

Lp(a)-turbilatex

Latex turbidimetry

Quantitative determination of Lipoprotein (a) (Lp(a)) IVD

Store 2 - 8°C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The Lp(a)-turbilatex is a quantitative turbidimetric test for the measurement of Lp(a) in human serum or plasma. Latex particles coated with antibodies anti-Lp(a) are agglutinated when mixed with samples containing Lp(a). The agglutination causes an absorbance change, dependent upon the Lp(a) contents of sample that can be quantified by comparison from a calibrator of known Lp(a) concentration.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Lp(a) is a low density lipoprotein-like particle containing apolipoprotein B-100 disulphide-linked to one large glycoprotein called apolipoprotein (a). Many investigators have confirmed that a high Lp(a) concentration represents an indicator of risk for cardiovascular disease, especially when serum LDL-cholesterol or Apo B are elevated. The quantification of Lp(a) in serum or plasma is important for identification of individuals at risk for developing atherosclerosis.

REAGENTS

Diluent (R1)	Glycine buffer 50 mmol/L, pH 9.0. Sodium azide 0.95 g/L.
Latex (R2)	Latex particles coated with mouse monoclonal anti-human Lp(a), pH 8.2. Sodium azide 0.95 g/L.
Optional	Ref.: 1107022 Lp(a) Calibrator. Ref.: 1107024 Lp(a) Control.

CALIBRATION

The sensitivity of the assay and the target value of the calibrator have been standardized against an Internal Reference Material. It is not recommended the use of other commercially available Lp(a) calibrators.

PREPARATION

Calibration Curve Prepare the following Lp(a) calibrator dilutions in NaCl 9 g/L. Multiply the concentration of the Lp(a) calibrator by the corresponding factor stated in table below to obtain the Lp(a) concentration of each dilution.

Calibrator dilution	1	2	3	4	5
Lp(a) Calibrator (µL)	--	12.5	25	50	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	87.5	75	50	-
Factor	0	0.125	0.25	0.5	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. Do not freeze; frozen Latex or Diluent could change the functionality of the test.

Reagent deterioration: Presence of particles and turbidity.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spinlab 180 autoanalyzer
- Laboratory equipment.

SAMPLES

Fresh serum or plasma. Stable 7 days 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.

REFERENCE VALUES

Normal values up to 30 mg/dL. Each laboratory should establish its own reference range.

QUALITY CONTROL

Control Sera are recommended to monitor the performance of manual and automated assay procedures. It should be used the SPINREACT Lp(a) Control Ref.: 1107024.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

SPINLAB 180 APPLICATION

Name	Lp(a)	Ref. male low	0.0 mg/dL
Abbr. Name	Lp(a)	Ref. male high	30.0 mg/dL
Mode	Twopoints	Ref. female low	0.0 mg/dL
Wavelength	578 nm	Ref. female high	30.0 mg/dL
Units	mg/dL	Ref. Ped. Low	*
Decimals	1	Ref. Ped. High	*
Low Conc.	12.0 mg/dL	Control 1	*
High Conc.	80.0 mg/dL	Control 2	*
Calibrator name	CAL Lp(a)	Control 3	*
Prozone check	No	Correlat. factor	1.000
		Correlat. offset	0.000
DUAL MODE			
Sample blank	No		
R1 bottle (mL)	25 mL		
normal volume	240 µL		
rerun volume	240 µL		
Sample			
normal volume	5.0 µL		
rerun volume	3.0 µL		
R2 bottle (mL)	5 mL		
normal volume	60 µL		
rerun volume	60 µL		
Predilución	No		
Slope blank	No		
Point one,two	6, 236 sec.		
Reagent blank	Yes		
Low Absorbance	-0.100 Abs		
High Absorbance	3.000 Abs		
R. Abs. L. Limit	-0.100 Abs		
R. Abs. H. Limit	3.000 Abs		
Substr.Depletion	3.000 Abs		

INTERFERENCES

Hemoglobin (5 g/L), bilirubin (20 mg/dL), plasminogen (680 mg/dL), ascorbic ac. (200 mg/dL), rheumatoid factors (100 IU/mL) and lipemia (20 g/L), do not interfere. Other substances may interfere⁵.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

- Linearity:** Up to 90 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 and measurement range depends on the sample to reagent ratio. It will be higher by decreasing the sample volume, although the sensitivity of the test will be proportionally decreased.
- Limit detection:** Values less than 0,49 mg/dL give non-reproducible results.
- Prozone effect:** No prozone effect was detected upon 250 mg/dL.
- Sensitivity:** Δ 6 mA. mg/dL.
- Precision:**

Mean (mg/dL)	Intra-assay (n=20)			Inter-assay (n=6)		
	4,62	12,35	24,33	31,57	39,10	54,33
SD	0,22	0,29	0,25	0,87	0,66	0,74
CV	4,74	2,33	1,05	2,77	1,70	1,37

- Accuracy:** Results obtained using this reagent (y) were compared to those obtained using a commercial ELISA reagent (x). 50 samples were assayed. The correlation coefficient (r) was 0,997 and the regression equation $y = 1,062x + 2,021$. The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

NOTES

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

BIBLIOGRAPHY

- Gaubatz JW et al. J Biol. Chem 1983; 258: 4582 – 4589.
- Berg KA et al. Acta Pathol Microbiol Scand 1963; 59: 369-382.
- Scanu AM et al. J Clin Invest 1990; 85: 1709-1715.
- Frank S et al. Eur J Clin Invest 1996; 26: 109-114.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.

PACKAGING

Ref.: SP1107020

Cont.

R1. Diluent: 1 x 20 mL

R2. Latex: 1 x 4 mL

**Determinación cuantitativa de Lipoproteína (a) (Lp(a))
IVD**

Conservar a 2 - 8°C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El Lp(a)-turbilátex es un ensayo turbidimétrico para la cuantificación de Lp(a) en suero o plasma humano.

Las partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti-Lp(a) humana, son aglutinadas por Lp(a) presente en la muestra del paciente. El proceso de aglutinación provoca un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de Lp(a) de la muestra, y por comparación con un calibrador de Lp(a) de concentración conocida se puede determinar el contenido de Lp(a) en la muestra ensayada.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La Lp(a) es una proteína de baja densidad constituida por una apolipoproteína B-100 unida por puentes de disulfuro a una glicoproteína (a). Algunos investigadores han confirmado que una concentración elevada de Lp(a) representa un indicador de riesgo de enfermedad cardiovascular, especialmente cuando la LDL-colesterol o la Apo B son elevadas. La cuantificación de la Lp(a) en suero o plasma es importante para la identificación de individuos con riesgo de arterosclerosis.

REACTIVOS

Diluyente (R1)	Tampón glicina, 50 mmol/L, pH 9,0. Azida sódica 0,95 g/L.
Látex (R2)	Partículas de látex cubiertas de anticuerpo monoclonal de ratón anti-Lp(a) humana, pH, 8,2. Azida sódica 0,95 g/L.
Opcional	Ref: 1107022 Lp (a) Calibrador Ref: 1107024 Lp (a) Control

CALIBRACIÓN

La sensibilidad del ensayo y el valor de concentración del Calibrador están estandarizados frente a un Material de Referencia Interno. No se recomienda el uso de otros patrones comerciales para la calibración.

PREPARACIÓN

Curva de Calibración: Preparar las siguientes diluciones del Calibrador de Lp(a) utilizando NaCl 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución de Lp(a), multiplicar la concentración del Calibrador por el factor correspondiente indicado en la tabla:

Dilución Calibrador	1	2	3	4	5
Calibrador Lp (a) (µL)	--	12.5	25	50	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	87.5	75	50	-
Factor	0	0.125	0.25	0.50	1.0

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el envase 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.

