



APO A-I



# Apolipoprotein A-I

## Turbidimetry

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

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

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

#### 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.: TK1103012

Cont.

R1. Diluyente: 2 x 24 mL

R2. Anticuerpo: 2 x 6 mL