

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão TURB GPA- ALFA 1 GLICOPROTEÍNA ÁCIDA	Página 1 de 4 POPTURBxxx/xx
--------------------------------------	---	--

USO

Reagente utilizado na determinação quantitativa de Alfa-1 Glicoproteína Ácida (AGP) no soro humano por imunoturbidimetria. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

PRINCÍPIO

A turbidimetria baseia-se na detecção ótica de partículas muito pequenas suspensas em líquido. Quando o anticorpo específico para Alfa-1 Glicoproteína Ácida reage com a AGP presente na amostra (antígeno) formam-se os imunocomplexos insolúveis que induzem uma turbidez, medida por espectrofotometria a 340 nm. Essa turbidez é diretamente proporcional à concentração da Alfa-1 Glicoproteína Ácida na amostra.

AMOSTRA.

É recomendado soro livre de hemólise. A alfa-1 glicoproteína ácida é estável no soro por 48 horas se for refrigerado entre 2 - 8°C. Para período mais prolongado, congelar a amostra (-20°C) por no máximo 3 meses (congelar somente uma vez). Todas as amostras e controles são considerados potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

PRODUTO UTILIZADO - APRESENTAÇÃO

Linha Automação: R1= 1 x 25mL + R2= 1 x 3mL - Cód.1033

Linha Hitch-Line: R1= 1 x 90mL + R2= 1 x 12mL - Cód.10033

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebam.com ou www.ebram.com.

EQUIPAMENTOS

• Procedimento Manual

Espectrofotômetro ou fotômetro com cubeta termostatizada 37°C para leituras a 340 nm

Cubetas ou fluxo contínuo com 1.0 cm de passo óptico

Banho-Maria 37°C

Pipetas calibradas ou dispensador automático para reagentes e amostras

• Procedimento Automatizado

Indicar o nome, modelo e o local onde se encontra o equipamento analisador automatizado, fazendo referência ao manual (ou POP) para utilização do mesmo

• Procedimento alternativo

Indicar o equipamento alternativo e os respectivos procedimentos para medição dos ensaios. Enumerar as diferenças esperadas quando procedimentos manuais substituem automatizados

CONTROLE DE QUALIDADE

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição.

PROCEDIMENTO

• Procedimento Manual

Pré-diluir as amostras e os controles, em fisiológica, na razão 1:5 (100µl de amostra + 400µl de solução fisiológica).

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão TURB GPA- ALFA 1 GLICOPROTEÍNA ÁCIDA	Página 2 de 4 POPTURBxxx/xx
--------------------------------------	---	--

PREPARO DOS PONTOS DE CALIBRAÇÃO

Identificar 6 tubos de ensaios (1 a 6).

Adicionar ao tubo 1, 400µl de solução fisiológica + 100µl de calibrador. Homogeneizar.

Adicionar aos tubos 2 a 6, 250µl de solução fisiológica.

Transferir 250µl do conteúdo do tubo 1 para o tubo 2. Homogeneizar.

Transferir 250µl do conteúdo do tubo 2 para o tubo 3. Homogeneizar.

Transferir 250µl do conteúdo do tubo 3 para o tubo 4. Homogeneizar.

Transferir 250µl do conteúdo do tubo 4 para o tubo 5. Homogeneizar.

	Tubo1	Tubo2	Tubo3	Tubo4	Tubo5	Tubo6
Fator de diluição	1.0	0.5	0.25	0.125	0.063	0

Obs: a concentração de cada ponto é obtida multiplicando-se a concentração do calibrador pelo fator de diluição

PROCEDIMENTO DO ENSAIO

Separar tubos de ensaio para cada ponto de calibração, branco, amostra/soro controle e realizar os procedimentos conforme tabela abaixo:

	Branco	Calibrador	Amostra/S.C.
Água destilada	10µL	-	-
Pontos de Calibração	-	10µL	-
Amostra/S.C. dil 1:5	-	-	10µL
Reagente R1	250µL	250µL	250µL

Incubar todos os tubos a 37°C por 5 minutos. Realizar leitura (A1) à 340 nm zerando o aparelho com água destilada.

Reagente R2	50µL	50µL	50µL
-------------	------	------	------

Incubar todos os tubos a 37°C por 5 minutos. Realizar leitura (A2) à 340 nm zerando o aparelho com água destilada.

- **Procedimento Automatizado**

Vide manual para utilização do equipamento, protocolo específico e instruções de uso do reagente.

