

**Quantitative determination of apolipoprotein A-I (APO A-I) IVD**

Store 2 - 8°C.

**PRINCIPLE OF THE METHOD**

Turbidimetric test for the measurement of apolipoprotein A-I in human serum or plasma.

Anti- Apo A-I antibodies when mixed with samples containing Apo A-I, form insoluble complexes. These complexes cause an absorbance change, dependent upon the Apo A-I concentration of the patient sample, that can be quantified by comparison from a calibrator of known Apo A-I concentration.

**CLINICAL SIGNIFICANCE<sup>1</sup>**

Apo A-I is the major structural apolipoprotein in HDL and constitutes about 70% of the total protein. Apo A-I is a cofactor for lecithin-cholesterol-acyl-transferase (LCAT), the enzyme responsible for forming cholesteryl esters in plasma and plays an important role in the transport of cholesterol from peripheral tissues to the liver, to be finally excreted. Measurements of Apo A-I concentration is specially important in detecting coronary heart disease risk (CHD) as well as in the diagnostic of hyperlipoproteinemia. Concentrations < 120 mg/L are associated to an increased CHD risk, while concentrations ≥ 160 mg/L may even protect from the same risk. Patients with deficiencies in Apo A-I synthesis may highly increase the CHD risk. Tanger disease, a consequence of an Apo A-I catabolism defect, is characterized by several reduced plasma HDL cholesterol (HDL-c) concentration, abnormal HDL composition and accumulation of cholesteryl esters in many body tissues. Plasma HDL-c and Apo A-I concentrations in homozygotes are very low, while Apo A-I concentration is less than 10% of its normal concentration. Heterozygotes are characterized by half-normal concentration of HDL-c, Apo AI and Apo -II. Current evidence suggests that these patients have increased incidence of CHD.

**REAGENTS**

<b>Diluent (R1)</b>	Tris buffer 20 mmol/L, PEG, pH 8.3. Preservative.
<b>Antibody (R2)</b>	Goat serum, anti-human Apo B, tris 50 mmol/L, pH 7.5. Preservative.
<b>Optional</b>	APO CAL ref: 93005

**CALIBRATION**

The assay and the value of the calibrator concentration have been standardized against the Certified Reference Material WHO/IFCC SP1-01 (CDC, USA). It is recommended the use of the APO CAL Calibrator for calibration.

**PREPARATION**

**Reagents:** Ready to use.

**Calibration Curve:** Prepare the following APO CAL Calibrator dilutions in NaCl 9 g/L as diluent. Multiply the concentration of the Apo A-I calibrator by the corresponding factor stated in table below to obtain the Apo A-I concentration of each dilution.

Calibrator dilution	1	2	3	4	5	6
Calibrator (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0.25	0.5	0.75	1.0

**STORAGE AND STABILITY**

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations are prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

**Reagent deterioration:** The presence of particles and turbidity.

Do not freeze; frozen Antibody or Diluent could change the functionality of the test.

**ADDITIONAL EQUIPMENT**

- Spintech 240 autoanalyzer
- Laboratory equipment.

**SAMPLES**

Fresh serum or plasma. EDTA or heparin should be used as anticoagulant. Stable 2 weeks at 2-8°C or 3 months at -20°C.

The samples with presence of fibrin should be centrifuged before testing.

Do not use highly hemolyzed or lipemic samples.

**QUALITY CONTROL**

Control sera are recommended to monitor the performance of manual and automated assay procedures. Spinreact Apolipoprotein Control (Ref.:93006) is available. Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

**REFERENCE VALUES<sup>5</sup>**

Between 122 – 161 mg/dL.

Each laboratory should establish its own reference range.

**SPINTECH 240 APPLICATION**

Item Name APO A1			
<b>DATA INFORMATION</b>			
Units	mg/dL		
Decimals	0		
<b>ANALYSIS</b>			
Type	END		
W.Length 1	340		
Method	Turbidimetry		
SLOPE	INTER		
1.000 x +	0		
		<b>CALIBRATION</b>	
		TYPE	Spline
		STANDARD	
		#1 0.10 x Cal. Val	#4 0.75 x Cal. Val
		#2 0.25x Cal. Val	#5 1.00 x Cal. Val
		#3 0.50 x Cal. Val	#6
		<b>NORMAL RANGE (37°C)</b>	
		LOW	HIGH
		SERUM	MALE
			FEMALE
		URINE	
Item Name APO A1			
<b>ASPIRATION</b>			
KIND	Single	✓ Double	
		VOLUME**	
SAMPLE	2 µL		
REAGENT 1	240 µL		
REAGENT 2	60 µL		
Third Mix	✓ OFF	ON	
R1 Blank	✓ Water	R1-B	
<b>MONITOR</b>			
0 LEVEL POINT	1		
SPAN	3.000		
		<b>DATA PROCESS</b>	
		<b>ABSORBANCE LIMIT</b>	
		READ	LOW -3.000
		START	END
		MAIN 42	43
		SUB 30	31
		ENDPOINT LIMIT 3	
		LINEAR CHECK (%)	
		<b>FACTOR</b>	
		Blank Correction	1.000
		<b>PROZONE CHECK</b>	
		START	END
		LIMIT (%)	
		FIRST	
		SECOND	✓ Low High
		THIRD	✓ Low High

\*\* Modify reagents and sample volumes according to the range accepted but keeping always the mentioned ratio.

**INTERFERENCES**

Hemoglobin (20 g/L), bilirubin (40 mg/dL), lipemia (< 5 g/L), and rheumatoid factor (800 IU/mL) do not interfere. Other substances may interfere <sup>6,7</sup>.

**PERFORMANCE CHARACTERISTICS**

- 1. Measurement range:** Up to 250 mg/dL, under the described assay conditions. Samples with higher concentrations, should be diluted 1/5 in NaCl 9 g/L and retested again. The linearity limit depends on the sample / reagent ratio. It will be higher by decreasing the sample volume, although the sensitivity of the test will be proportionally decreased.
- 2. Detection Limit:** Values less than 0,1 mg/dL give non-reproducible results.
- 3. Precision:** The reagent has been tested for 20 days, using three levels of serum in a EP5-based study (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	27,22mg/dL	65,74 mg/dL	131,07 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%

- 4. Accuracy:** Results obtained using this reagent (y) were compared to those obtained with a Bayer immunoturbidimetric method. 39 samples ranging from 50 to 200 mg/dL of Apo A-I were assayed. The correlation coefficient (r) was 0,92 and the regression equation  $y = 1,18x - 37,8$ .

The results of the performance characteristics depend on the used analyzer.

**NOTES**

Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

**BIBLIOGRAPHY**

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

**PACKAGING**

Ref.: TK1103012

Cont.

R1. Diluent: 2 x 24 mL

R2. Antibody: 2 x 6 mL

# Apolipoproteína A-I

## Turbidimetría

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

Conservar a 2 - 8°C.

#### PRINCIPIO DEL MÉTODO<sup>1</sup>

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 CLÍNICO<sup>1</sup>

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 al 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

<b>Diluyente (R1)</b>	Tris 20 mmol/L, PEG pH 8.3. Conservante.
<b>Anticuerpo (R2)</b>	IgG de cabra, anti-Apo A-I humana, tris 50 mmol/L, pH 7,5. Conservante.
<b>Opcional:</b>	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.

#### PREPARACIÓN

**Reactivos:** Listos para el uso.

**Curva de Calibración:** Preparar las siguientes diluciones del Calibrador APO CAL en NaCl 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 ( $\mu$ L)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L ( $\mu$ L)	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

- Autoanalizador Spintech 240
- Equipamiento habitual de laboratorio.

#### 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.

#### VALORES DE REFERENCIA<sup>5</sup>

Entre 122 – 161 mg/dL.

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

#### 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.

#### 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.

### APLICACIÓN AL SPINTECH 240

Item Name APO A1		DATA INFORMATION		CALIBRATION			
Units	mg/dL	TYPE	Spline				
Decimals	0	STANDARD	#1	0.10 x Cal. Val	#4	0.75 x	
<u>ANALYSIS</u>		Cal. Val	#2	0.25 x Cal. Val	#5	1.00 x	
Type	END	Cal. Val	#3	0.50 x Cal. Val	#6		
Cal. Val	340	W.Length 1	<u>NORMAL RANGE (37°C)</u>				
Method	Turbidimetría	LOW HIGH					
SLOPE	INTER	SERUM	MALE FEMALE				
1.000 x +	0	URINE					
Item Name APO A1		ASPIRATION LIMIT		DATA PROCESS		ABSORBANCE	
KIND	Single	✓ Double		READ	LOW -		
3.000				START	END	HIGH	
	3.000	VOLUME**		MAIN	42	43	
SAMPLE	2	$\mu$ L		SUB	30	31	
REAGENT 1	240	$\mu$ L		ENDPOINT LIMIT 3			
REAGENT 2	60	$\mu$ L		LINEAR CHECK (%)			
<u>MONITOR</u>		Third Mix	✓ OFF	<u>FACTOR</u>		Blank Correction	
0 LEVEL POINT	1	R1 Blank	✓ Water	R1-B	1.000		
SPAN	3.000			<u>PROZONE CHECK</u>			
				FIRST	START	END	LIMIT (%)
				SECOND	✓ Low High		
				THIRD	✓ Low High		

