

## 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. Tangier 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. Sodium azide 0.95 g/L.
<b>Antibody (R2)</b>	Goat serum, anti-human Apo A-I, tris 50 mmol/L, pH 7.5. Sodium azide 0.95 g/L.
<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. The reagent (both monoreagent and bireagent) should be recalibrated every three weeks, when the controls are out of specifications, and when changing the reagent lot or the instrument settings. For monoreagent, a reagent blank should be run daily before sample analysis.

### 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

- Thermostatic bath at 37°C.
- Spectrophotometer or photometer thermostatable at 37°C with a 340 nm filter.

### 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.

### PROCEDURE

1. Bring the reagents and the photometer (cuvette holder) to 37°C.
2. Assay conditions:

Wavelength: 340 nm  
Temperature: 37 °C  
Cuvette ligh path: 1cm

3. Adjust the instrument to zero with distilled water.

4. Pipette into a cuvette:

Reagent R1 (µL)	800
Sample or Calibrator (µL)	7

5. Mix and read the absorbance (A<sub>1</sub>) after the sample addition.

6. Immediately, pipette into de cuvette:

Reagent R2 (µL)	200
-----------------	-----

7. Mix and read the absorbance (A<sub>2</sub>) of calibrators and sample exactly 2 minutes after the R2 addition.

**Spinreact has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

### CALCULATIONS

Calculate the absorbance difference (A<sub>2</sub>-A<sub>1</sub>) of each point of the calibration curve and plot the values obtained against the Apo A-I concentration of each calibrator dilution. Apo A-I concentration in the sample is calculated by interpolation of its (A<sub>2</sub>-A<sub>1</sub>) in the calibration curve.

### 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.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

**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.

**Detection Limit:** Values less than 0,1 mg/dL give non-reproducible results.

**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%

**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.

### 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>.

### 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, 3tn ed. AACC Pres, 1997.

### PACKAGING

Ref.: 1003012	Cont.	R1. Diluent: 1 x 40 mL R2. Antibody: 1 x 10 mL
---------------	-------	---------------------------------------------------

## 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 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

<b>Diluyente (R1)</b>	Tris 20 mmol/L, PEG pH 8.3. Azida sódica 0,95 g/L.
<b>Anticuerpo (R2)</b>	IgG de cabra, anti-Apo A-I humana, tris 50 mmol/L, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
<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. 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 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

- 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

1. Calentar los reactivos y el fotómetro (portacubetas) a 37°C.

2. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 340 nm

Temperatura: 37°C

Paso de luz de la cubeta: 1 cm

3. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

4. Pipetear en una cubeta:

Reactivo R1	800 $\mu$ L
Muestra o Calibrador	7 $\mu$ L

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

6. Inmediatamente después, pipetear en la cubeta:

Reactivo R2	200 $\mu$ L
-------------	-------------

7. 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 REFERENCIA<sup>5</sup>

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 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.

**Límite de detección:** valores por debajo de 0,1 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	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%

**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 interferir<sup>6-7</sup>

### NOTAS

1. 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

## 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. Azoture de sodium 0,95 g/L.
<b>Anticorps (R2)</b>	IgG de chèvre, anti-Apo A-I humaine, tris 50 mmol/L, pH 7,5. Azoture de sodium 0,95 g/L.
<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. Le réactif (aussi bien monoréactif que biréactif) doit être recalibré toutes les trois semaines, quand les contrôles sont en dehors des spécifications, et quand le lot de réactif ou la configuration de l'instrument change. Dans le cas de monoréactif il faut verser un blanc de réactif avant les échantillons.

### PRÉPARATION

**Réactifs :** Prêt à l'usage.

**Courbe d'étalonnage :** Préparer les dilutions suivantes du calibre APO CAL dans NaCl 9 g/L comme diluant. Pour obtenir les concentrations de chaque dilution d'Apo A-I, multiplier la concentration d'Apo A-I 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

- Bain d'eau à 37°C.

- Spectrophotomètre ou photomètre avec cuvette thermostabilisable à 37°C pour des lectures à 340 nm.

### 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.

### PROCÉDURE

1. Chauffer les réactifs et le photomètre (porte cuvettes) à 37°C.

2. Conditions de l'essai :

Longueur d'onde : 340 nm

Température : 37°C

Passage de lumière de la cuvette : 1 cm

3. Régler le spectrophotomètre à zéro par rapport à l'eau distillée.

4. Introduire la pipette dans une cuvette :

Réactif R1	800 µL
Échantillon ou calibre	7 µL

5. Mélanger et lire l'absorbance (A<sub>1</sub>) après l'ajout de l'échantillon.

6. Introduire la pipette dans la cuvette tout de suite après :

Réactif R2	200 µL
------------	--------

7. Mélanger et lire l'absorption (A<sub>2</sub>) exactement 2 minutes après avoir ajouté le réactif R2.

**Spinreact dispose d'adaptations détaillées à la majorité des analyseurs automatiques du marché. Demandez des informations à votre distributeur.**

### CALCULS

Calculer la différence d'absorbances (A<sub>2</sub> - A<sub>1</sub>) obtenues pour les différents calibres, et construire la courbe d'étalonnage des valeurs obtenues face aux concentrations en ApoA1 de chaque dilution du calibre. La concentration en ApoA1 dans l'échantillon est calculée par interpolation de sa différence (A<sub>2</sub> - A<sub>1</sub>) dans la courbe d'étalonnage.

### 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.

### VALEURS DE RÉFÉRENCE<sup>5</sup>

Entre 122 - 161 mg/dL.

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

### 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 = 1,18 x - 37,8.

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

### INTERFÉRENCES

Bilirubine (40 mg/dL), hémoglobine (20 g/L), lipides (<5 g/L) et facteurs rhumatoïdes (800 UI/mL), n'interfèrent pas. D'autres substances peuvent interférer<sup>6-7</sup>

### REMARQUES

1. 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

Réf : 1003012	Cont.	R1. Diluant : 1 x 40 mL
		R2. Anticorps : 1 x 10 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 cofator 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 detecção do risco de doença cardiovascular (CHD) e no diagnóstico da hiperlipoproteinémia. Concentrações < 120 mg/l podem estar associadas a um aumento do risco de CHD, enquanto que concentrações  $\geq$  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. Azida sódica 0,95 g/L.
<b>Anticorpo (R2)</b>	IgG de cabra, anti-Apo A-I humana, tris 50 mmol/l, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
<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. O reagente (tanto monoreativo como bireativo) deve ser recalibrado a cada três semanas, quando os controlos estiverem fora de especificação e quando o lote de reagente ou a configuração do instrumento muda. No caso de monoreativo, deve correr-se um branco de reagente antes das amostras.

### PREPARAÇÃO

**Reagentes:** Prontos a utilizar.

**Curva de Calibração:** Preparar as diluições seguintes do Calibrador APO CAL em NaCl 9 g/l como solvente. Para obter as concentrações de cada diluição de Apo A-I, multiplicar a concentração de Apo A-I do calibrador pelo fator correspondente indicado na tabela:

Diluição do 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	-
Fator	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

- Banho de água a 37 °C.
- Espectrofotómetro ou fotómetro com cubete termostaticável a 37 °C para leituras a 340 nm (320 - 360 nm).

### 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.

### PROCEDIMENTO

1. Aquecer os reagentes e o fotómetro (porta-cubetes) a 37 °C.

2. Condições do ensaio:

Comprimento de onda: 340 nm

Temperatura: 37 °C

Caminho de luz da cubete: 1 cm

3. Ajustar o espectrofotómetro a zero com água destilada.

4. Pipetar numa cubete:

Reagente R1	800 $\mu$ L
Amostra ou Calibrador	7 $\mu$ L

5. Misturar e ler a absorvância ( $A_1$ ) após a adição da amostra.

6. Imediatamente depois, pipetar na cubete:

Reagente R2	200 $\mu$ L
-------------	-------------

7. Misturar e ler a absorvância ( $A_2$ ) exatamente 2 minutos após adicionar o reagente R2.

**A Spinreact dispõe de adaptações detalhadas para a maioria dos analisadores automáticos do mercado. Solicite a informação ao seu distribuidor.**

### CÁLCULOS

Calcular a diferença de absorvâncias ( $A_2 - A_1$ ) obtidas para os diferentes calibradores e construir a curva de calibração dos valores obtidos comparativamente às concentrações de ApoA1 de cada diluição do calibrador. A concentração de ApoA1 na amostra é calculada por interpolação da sua diferença ( $A_2 - A_1$ ) na curva de calibração.

### 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.

### VALORES DE REFERÊNCIA<sup>5</sup>

Entre 122 – 161 mg/dL.

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

### 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.

### INTERFERÊNCIAS

Bilirrubina (40 mg/dL), hemoglobina (20 g/L), lípidos (< 5 g/L) e fator reumatóide (800 UI/mL) não interferem. Outras substâncias podem interferir<sup>6-7</sup>

### NOTAS

1. 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

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. AACCC Pres, 1997.
7. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACCC Pres, 1997.

### APRESENTAÇÃO

Ref.: 1003012	Cont.	R1. Solvente: 1 x 40 mL
		R2. Anticorpo : 1 x 10 mL