

Determinación cuantitativa de la Apolipoproteína A-I (APO A-I) IVD

Conservar a 2 - 8°C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO¹

Ensayo turbidimétrico para la cuantificación de la apolipoproteína A-I en suero o plasma humano.

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

SIGNIFICADO CLÍNICO¹

La Apo A-I es la principal apolipoproteína estructural asociada con la lipoproteína HDL y constituye aproximadamente un 70% del total de la proteína. La Apo A-I, es un cofactor de la lecitina colesterol aciltransferasa (LCAT), enzima responsable de la mayor parte de la esterificación del colesterol y del transporte de éste desde las células de los tejidos hacia el hígado, para ser finalmente excretado. La medida de la concentración de Apo A-I es especialmente importante en la detección del riesgo de enfermedad cardiovascular (CHD) y en el diagnóstico de la hiperlipoproteinemia. Concentraciones < 120 mg/L pueden estar asociadas con un aumento del riesgo CHD, mientras que concentraciones \geq 160 mg/L pueden incluso proteger de este mismo riesgo. Individuos con deficiencias en la síntesis de Apo A-I, se incrementa enormemente el riesgo de CHD.

La enfermedad de Tangier, consecuencia de un defecto en el catabolismo de la Apo A-I, se caracteriza por una grave disminución de concentraciones de HDL colesterol (HDL-c), una composición anormal de HDL y una acumulación de ésteres de colesterol en muchos tejidos corporales. En individuos homocigotos, la concentración Apo A-I y HDL-c es muy baja, mientras que la de Apo A-II es inferior al 10% de su concentración normal. En individuos heterocigotos, la concentración de HDL-c, Apo A-I y Apo A-II se reduce a la mitad. Estos pacientes tienen aumentada la incidencia de CHD.

REACTIVOS

Diluyente (R1)	Tris 20 mmol/L, PEG pH 8.3. Azida sódica 0,95 g/L.
Anticuerpo (R2)	IgG de cabra, anti-Apo A-I humana, tris 50 mmol/L, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
Opcional:	APO CAL ref: 93005

CALIBRACIÓN

La sensibilidad de los reactivos así como el valor de concentración del calibrador están estandarizados frente al Material de Referencia Certificado WHO/IFCC SP1-01 (CDC, USA). Se recomienda el uso del Calibrador APO CAL para la calibración. El reactivo (tanto monoreactivo como bireactivo) se debe recalibrar cada tres semanas, cuando los controles están fuera de especificaciones, y cuando el lote de reactivo o la configuración del instrumento cambia. En el caso de monoreactivo debe correrse un blanco de reactivo antes de las muestras.

PREPARACIÓN

Reactivos: Listos para el uso.

Curva de Calibración: Preparar las siguientes diluciones del Calibrador APO CAL en ClNa 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución de Apo A-I, multiplicar la concentración de Apo A-I 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
ClNa 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0,25	0,5	0,75	1,0

CONSERVACIÓN 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

- Baño de agua a 37°C.

- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatable a 37°C para lecturas a 340 nm.

MUESTRAS

Suero o plasma fresco, recogido con heparina o EDTA como anticoagulantes. Estable 2 semanas a 2-8°C o 3 meses a -20°C.

Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas.

No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

PROCEDIMIENTO

- Calentar los reactivos y el fotómetro (portacubetas) a 37°C.
- Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 340 nm

Temperatura: 37°C

Paso de luz de la cubeta: 1 cm

- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

- Pipetear en una cubeta:

Reactivo R1	800 µL
Muestra o Calibrador	7 µL

- Mezclar y leer la absorbancia (A_1) después de la adición de la muestra.

- Inmediatamente después, pipetear en la cubeta:

Reactivo R2	200 µL
-------------	--------

- Mezclar y leer la absorbancia (A_2) exactamente después de 2 minutos de añadir el reactivo R2.

Spinreact dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de analizadores automáticos del mercado. Solicite la información a su distribuidor.

CÁLCULOS

Calcular la diferencia de absorbancias ($A_2 - A_1$) obtenidas para los distintos calibradores, y construir la curva de calibración de los valores obtenidos frente a las concentraciones de ApoA1 de cada dilución del Calibrador. La concentración de ApoA1 en la muestra se calcula por interpolación de su diferencia ($A_2 - A_1$) en la curva de calibración.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. Spinreact dispone del Suero APO Control Ref: 93006.

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.

VALORES DE REFERENCIA⁵

Entre 122 - 161 mg/dL.

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

- Rango de medida:** hasta 250 mg/dL, en las condiciones descritas del ensayo. Las muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 con ClNa 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 0.31 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.
- Precisión:** El reactivo ha sido probado durante 20 días con tres niveles diferentes de suero en un estudio basado en las normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
		27.22mg/dL	65.74 mg/dL
Total	4%	3.7%	4.8%
Within Run	2.2%	0.8%	1.1%
Between Run	2.3%	1.3%	1.4%
Between Day	2.4%	3.3%	4.5%

- Exactitud:** El comportamiento de este método (y) fue comparado con un método inmunoturbidimétrico de Bayer. 39 muestras de concentraciones de Apo-A1 entre 50 y 200 mg/dL fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r) fue de 0,92 y la ecuación de la recta de regresión $y = 1.18x - 37.8$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (40 mg/dL), hemoglobina (20 g/L), lípidos (<5 g/L) y factor reumatoide (800 UI/mL) no interfieren. Otras sustancias pueden interferir⁶⁻⁷.

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.

BIBLIOGRAFÍA

- Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
- Mahley RW et al. J Lipids Res 1984; 25: 1277-1294.
- Rifai N Arch Pathol Lab Med 1986: 110: 694-701.
- Freedman DS et al. N Eng J Med 1986; 315: 721-726.
- Sakurabayashi I et al. Clinica Chimica Acta 2001; 312: 87-95.
- Young DS.Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PRESENTACIÓN

Ref.: 1003012

Cont.

R1. Diluyente: 1 x 40 mL

R2. Anticuerpo : 1 x 10 mL

Distribuido por



958 412 886



629 636 705



<http://www.cromakit.es/>

Calle Tucumán 8 Nave B, 18200 Maracena (Granada)



Firmas Representadas