\*\* Modificar los volúmenes de reactivos y muestra en función de los rangos aceptados, pero manteniendo siempre la ratio descrita anteriormente.

#### INTERFERENCIAS

Bilirrubina (40 mg/dL), hemoglobina (20g/L), lípidos (<5 g/L) y factor reumatoide (800 UI/mL) no interfieren. Otras sustancias pueden interferir<sup>6-7</sup>

#### CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

1. **Rango de medida:** hasta 250 mg/dL, en las condiciones descritas del ensayo. Las muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 con NaCl 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.

2. **Límite de detección:** valores por debajo de 0,1 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.

3. **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	131,07 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%

4. **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  $y = 1,18 x - 37,8$ .

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

#### BIBLIOGRAFÍA

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

#### PRESENTACIÓN

Ref.: TK1103012

Cont.

R1. Diluyente: 2 x 24 mL

R2. Anticuerpo: 2 x 6 mL

# Apolipoprotéine A-I

## Turbidimétrie

### Détermination quantitative de l'apolipoprotéine A-I (APO A-I) IVD

Conserver à 2 - 8°C.

#### PRINCIPE DE LA MÉTHODE<sup>1</sup>

Essai turbidimétrique pour la quantification d'apolipoprotéine A-I en sérum ou plasma humain.

Les anticorps anti-Apo A-I forment des composés insolubles quand ils sont associés avec les Apo A-I de l'échantillon du patient, occasionnant un changement d'absorption proportionnel à la concentration d'Apo A-I dans l'échantillon, et qui peut être quantifiée par comparaison avec un calibre d'Apo A-I de concentration connue.

#### SIGNIFICATION CLINIQUE<sup>1</sup>

L'Apo A-I est la principale apolipoprotéine structurelle associée à la lipoprotéine HDL et constitue environ 70% du total de la protéine. L'Apo A-I, est un cofacteur de la lécithine cholestérol acyltransférase (LCAT), enzyme responsable de la majeure partie de l'estérification du cholestérol et du transport de celui-ci à partir des cellules des tissus vers le foie, pour être finalement excrété. La mesure de la concentration d'Apo A-I est particulièrement importante dans la détection du risque de maladie cardiovasculaire (CHD) et dans le diagnostic de l'hyperlipoprotéïnémie. Les concentrations <120 mg/L peuvent être associées à une augmentation du risque CHD tandis que les concentrations ≥ 160 mg/L peuvent même protéger de ce même risque. Le risque de CHD augmente énormément chez les individus avec des déficiences dans la synthèse d'Apo A-I.

La maladie de Tangier, conséquence d'un défaut dans le catabolisme de l'Apo A-I, se caractérise par une grave diminution des concentrations de HDL cholestérol (HDL-c), une composition anormale de HDL et une accumulation d'esters de cholestérol dans de nombreux tissus corporels. Chez les individus homozygotes, la concentration Apo A-I et HDL-c est très faible, tandis que celle d'Apo A-II est inférieure à 10% de sa concentration normale. Chez les individus hétérozygotes, la concentration de HDL-c, Apo A-I et Apo A-II est réduite à la moitié. Ces patients possèdent une augmentation de l'incidence de CHD.

#### RÉACTIFS

<b>Diluant (R1)</b>	Tampon tris 20 mmol/L, PEG pH 8,3. Conservateur.
<b>Anticorps (R2)</b>	IgG de chèvre, anti-Apo A-I humaine, tris 50 mmol/L, pH 7,5. Conservateur.
<b>En option :</b>	APO CAL réf : 93005

#### ÉTALONNAGE

La sensibilité des réactifs ainsi que la valeur de concentration du calibre sont standardisées face au Matériel de référence certifié WHO/IFCC SP1-01 (CDC, USA). Il est recommandé d'utiliser le calibre APO CAL pour l'étalonnage.