La congelación de los reactivos de Látex y Diluyente altera irreversiblemente la funcionalidad de los mismos.

Indicadores de deterioro de los reactivos: Presencia de partículas y turbidez.

MATERIAL ADICIONAL

- Autoanalizador Spinlab 180
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero fresco o plasma. Estable 7 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C. Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes. No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

VALORES DE REFERENCIA

Valores normales hasta 30 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. Debe usarse el control de Lp(a) de SPINREACT Ref.: 1107024.

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.

APLICACIÓN AL SPINLAB 180

Nombre	Lp(a)	Ref. Hombre Inf.	0.0 mg/dL
Nombre abreviado	Lp(a)	Ref. Hombre Sup.	30.0 mg/dL
Modo	Twopoint	Ref. Mujer Inf.	0.0 mg/dL
Long. ondas	578nm	Ref. Mujer Sup.	30.0 mg/dL
Unidades	mg/dL	Ref. Ped. Inf.	*
Decimales	1	Ref. Ped. Sup.	*
Conc. Inferior	12.0 mg/dL	Control 1	*
Conc. Superior	80.0 mg/dL	Control 2	*
Calibrador	CAL Lp(a)	Control 3	*
Chequeo prozona	No	Factor correl.	1.000
		Offset de correl.	0.000
MODO DUAL			
Blanco muestra	No		
Frasco R1 (mL)	25 mL		
Vol. normal	240 µL		
Vol. repet.	240 µL		
Muestra			
Vol. normal	5.0 µL		
Vol. repet.	3.0 µL		
Frasco R2 (mL)	5 mL		
Vol. normal	60 µL		
Vol. repet.	60 µL		
Predilución	No		
Pendiente Blco.	No		
1er,2º punto	6,236 sec.		
Blanco reactivo	Si		
Absorbancia inf.	-0.100 Abs		
Absorbancia sup.	3.000 Abs		
Lim.Inf. Abs. React.	-0.100 Abs		
Lim.Sup. Abs. React .	3.000 Abs		
Agotam. Sustrato	3.000 Abs		

INTERFERENCIAS

Hemoglobina (5 g/L), bilirrubina (20 mg/dL), plasminógeno (680 mg/dL), ac. ascórbico (200 mg/dL), factores reumatoideos (100 IU/mL) y lípidos (20 g/L), no interfieren. Otras sustancias pueden interferir⁵.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

1.Límite de linealidad: hasta 90 mg/dL, en las condiciones descritas del ensayo. Puede variar en función del analizador o espectrofotómetro utilizado. La linealidad depende de la relación muestra/reactivo. Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el límite superior de linealidad, aunque se reduce la sensibilidad.

2.Límite de detección: Valores por debajo de 0,49 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.

3.Efecto prozona: No se observa efecto prozona hasta valores de 250 mg/dL.

4.Sensibilidad: Δ 6 mA.mg/dL.

5.Precisión:

Media (mg/dL)	Intraserie (n=20)			Interserie (n=6)		
	4,62	12,35	24,33	31,57	39,10	54,33
SD	0,22	0,29	0,25	0,87	0,66	0,74
CV	4,74	2,33	1,05	2,77	1,70	1,37

6. Exactitud: El comportamiento de este método (y) fue comparado con un método ELISA (x). 50 muestras de concentraciones entre 1 y 80 mg/dL de Lp(a) fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r) fue de 0,997 y la ecuación de la recta de regresión y = 1,062x + 2.021.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

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.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gaubatz JW et al. J Biol. Chem 1983; 258: 4582 – 4589.
2. Berg KA et al. Acta Pathol Microbiol Scand 1963; 59: 369-382.
3. Scanu AM et al. J Clin Invest 1990; 85: 1709-1715.
4. Frank S et al. Eur J Clin Invest 1996; 26: 109-114.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.

PRESENTACIÓN

Ref.: SP1107020

Cont.

R1. Diluyente: 1 x 20 mL

R2. Látex: 1 x 4 mL