Para analisadores onde não seja possível o preparo automático da curva de calibração, deve-se seguir orientação do preparo dos pontos de calibração descrito, em Preparo da Curva de Calibração para Analisadores Automáticos, no verso na instrução de uso.

- **Precauções e cuidados especiais**

Este reagente deve ser usado somente para uso diagnóstico "in vitro".

Os produtos de origem humana foram testados e estão livres de HBsAg e anticorpos para HCV e HIV, porém este material deve ser tratado cuidadosamente como potencialmente infeccioso.

Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.

O reagente contém azida sódica como conservante. Este componente pode reagir com cobre e chumbo podendo tornar-se um metal explosivo. Ao descartá-lo, adicionar grande quantidade de água.

Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos.

Não usar se o reagente apresentar turbidez, presença de precipitado e se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão TURB GPA- ALFA 1 GLICOPROTEÍNA ÁCIDA	Página 3 de 4 POPTURBxxx/xx
--------------------------------------	---	--

CÁLCULOS

Abs.= Absorbância

1.A Abs final dos pontos de calibração =

$(A2 - A1)$ dos pontos de calibração - $(A2 - A1)$ branco do reagente

2. Confeção da Curva de calibração

-Em um papel milimetrado plotar as absorbâncias finais, dos pontos de calibração no eixo das ordenadas. (eixo y)

-Plotar as concentrações de cada ponto de calibração, na ordem crescente, no eixo das abcissas. (eixo x)

3.A Abs final de amostra =

$(A2 - A1)$ amostra - $(A2 - A1)$ branco do reagente

-Interpolar as absorbâncias finais de cada amostra / soro controle, na curva de calibração para determinar a respectiva concentração.

RESULTADOS

40 – 140 mg/dL

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- **Linearidade / Sensibilidade**

Quando executado de acordo com o recomendado o teste é linear até 500mg/dL. Valores superiores, diluir a amostra com solução salina, repetir a medição e multiplicar o resultado pela fator de diluição. A linearidade pode variar consideravelmente dependendo do instrumento utilizado. O limite da linearidade depende da relação de amostra/reagente. Aumenta reduzindo o volume da amostra, enquanto que a sensibilidade do ensaio diminuirá proporcionalmente.

Sensibilidade : 3,7 mg/dL

- **Interferências:**

Triglicérides até 2500 mg/dL, bilirrubina até 20 mg/dL, hemoglobina até 1000 mg/L, heparina até 50mg/dL, citrato de sódio até 1000 mg/dL não interferem significativamente no resultado. Algumas drogas e substâncias afetam a concentração da alfa-1 glicoproteína ácida, sugerimos consultar Young et al.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Proteína também conhecida como orosomucóide, é sintetizada basicamente no fígado, podendo ser sintetizada, ainda, por leucócitos e por células tumorais. É filtrada em grande quantidade pelo glomérulo, o que acarreta uma meia-vida curta, de cerca de 5 dias.

Como uma proteína de fase aguda, grandes concentrações séricas podem ser observadas em processos infecciosos e inflamatórios agudos, durante a gravidez, infarto agudo do miocárdio, mielomas, doença de Hodgkin, neoplasias, traumas, queimaduras e colagenoses. Níveis séricos diminuídos podem ser encontrados em estados de desnutrição, lesões hepáticas graves e patologias com grande perda proteica.

Os níveis achados nos derrames cavitários podem ser de ajuda no diagnóstico diferencial entre transudatos e exsudatos. São encontrados níveis baixos nos transudatos, elevados nos exsudatos e extremamente elevados nos exsudatos de origem neoplásica.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão TURB GPA- ALFA 1 GLICOPROTEÍNA ÁCIDA	Página 4 de 4 POPTURBxxx/xx
--------------------------------------	---	--

Sua função biológica ainda não foi bem definida. No entanto, alguns trabalhos indicam uma participação importante no transporte de hormônios e de drogas. É um dos melhores marcadores de atividade inflamatória, já que retorna a níveis normais em menos tempo do que as outras proteínas de fase aguda.

REFERÊNCIAS

1. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders, Philadelphia, (1994).
2. Roitt, I., Essential Immunology, Blackwell, Oxford, (1991).
3. Schmid, K. in FW Putman, Editor, The Plasma Proteins, Vol 1, second edition, Academic Press, New York, 1975, pp 184-228
4. Johnson, A.M. et al., J. Clin. Invest., 48(1969) 2293
5. Watchel M et al. Creation and Verification of Reference Intervals, Laboratory Medicine, 1996; 26:593-7.

	Nome	Assinatura	Data
Elaborado por			
Aprovado por			
Revisado por			
Desativado por			
Razão			