

Apolipoproteína A-I - Turbidimetría Ref.: KAPA-001
Determinación cuantitativa de la Apolipoproteína A-I (APO A-I)
Solo para uso in vitro en el laboratorio clínico
Conservar a 2-8°C

1 x 40 mL R1

1 x 10 mL R2

APOLIPOPROTEINA A-I



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 lecitin 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 100 mmol/L, PEG 4000, pH 7,2. Azida sódica 0,95 g/L.
Anticuerpo (R2)	IgG de cabra, anti-Apo A-I humana, tris 100 mmol/L, pH 7,2. Azida sódica 0,95 g/L.

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.

PREPARACION

Reactivos: Listos para el uso.

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.

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: 600 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 (μ L)	750
Muestra o Calibrador (μ L)	8

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

6. Inmediatamente después, pipetear en la cubeta:

Reactivo R2	250 μ L
-------------	-------------

7. Mezclar y leer la absorbancia (A_2) exactamente después de 5 minutos de añadir el reactivo R2.

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

CÁLCULOS

$(A_2 - A_1)_{\text{muestra}}$

x concentración del Calibrador = mg/dL Apo A-I.

$(A_2 - A_1)_{\text{calibrador}}$

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático.

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

1. **Límite de linealidad:** hasta 200 mg/dL (Nota 1), 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.

2. **Límite de detección:** valores por debajo de 0,76 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.

3. **Sensibilidad:** Δ 2.84 mA /mg/dL (148 mg/dL).

4. **Efecto prozona:** No se observa efecto prozona hasta valores de 280 mg/dL.

5. **Precisión:**

	Intraserie (n=10)			Interserie (n=5)	
Media (mg/dL)	105.3	113.3	153.6	153.9	216.2
SD	0.80	0.70	1.27	1.09	1.95
CV	0.76	0.66	0.83	0.71	0.90

6. **Exactitud:** El comportamiento de este método fue comparado con un método de inmunodifusión radial (SRID). Los resultados obtenidos no muestran diferencias significativas. 50 muestras de concentraciones de Apo A-I entre 60 y 180 mg/dL fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r) fue de 0,956 y la ecuación de la recta de regresión $y = 0.9997x + 1,70$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (40 mg/dL), hemoglobina (500 mg/dL) y lípidos (20 g/L), no interfieren. Otras sustancias pueden interferir^{6,7}

NOTAS

1. La linealidad depende del valor de concentración del calibrador utilizado.
2. 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

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.