

Determinazione quantitative della Alfa 1 Glicoproteina Acida nel siero e nel plasma. Metodo turbidimetrico.

**REF** TB1083 R1: 2x25 mL + R2: 1x7 mL

## PRINCIPIO DEL METODO

Alfa 1 Glycoprotein Turbidimetric (AGP) 7 + 1 è un dosaggio quantitativo turbidimetrico per la misurazione di questa proteina nel siero o plasma umano. Gli anticorpi anti-glicoproteina Alfa 1 umana formano complessi insolubili quando miscelati con campioni contenenti Alfa 1 Glicoproteina. La luce diffusa degli immunocomplessi formati dipende dalla concentrazione di Alfa 1 Glicoproteina nel campione del paziente e può essere quantificata mediante confronto con un calibratore di concentrazione nota.

## SIGNIFICATO CLINICO

L'Alfa 1-Glicoproteina Acida, in passato detta oromucoide (ORM), è una proteina di fase acuta, cioè una proteina che si produce quando vi è un processo infiammatorio in atto oppure un danno cellulare. Fa parte delle alfa 1-globuline all'elettroforesi e la loro sintesi è modulata da due geni polimorfici localizzati sui cromosomi. Alfa 1-Glicoproteina Acida agisce come carrier di diversi composti anche con carica differente. Tra essi abbiamo: composti neutri come gli acidi grassi, composti carichi positivamente e negativamente come alcuni farmaci, steroidi e inibitori delle proteasi. Il dosaggio di questa proteina viene effettuato quando vi è un'infezione acuta. Infatti il suo ruolo nel trasporto di farmaci e successivo drug delivery (il rilascio) sembra essere marginale.

Attualmente, sono in corso studi tesi a dimostrare che in condizioni fisiologiche questa proteina può avere interazioni con il metabolismo tiroideo, infatti piccole quantità nel sangue sono in grado di stimolare il recettore della tireotropina presente sulle cellule follicolari della tiroide a produrre cAMP (AMP-ciclico) favorendo così la liberazione degli ormoni tiroidei nel circolo sanguigno. Al contrario, se le concentrazioni plasmatiche di Alfa 1-Glicoproteina Acida sono elevate si ottiene l'effetto opposto di inibizione. Studi recenti hanno dimostrato che Alfa 1-Glicoproteina Acida è, insieme all'albumina, alle VLDL (lipoproteine a bassissima densità) e citrato, uno dei quattro biomarcatori circolanti potenzialmente utili per la stima del rischio di mortalità a cinque anni dovuta a qualsiasi causa. Le cause di un aumento dei valori normali di Alfa 1-Glicoproteina Acida sono da attribuirsi a: infezioni di varia origine e natura, TBC, reumatismi, infarto del miocardio, necrosi tissutale, metastasi tumorali, alcuni interventi chirurgici, ittero ostruttivo. Nella popolazione anziana può verificarsi una riduzione della concentrazione di albumina nel sangue e parallelamente un aumento della Alfa 1-Glicoproteina Acida. Invece, possono provocare una riduzione dei livelli plasmatici: ittero epatocellulare, infezioni intestinali, malnutrizione, disfunzioni epatiche. I livelli plasmatici di questa proteina possono alterarsi in gravidanza, a causa di ustioni, in seguito all'assunzione di alcuni farmaci oppure in seguito a particolari patologie come ad esempio HIV.

## COMPOSIZIONE REAGENTI

### R1 (Tampone):

Tampone TRIS, pH 8,2	100 mmol/L
Cloruro di Sodio	150 mmol/L

### R2 (Antisiero):

Tampone TRIS, pH 8,2	100 mmol/L
Cloruro di Sodio	150 mmol/L
Anticorpi anti AGP umana (da capra)	

## PREPARAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza riportata, se conservati come riportato in etichetta e si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta. Non congelare i reagenti.

Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento come presenza di particelle e torbidità oppure mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati oppure Assorbanza (Abs) Bianco Reagente a 340 nm > 0,300 in cuvette da 1 cm.

Dopo l'apertura dei flaconi, si consiglia di prelevare il volume necessario, di richiudere immediatamente i flaconi e di riporli in frigo al fine di evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

## CAMPIONI

Siero, Plasma da EDTA o da Litio Eparina.

Evitare campioni emolizzati o lipemici.

Separare il siero dal coagulo rapidamente.

Stabilità di AGP:

4 giorni a 2-8° C, 1 giorno a 20-25° C, 3 mesi a -20° C.

Effettuare un solo scongelamento.

## PROCEDURA

Lunghezza D'onda:	340 nm
Temperatura:	+37°C
Bianco:	acqua distillata

### Pipettare come segue:

Reagente (R1)	290 µL
Campione / Calibratore /H <sub>2</sub> O	2 µL

Miscelare and dopo 30" leggere l'Assorbanza (Abs1) e poi aggiungere:

Reagente (R2)	40 µL
---------------	-------

Miscelare, dopo altri 300" leggere di nuovo l'Assorbanza (Abs 2).

Calcolare il  $\Delta$  Abs (Abs2 – Abs1) sia per campioni che per calibratori

## CALIBRAZIONE

I risultati dipendono dalla accuratezza della calibrazione, dal corretto settaggio del test sullo strumento, dal giusto rapporto volumetrico reagente/campione e dalla corretta temperatura di analisi.

Utilizzare il seguente prodotto MTD Diagnostics:

**Plasma Protein Multicalibrator REF TUC1030 (3x1 mL)**

Diluire il calibratore in NaCl 9g/L (soluzione fisiologica) come segue:

Diluizione	1	2	3	4	5	6
CAL (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	--
Fattore	0.0	0.1	0.25	0.5	0.75	1.0

Moltiplicare la concentrazione del Calibratore per il corrispondente fattore per ottenere la concentrazione dell'analita di ogni diluizione.

Se si vuole evitare di effettuare diluizioni manuali del calibratore, è possibile utilizzare un set di calibrazione composto da flaconi di calibratori pre diluiti, con esatto valore indicato in etichetta.

**Plasma Protein Multicalibrator Set REF TUC1035 (5x1 mL)**

## CALCOLO

La seduta analitica non può essere validata se il  $\Delta$  Abs (Abs2 – Abs1) del Bianco Reagente è  $> 0,300$  a 340 nm in cuvetta da 1 cm di cammino ottico.

Calcolare per ogni campione in esame e per ogni calibratore il  $\Delta$  Abs (Abs2 – Abs1). Costruire una curva di calibrazione ( $\Delta$  Abs contro concentrazioni dei singoli calibratori) e su di essa riportare i valori del  $\Delta$  Abs (Abs2 – Abs1) dei campioni in esame per ricavarne le concentrazioni. Per calcoli automatici (previsti dagli analizzatori automatici), il metodo di elaborazione dati consigliato è la Curva SPLINE ma altri metodi possono essere utilizzati (Punto-Punto, Logit-Log 4P, etc.).

Fattore di Conversione: mg/dL x 0,01 = g/L ; mg/Lx0,1 = mg/dL

## CONTROLLO QUALITA'

Sieri di controllo normali e patologici a concentrazione nota, devono essere analizzati regolarmente in ogni seduta analitica.

Utilizzare i seguenti prodotti MTD Diagnostics:

**Plasma Protein Control Level 1 REF: TUC1040 (3 x 1 mL)**

**Plasma Protein Control Level 2 REF: TUC1050 (3 x 1 mL)**

Il range dei valori dei controlli deve essere valutato come una linea guida potendo esso essere determinato dall'applicazione del metodo o dalla manualità dell'utente o da altri fattori. I valori ottenuti devono essere utilizzati ai fini della valutazione della Precisione del metodo (Ripetibilità). Per la valutazione della Accuratezza del metodo (Riproducibilità) è necessario aderire ad un programma di Valutazione Esterna Qualità (VEQ) gestito da enti certificati.

## VALORI DI RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICI

Adulti 50 - 120 mg/dL

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

## PRESTAZIONI

### PRECISIONE:

Livello Basso: Campioni (n) = 20 : Media 210,75 – DS 1,70 – CV% 0,8

Livello Alto: Campioni (n) = 20 : Media 345,20 – DS 3,64 – CV% 1,06

ACCURATEZZA (CORRELAZIONE): Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) ha dato la seguente correlazione:

$$y = 1.026 x - 0.92 \quad r = 0.998$$

SENSIBILITÀ: 4 mg/dL

LINEARITÀ: 4 – 650 mg/dL.

## INTERFERENZE E SPECIFICITÀ

Non interferiscono: la Bilirubina fino a 20 mg/dL, l'Emoglobina fino a 1000 mg/dL, i Trigliceridi fino a 800 mg/dL.

Altre sostanze possono interferire.

## PRECAUZIONI

R1 ed R2 contengono TRIS BUFFER 100 mmol/L – pH 8.2 - CAS 1185-53-1

H315: Provoca irritazione cutanea

H319: Provoca gravi irritazioni oculari

H335: Può irritare le vie respiratorie

L'anticorpo presente nel reagente è di origine animale e non è in grado di trasmettere malattie infettive all'uomo. Tuttavia, poiché non ci sono metodi per garantire la totale assenza di tali agenti infettivi o di altri microbi, questo prodotto deve essere maneggiato come se fosse rischioso e potenzialmente in grado di trasmettere malattie infettive di qualsiasi tipo, in conformità con gli standard della Buona Pratica di Laboratorio.

Il prodotto non contiene altre sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 ovvero le loro concentrazioni sono tali da non essere considerate persistenti, bioaccumulanti o tossiche (PBT). Il prodotto non è soggetto ad etichettatura secondo le direttive CE o le corrispondenti normative nazionali. Sodio Azide inferiore a 0.1%.

L'anticorpo presente nel reagente è di origine animale e non è in grado di trasmettere malattie infettive all'uomo. Tuttavia, poiché non ci sono metodi per garantire la totale assenza di tali agenti infettivi, questo prodotto deve essere maneggiato come se fosse rischioso e potenzialmente in grado di trasmettere malattie infettive di qualsiasi tipo, in conformità con gli standard della Buona Pratica di Laboratorio.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorché maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 – P351 – P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 – P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 – P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali.

S63 (P304 – P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti.

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA AL PRODUTTORE.

## SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
<b>REF</b>	Numero di catalogo		Scadenza
<b>LOT</b>	Numero di lotto		Fabbricante

## BIBLIOGRAFIA

Narayanan S. *Clin.Chem* 128: 1528-1531 (1982)

Stevens, C.D. *Clinical immunology and serology: a laboratory perspective. 3rd. Edition. FA Davis Company. (2010)*

Price CP et al. *Ann Clin.Biochem* 20: 1-14 (1983)

Dati F et al. *Eur J Clin.Chem. Clin. Biochem.* 34 : 517-520 (1996)

Burtis C.A. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnosis. 5th Ed. Elsevier Inc. (2012)*