



Apo A-I

Método inmunturbidimétrico para la determinación de apolipoproteína A-I en suero

SIGNIFICACION CLINICA

La apolipoproteína A-I (Apo A-I) es el principal componente de las lipoproteínas de alta densidad (HDL). Se sintetiza en el intestino delgado, en el hígado y en pequeña proporción en los riñones y gonadas.

La Apo A-I posee un rol fisiológico importante: actúa como cofactor en la actividad de la lecitín colesterol acil transferasa (LCAT) y además extrae el colesterol libre de las células. El proceso de esterificación del colesterol catalizado por la LCAT es importante en el transporte reverso del colesterol hacia el hígado para ser metabolizado y excretado.

Adicionalmente la Apo A-I posee un rol de estabilización de las prostaciclina y por lo tanto mejora la vasodilatación e inhibe la agregación plaquetaria. Estas funciones son importantes en la protección contra la aterosclerosis.

Los niveles de Apo A-I se encuentran aumentados en la hiper alfa-lipoproteinemia familiar, durante terapia estrogénica, embarazo y en enfermedad hepática. Un aumento en los niveles de Apo A-I se asocia con una disminución del riesgo de aterosclerosis.

Los niveles de Apo A-I se encuentran disminuidos en la hipo alfa-lipoproteinemia familiar, en la enfermedad de Tangier, colestasis y sepsis.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La Apo A-I reacciona con el anticuerpo específico formando inmunocomplejos insolubles. La turbidez causada por estos inmunocomplejos es proporcional a la concentración de Apo A-I en la muestra y puede ser medida espectrofotométricamente.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: buffer fosfato, pH 7,4.

B. Reactivo B: anticuerpos policlonales anti-Apo A-I humana (cabra) en buffer fosfato, pH 7,4.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Solución fisiológica.
- **Apo Calibrator Turbitest AA** de Wiener lab.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro". Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

MUESTRA

Suero

a) Recolección: obtener la muestra de la manera usual.

b) Aditivos: no se requieren.

c) Sustancias interferentes conocidas: no emplear muestras hemolizadas, lipémicas o contaminadas.

Las muestras que poseen precipitados deben ser centrifugadas previo a su ensayo.

No se observan interferencias por hemoglobina hasta 1000 mg/dl, triglicéridos hasta 2500 mg/dl, bilirrubina hasta 20 mg/dl, heparina hasta 50 mg/dl ni citrato de sodio 1000 mg/dl.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra debe ser preferentemente fresca. Si el ensayo no es realizado en el día, la muestra puede ser conservada 48 horas a 2-10°C o por períodos más prolongados de tiempo a -20°C.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro
- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados
- Tubos de Kahn o hemólisis
- Cronómetro

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 340 nm
- Temperatura de reacción: temperatura ambiente (25°C). El control de la temperatura no es crítico, pudiendo oscilar entre 22 y 30°C.
- Tiempo de reacción: 15 minutos
- Volumen de muestra: 30 ul
- Volumen final de reacción: 1830 ul

Los volúmenes de muestra y reactivos pueden variarse proporcionalmente, sin que se alteren los factores de cálculo.

PROCEDIMIENTO

CURVA DE CALIBRACION

Realizar en tubos de Kahn, las siguientes diluciones en solución fisiológica del **Apo Calibrator Turbitest AA**: 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 y 1:160, empleando solución fisiológica como punto cero.

Calibrador diluido	30 μ l
---------------------------	------------

Reactivo A	1500 μ l
-------------------	--------------

Homogeneizar y leer la absorbancia de cada dilución a 340 nm (DO_1) llevando a cero con agua destilada. Luego agregar:

Reactivo B	300 μ l
-------------------	-------------

Mezclar e incubar 15 minutos a temperatura ambiente. Leer la absorbancia a 340 nm (DO_2), llevando a cero con agua destilada. Calcular la diferencia de absorbancia ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) para cada dilución del calibrador, incluyendo el punto cero. Representar en papel milimetrado las diferencias de absorbancia (ΔA) en función de la concentración en mg/dl del calibrador.

PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS

Realizar una dilución 1:10 de las muestras en solución fisiológica.

Muestra diluida	30 μ l
------------------------	------------

Reactivo A	1500 μ l
-------------------	--------------

Homogeneizar y leer la absorbancia de cada dilución a 340 nm (DO_1) llevando a cero con agua destilada. Luego agregar:

Reactivo B	300 μ l
-------------------	-------------

Mezclar e incubar 15 minutos a temperatura ambiente. Leer la absorbancia a 340 nm (DO_2), llevando a cero con agua destilada.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias Interferentes conocidas en MUESTRA. Para preservar la integridad de los reactivos debe evitarse todo tipo de contaminaciones, empleando para la medición únicamente micropipetas perfectamente limpias y secas.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: realizando replicados de muestras con distintos niveles de Apo A-I, se calculó la precisión intraensayo.

Nivel	D.S.	C.V.
131,5 mg/dl	$\pm 1,7$ mg/dl	1,3%
281,2 mg/dl	$\pm 8,9$ mg/dl	3,2%

b) Límite de detección: 20 mg/dl.

c) Rango de medición: 20 - 300 mg/dl.

d) Efecto prozona: no se evidencia efecto prozona hasta 900 mg/dl de Apo A-I.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Referirse a las adaptaciones específicas de cada analizador.

PRESENTACION

60 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A

- 1 x 10 ml Reactivo B

(Cód. 1009361)

60 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A

- 1 x 10 ml Reactivo B

(Cód. 1009639)

BIBLIOGRAFIA

- Dati, F et al. - Proteins-Laboratory testing and clinical use, 2005.

- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Calcular la diferencia de absorbancia ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) correspondiente a cada muestra analizada. Interpolar esta ΔA en la curva de calibración para determinar la concentración en mg/dl (g/l) correspondiente a la muestra estudiada.

Las muestras con absorbancias superiores a la del **Apo Calibrator Turbitest AA** deben ser diluidas con solución fisiológica y procesadas nuevamente. Multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de Lipid Control de Wiener lab. El control deberá procesarse de la misma manera que las muestras.

VALORES DE REFERENCIA


















Hombres: 111 - 157 mg/dl (1,11 - 1,57 g/l)


Mujeres: 126 - 182 mg/dl (1,26 - 1,82 g/l)

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

	Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"		Elaborado por:
	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Nocivo
	Uso diagnóstico "in vitro"		Corrosivo / Caústico
	Contenido suficiente para <n> ensayos		Irritante
	Fecha de caducidad		Consultar instrucciones de uso
	Límite de temperatura (conservar a)		Calibrador
	No congelar		Control
	Riesgo biológico		Control Positivo
	Volumen después de la reconstitución		Control Negativo
	Contenido		Número de catálogo
	Número de lote		

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-66



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina