

Apolipoproteína B - Turbidimetría
Determinación cuantitativa de la Apolipoproteína B (APO B)
 Solo para uso in vitro en el laboratorio clínico
 Conservar a 2-8°C

Ref.: KAPB-002

1 x 40 mL R1

1 x 10 mL R2

APOLIPOPROTEINA B

PRINCIPIO DEL MÉTODO¹

Ensayo turbidimétrico para la cuantificación de la apolipoproteína B en suero o plasma humano.

Los anticuerpos anti-Apo B forman compuestos insolubles cuando se combinan con las Apo B de la muestra del paciente, ocasionando un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de Apo B en la muestra, y que puede ser cuantificada por comparación con un calibrador de Apo B de concentración conocida.

SIGNIFICADO CLÍNICO¹

La Apo B es la principal apolipoproteína estructural asociada a las lipoproteínas de VLDL (Very Low Density Lipids), LDL (Low Density Lipids) y quilomicrones. Su función principal es la secreción de lipoproteínas ricas en triglicéridos desde el intestino y el hígado otros tejidos. La Apo B existe en dos formas distintas: Apo B-100, componente mayoritario de la LDL, sintetizada en el hígado y excretada en el plasma como parte de VLDL, y la Apo B-48, componente mayoritario de los quilomicrones y sintetizada en el intestino.

Estudios diversos, muestran que individuos con enfermedad coronaria (CHD) sufren cambios en las concentraciones de Apo A-I y Apo B, parecidas a los cambios de concentración de HDL y LDL. Además, la concentración de Apo A-I y Apo B son mejores indicadores que la concentración de LDL y HDL colesterol.

En la hiperbetalipoproteinemia, la concentración de LDL colesterol es normal o ligeramente baja, mientras que la concentración de Apo B-100 es significativamente elevada. La relación de la LDL colesterol y la Apo B-100 se reduce en estos pacientes.

Los defectos en la estructura de Apo B o las lipoproteínas que contienen Apo B impiden la secreción de las lipoproteínas intestinales y hepáticas ricas en triglicéridos. Esta dislipoproteinemia se denomina abetalipoproteinemia o hipobetalipoproteinemia homocigótica.

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 B 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 SP3-07 (CDC, USA). Se recomienda el uso del Calibrador APO CAL para la calibración.

PREPARACIÓN

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: 340 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 (µL)	750
Muestra o Calibrador (µL)	8

5. Mezclar y leer la absorbancia (A₁) después de la adición de la muestra.

6. Inmediatamente después, pipetear en la cubeta:

Reactivo R2	250 µL
-------------	--------

7. Mezclar y leer la absorbancia (A₂) 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 B.

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

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 69– 105 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 CINA 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 2 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.

3. **Sensibilidad:** Δ 4.48 mA /mg/dL (107 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)	54.8	86.4	116.7	82.3	170.6
SD	0.45	0.6	1.4	0.65	1.10
CV	0.82	0.76	1.21	0.79	0.64

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 B entre 40 y 160 mg/dL fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r) fue de 0,980 y la ecuación de la recta de regresión $y = 0.927x + 5.96$.

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. Brown MS et al. Science 1986; 232:34-47.
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.