#### PRÉPARATION

**Réactifs :** Prêt à l'usage.

**Courbe d'étalonnage:** Préparer les dilutions suivantes du Calibre Apo A-I dans NaCl 9 g/L. Pour la concentration de chaque dilution de Apo A-I, multiplier la concentration du calibre par le facteur correspondant indiqué dans le tableau:

Dilution calibre	1	2	3	4	5	6
Calibre (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Facteur	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

#### CONSERVATION ET STABILITÉ

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date d'expiration quand les flacons sont gardés bien fermés à 2-8°C, et que la contamination est évitée au cours de leur utilisation. Ne pas utiliser de réactifs qui ont dépassé la date d'expiration.

**Indicateurs de détérioration :** La présence de particules et de turbidité.

Ne pas congeler, la congélation de l'anticorps ou du diluant peut affecter leur fonctionnalité.

#### MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE

- Auto-analyseur SPINTECH 240.
- Equipement classique de laboratoire.

#### ÉCHANTILLONS

Sérum ou plasma frais, recueilli avec héparine ou EDTA comme anticoagulants. Stable 2 semaines à 2-8°C ou 3 mois à -20°C.

Les échantillons avec des restes de fibrine doivent être centrifugés.

Ne pas utiliser d'échantillons fortement hémolysés ou lypémiques.

#### VALEURS DE RÉFÉRENCE<sup>5</sup>

Entre 122 – 161 mg/dL.

Il est conseillé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs de référence.

#### CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il est conseillé d'utiliser des sérums de contrôle pour contrôler les essais aussi bien en procédure manuel qu'automatique. Spinreact dispose du Sérum APO Contrôle Réf : 93006. Chaque laboratoire devrait établir son propre Contrôle de qualité et établir des corrections dans le cas où les contrôles ne sont pas conformes aux tolérances exigées.

#### APPLICATION AU SPINTECH 240

Item Name APO A1 <b>DATA INFORMATION</b> Units mg/dL Decimals 0 <b>ANALYSIS</b> Type END W.Length 1 340 Method Turbidimetry SLOPE INTER 1.000 x + 0		<b>CALIBRATION</b> TYPE Spline STANDARD #1 0.10 x Cal. Val #4 0.75 x Cal. Val #2 0.25x Cal. Val #5 1.00 x Cal. Val #3 0.50 x Cal. Val #6 <b>NORMAL RANGE (37°C)</b> SERUM MALE LOW HIGH FEMALE URINE	
Item Name APO A1 <b>ASPIRATION</b> KIND Single <input checked="" type="checkbox"/> Double VOLUME** SAMPLE 2 µL REAGENT 1 240 µL REAGENT 2 60 µL Third Mix <input checked="" type="checkbox"/> OFF ON R1 Blank <input checked="" type="checkbox"/> Water R1-B <b>MONITOR</b> 0 LEVEL POINT 1 SPAN 3.000		<b>DATA PROCESS</b> <b>ABSORBANCE LIMIT</b> READ LOW -3.000 START END HIGH 3.000 MAIN 42 43 SUB 30 31 ENDPOINT LIMIT 3 LINEAR CHECK (%) <b>FACTOR</b> Blank Correction 1.000 <b>PROZONE CHECK</b> START END LIMIT (%) FIRST SECOND <input checked="" type="checkbox"/> Low High THIRD <input checked="" type="checkbox"/> Low High	

\*\* Modifier les réactifs et les volumes d'échantillons selon la gamme acceptée mais en gardant toujours le ratio mentionné

#### CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

- Gamme de mesure :** jusqu'à 250 mg/dL dans les conditions décrites de l'essai. Les échantillons avec des valeurs supérieures doivent être dilués 1/5 avec NaCl 9 g/L et testés à nouveau. L'intervalle de mesure dépend du rapport échantillon/réactif. En réduisant le volume d'échantillon, on augmente la limite supérieure de l'intervalle de mesure, même si la sensibilité est réduite.
- Limites de détection :** les valeurs en dessous de 0,1 mg/dL entraînent des résultats peu reproductibles.
- Précision :** Le réactif a été testé pendant 20 jours avec trois niveaux de sérum différents dans une étude basée sur les normes EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	27,22mg/dL	65,74 mg/dL	131,07 mg/dL
Total	4%	3,7%	4,8%
Pendant l'exécution	2,2%	0,8%	1,1%
Entre l'exécution	2,3%	1,3%	1,4%
Entre jours	2,4%	3,3%	4,5%

- Exactitude :** Le comportement de cette méthode (y) a été comparé avec une méthode immunoturbidimétrique de Bayer. 39 échantillons de concentrations d'Apo-A1 entre 50 et 200 mg/dL ont été analysés avec les deux méthodes. Le coefficient de régression (r) a été de 0,92 et l'équation de la droite de régression  $y = 1,18x - 37,8$ .

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier selon l'analyseur utilisé.

#### REMARQUES

- Le diagnostic clinique ne doit pas être réalisé uniquement avec les résultats d'un seul essai, il faut considérer en même temps les données cliniques du patient.

#### BIBLIOGRAPHIE

- 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.

#### PRÉSENTATION

Ref.: TK1103012

Cont.

R1. Diluant: 2 x 24 mL

R2. Anticorp: 2 x 6 mL

# Apolipoproteína A-I

## Turbidimetria

### Determinação quantitativa de Apolipoproteína A-I (APO A-I) IVD

Conservar a 2 – 8 °C.

#### PRINCÍPIO DO MÉTODO<sup>1</sup>

Ensaio turbidimétrico para a quantificação de apolipoproteína A-I no soro ou plasma humano.

Os anticorpos anti-Apo A-I formam compostos insolúveis quando se combinam com as Apo A-I da amostra do doente, provocando uma alteração na absorvância proporcional à concentração de Apo A-I na amostra, e que pode ser quantificada por comparação com um calibrador de Apo A-I de concentração conhecida.

#### SIGNIFICADO CLÍNICO<sup>1</sup>

A Apo A-I é a principal apolipoproteína estrutural associada à lipoproteína HDL e constitui aproximadamente cerca de 70% do total da proteína. A Apo A-I é um co-fator da lecitina colesterol aciltransferase (LCAT), enzima responsável pela maior parte da esterificação do colesterol e do transporte deste desde as células dos tecidos para o fígado, para ser finalmente excretado. A medição da concentração de Apo A-I é especialmente importante na deteção do risco de doença cardiovascular (CHD) e no diagnóstico da hiperlipoproteinemia. Concentrações < 120 mg/l podem estar associadas a um aumento do risco de CHD, enquanto que concentrações ≥ 160 mg/l podem inclusive proteger contra este mesmo risco. Indivíduos com deficiências na síntese de Apo A-I, apresentam um risco extremamente aumentado de CHD.

A doença de Tangier, consequência de um defeito no catabolismo da Apo A-I, caracteriza-se por uma grave diminuição nas concentrações de HDL colesterol (HDL-c), uma composição anormal de HDL e uma acumulação de ésteres de colesterol em muitos tecidos corporais. Em indivíduos homocigóticos, a concentração de Apo A-I e HDL-c é muito baixa, enquanto que a de Apo A-II é inferior a 10% da sua concentração normal. Em indivíduos heterocigóticos, a concentração de HDL-c, Apo A-I e Apo A-II é reduzida para metade. Estes doentes têm a incidência de CHD aumentada.

#### REAGENTES

<b>Solvente (R1)</b>	Tris 20 mmol/l, PEG pH 8,3. Conservante.
<b>Anticorpo (R2)</b>	IgG de cabra, anti-Apo A-I humana, tris 50 mmol/l, pH 7,5. Conservante.
<b>Opcional:</b>	APO CAL ref: 93005

#### CALIBRAÇÃO

A sensibilidade dos reagentes assim como o valor de concentração do calibrador estão padronizados comparativamente ao Material de Referência Certificado WHO/IFCC SP1-01 (CDC, USA). É recomendável utilizar o Calibrador APO CAL para a calibração.

#### PREPARAÇÃO

**Reagentes:** Prontos a utilizar.

**Curva de Calibração:** Preparar as seguintes soluções PROT CAL Calibrador em NaCl 9 g/L como diluente. Para as concentrações de cada diluição de Apo A-I, multiplicar a concentração de Apo A-I calibrador pelo factor correspondente indicado na tabela:

Diluição do calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

#### CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até à data de validade indicada no rótulo do frasco quando os frascos são mantidos bem fechados a 2 - 8 °C e se evita a contaminação durante a sua utilização. Não utilizar reagentes que tenham excedido a data de validade indicada.

**Indicadores de degradação:** Presença de partículas e turvação.

Não congelar; a congelação do Anticorpo ou Solvente pode afetar a sua funcionalidade.

#### MATERIAL ADICIONAL

- Autoanalisador SPINTECH 240.
- Equipamento habitual de laboratório.

#### AMOSTRAS

Soro ou plasma fresco, recolhido com heparina ou EDTA como anticoagulantes. Estável durante 7 dias a 2 – 8 °C ou durante 3 meses a -20 °C. As amostras com resíduos de fibrina devem ser centrifugadas. Não utilizar amostras altamente hemolizadas ou lipémicas.

#### VALORES DE REFERÊNCIA<sup>2</sup>

Entre 122 – 161 mg/dL.

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

#### CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-se utilizar soros controlo para controlar os ensaios tanto em procedimento manual como em automático. A Spinreact dispõe do Soro APO Control Ref: 93006.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio esquema de Controlo de Qualidade e as ações corretivas no caso de os controlos não estarem de acordo com as tolerâncias exigidas.

### APLICAÇÃO AO SPINTECH 240

Item Name APO A1		CALIBRATION			
<b>DATA INFORMATION</b>		<b>TYPE</b>			
Units	mg/dL	Spline			
Decimals	0				
<b>ANALYSIS</b>		<b>STANDARD</b>			
Type	END	#1 0.10 x Cal. Val	#4 0.75 x Cal. Val		
W.Length 1	340	#2 0.25x Cal. Val	#5 1.00 x Cal. Val		
		#3 0.50 x Cal. Val	#6		
		<b>NORMAL RANGE (37°C)</b>			
Method	Turbidimetry	LOW	HIGH		
		SERUM MALE FEMALE			
		URINE			
SLOPE	INTER				
1.000 x +	0				
Item Name APO A1		DATA PROCESS		ABSORBANCE LIMIT	
<b>ASPIRATION</b>		<b>READ</b>		<b>LOW</b>	
KIND	Single <input checked="" type="checkbox"/> Double	START	END	-3.000	
	VOLUME**	MAIN	42 43	HIGH 3.000	
SAMPLE	2 µL	SUB	30 31		
REAGENT 1	240 µL				
REAGENT 2	60 µL				
		<b>ENDPOINT LIMIT 3</b>			
		<b>LINEAR CHECK (%)</b>			
		<b>FACTOR</b>			
Third Mix	<input checked="" type="checkbox"/> OFF <input type="checkbox"/> ON	Blank Correction 1.000			
R1 Blank	<input checked="" type="checkbox"/> Water <input type="checkbox"/> R1-B				
<b>MONITOR</b>		<b>PROZONE CHECK</b>			
0 LEVEL POINT	1	START	END	LIMIT (%)	
SPAN	3.000	FIRST			
		SECOND		<input checked="" type="checkbox"/> Low High	
		THIRD		<input checked="" type="checkbox"/> Low High	

\*\* Modifique os reagentes e os volumes da amostra de acordo com o intervalo aceito, mas mantendo sempre a proporção mencionada.

#### CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

- Intervalo de medição:** até 250 mg/dL, nas condições descritas do ensaio. As amostras com valores superiores devem ser diluídas 1/5 com NaCl 9 g/L e serem ensaiadas novamente. O intervalo de medição depende da proporção amostra/reagente. Diminuindo o volume da amostra, aumenta-se o limite superior do intervalo de medição, embora se reduza a sensibilidade.
- Limite de deteção:** valores inferiores a 0,1 mg/dL originam resultados pouco reprodutíveis.
- Precisão:** o reagente foi testado durante 20 dias com três níveis diferentes de soro num estudo baseado nas normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	27,22mg/dL	65,74 mg/dL	131,07 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%

- Exatidão:** o comportamento deste método (y) foi comparado com um método imunoturbidimétrico de Bayer. 39 amostras com concentrações de Apo-A1 entre 50 e 200 mg/dL foram analisadas com ambos métodos. O coeficiente de regressão (r) foi de 0,92 e a equação da reta de regressão  $y = 1,18x - 37,8$ .

As características do método variam de acordo com o analisador utilizado.

#### NOTAS

- O diagnóstico clínico não deve realizar-se unicamente através dos resultados de um único ensaio, devendo considerar-se em simultâneo os dados clínicos do doente.

#### BIBLIOGRAFIA

- 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.

#### APRESENTAÇÃO

Ref.: TK1103012

Cont.

R1. Solvente: 2 x 24 mL

R2. Anticorpo: 2 x 6 mL