



Método inmunturbidimétrico para la determinación de apolipoproteína B en suero

SIGNIFICACION CLINICA

La apolipoproteína B (Apo B) es una de las proteínas humanas de mayor tamaño. Representa aproximadamente el 95% del total del contenido proteico de las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Es también el componente proteico de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y de los quilomicrones.

Apo B es esencial en la formación y liberación al plasma de las lipoproteínas e interactúa con los receptores de LDL presentes en las células periféricas lo que resulta en la remoción y degradación de las LDL.

Niveles elevados de Apo B se encuentran en pacientes con hipercolesterolemia familiar, hiperapobetalipoproteinemia familiar, síndrome nefrótico, obstrucción biliar, hiperlipidemia tipo II. Los niveles aumentados de Apo B se asocian con riesgo aumentado de aterosclerosis.

Niveles disminuidos de Apo B se encuentran en pacientes con hipobeta lipoproteinemia familiar, abetalipoproteinemia, anemia crónica, enfermedad hepática y degeneración neuromuscular.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La Apo B reacciona con el anticuerpo específico formando inmunocomplejos insolubles. La turbidez causada por estos inmunocomplejos es proporcional a la concentración de Apo B 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 B 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: 10 ul
- Volumen final de reacción: 1810 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:** 1:1; 1:2; 1:4; 1:8; 1:16, empleando solución fisiológica como punto cero.

Calibrador diluido	10 ul
Reactivo A	1500 ul
Homogeneizar y leer la absorbancia de cada dilución a 340 nm (DO ₁) llevando a cero con agua destilada. Luego agregar:	
Reactivo B	300 ul
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 Apo Calibrador Turbitest AA.	
PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS	
Muestra	10 ul
Reactivo A	1500 ul
Homogeneizar y leer la absorbancia de cada dilución a 340 nm (DO ₁) llevando a cero con agua destilada. Luego agregar:	
Reactivo B	300 ul
Mezclar e incubar 15 minutos a temperatura ambiente. Leer la absorbancia a 340 nm (DO ₂), llevando a cero con agua destilada.	

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: se realizaron 20 replicados consecutivos de dos muestras con distintos niveles de Apo B. Con los datos obtenidos, se calculó la precisión intraensayo.

Nivel	D.S.	C.V.
133,7 mg/dl	± 3,7 mg/dl	2,8%
169,1 mg/dl	± 4,2 mg/dl	2,5%

b) Límite de detección: 30 mg/dl.

c) Rango de medición: 30 - 400 mg/dl.

d) Efecto prozona: no se evidencia efecto prozona hasta 4000 mg/dl de Apo B.

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. 1009362)

60 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A
 - 1 x 10 ml Reactivo B
 (Cód. 1009640)

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 Calibrador 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: 79 - 127 mg/dl (0,79 - 1,27 g/l)

Mujeres: 70 - 122 mg/dl (0,70 - 1,22 g/l)

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

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

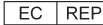
Ver Sustancias Interferentes conocidas en MUESTRA. Para preservar la integridad de los reactivos debe evitarse todo tipo de contaminaciones, empleando para la medición únicamente micropipetas perfectamente limpias y secas.

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"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo

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-1102-67



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina