibilidad de los valores esperados a la población a analizar y, si es necesario, establecer su propio rango de referencia.

Rango en suero de adultos

El intervalo de referencia de alfa-1-antitripsina en suero según la bibliografía es 0,9 – 2,0 g/L (Ref. 4). Se verificó con el suero de 50 donantes.

12 CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

12.1 Precisión

El estudio de precisión se realizó siguiendo las pautas CLSI EP5-A2 *Evaluation of Precision Performance of Clinical Quantitative Measurement Methods*. El estudio se llevó a cabo durante 21 días laborables, con 2 series al día. Un usuario midió los resultados de 5 muestras diferentes usando 1 lote de reactivo en 3 analizadores.

	Resumen de Precisión								
	Media (g/L)	Intra-ensayo		Inter-ensayo		Inter día		Total	
		SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
Level 1	0.56	0.01	1.4	0.01	2.6	0.02	3.7	0.03	4.7
Level 2	0.68	0.01	0.9	0.02	2.7	0.02	3.1	0.03	4.2
Level 3	0.83	0.01	1.4	0.02	2.4	0.03	3.5	0.04	4.5
Level 4	1.14	0.01	1.1	0.02	1.8	0.03	3.0	0.04	3.6
Level 5	4.33	0.06	1.3	0.08	1.9	0.14	3.2	0.17	4.0

12.2 Estudio comparativo

Se llevó a cabo un estudio comparativo analizando 124 muestras (49 muestras normales y 75 muestras clínicas) con el kit alfa-1-antitripsina Optilite y un kit alternativo disponible en el mercado. El análisis de regresión Passing Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 0.98x - 0.01 \text{ (g/L)} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{analizador prediado})$$

$$\text{coeficiente de correlación } r = 0.997 \quad (\text{calculado por regresión lineal})$$

Se llevó a cabo un estudio comparativo analizando 56 pares de muestras de suero y EDTA en plasma con el kit alfa-1-antitripsina Optilite. El análisis de regresión Passing Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 1.02x - 0.05 \text{ (g/L)} \quad (y = \text{EDTA en plasma}; x = \text{suero})$$

$$\text{coeficiente de correlación } r = 0.997 \quad (\text{calculado por regresión lineal})$$

Se llevó a cabo un estudio comparativo analizando 56 pares de muestras de suero y heparina lio en plasma con el kit alfa-1-antitripsina Optilite. El análisis de regresión Passing Bablok generó los siguientes resultados:

$$y = 1.06x - 0.11 \text{ (g/L)} \quad (y = \text{heparina lio en plasma}; x = \text{suero})$$

$$\text{coeficiente de correlación } r = 0.996 \quad (\text{calculado por regresión lineal})$$

12.3 Límite de cuantificación

El límite de cuantificación (LoQ) de este ensayo se define como el punto inferior del rango de medición, 0,35 g/L. El estudio de validación del LoQ se basó en el documento CLSI EP17-A *Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation*.

12.4 Linealidad

El estudio de linealidad se basó en el documento CLSI EP6-A *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures*. La linealidad de este ensayo ha sido confirmada mediante diluciones seriadas de muestras de suero por encima del rango 0.324 – 5.738 g/L con desviaciones de linealidad <10%.

12.5 Sustancias interferentes

Se llevó a cabo un estudio siguiendo las pautas de la CLSI EP7-A2: *Interference Testing in Clinical Chemistry, Approved Guideline* (documento CLSI EP7-A2). Se analizaron una muestra de suero normal, una muestra de suero con valor cercano al punto de decisión médica y una muestra de suero anormal. No se observaron interferencias significativas en los ensayos con triglicéridos (1000 mg/dL), Intralipid (500mg/dL), bilirrubina (200mg/dL) o hemoglobina (5g/L).

12.6 Exceso de antígeno

No se observó exceso de antígeno hasta el nivel de 2 veces el punto más alto de la curva de calibración a la dilución de muestra estándar 1+9. Esto equivale a 10.80 g/L.

13 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. PRU Handbook of Clinical Immunology Ninth Edition (2007), Milford Ward A, Sheldon J, Rowbottom A, Wild G.D. (Eds). Publ. PRU Publications, Sheffield, UK.
2. Chen Y, Snyder M.R., Zhu Y, Tostrud L.J., Benson L.M., Katzmann J.A., Bergen III H.R. (2011) Simultaneous Phenotyping and Quantification of α -1-antiTrypsin by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, *Clinical Chemistry* **57:8**, 1161-1168.
3. CLSI GP44-A4, Vol. 30 No. 10, 5.5.1.1.1, May 2010, "Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guideline".
4. Tietz, Fundamentals of Clinical Chemistry, 6th edition (2008), Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood, David E. Burns (Eds). Publ. Saunders/Elsevier, St Louis, MO.

