

COD 31097 1 x 20 mL	COD 31098 1 x 50 mL	COD 31099 1 x 250 mL
CONSERVAR A 2-8°C		
Reagentes para medir a concentração de Apo B Só para uso <i>in vitro</i> nos laboratórios clínicos		

APOLIPOPROTEIN B (Apo B)



APOLIPOPROTEÍNA B (Apo B) Turbidimetria

FUNDAMENTO DO MÉTODO

A apolipoproteína B presente na amostra precipita na presença de anticorpos anti-apolipoproteína B humana. A dispersão da luz gerada pelos complexos antígeno-anticorpo é proporcional à concentração de apolipoproteína B e pode ser quantificada por turbidimetria^{1,2}.

CONTEÚDO

	COD 31097	COD 31098	COD 31099
A. Reagente	1 x 16 mL	1 x 40 mL	1 x 200 mL
B. Reagente	1 x 4 mL	1 x 10 mL	1 x 50 mL

COMPOSIÇÃO

- A. Reagente: Tampão glicina 100 mmol/L, sódio azide 0,95 g/L, pH 8,5.
B. Reagente: Anticorpos de cabra anti apo B humana, sódio azide 0,95 g/L.

CONSERVAÇÃO

Conservar a 2-8°C.

Os Reagentes são estáveis até à data de caducidade indicada na etiqueta, desde que se conservem bem fechados e se evite a contaminação durante o seu uso.

Indicações de deterioração:

- Reagentes: Presença de partículas, turvação, absorvância do branco superior a 0,400 a 340 nm.

REAGENTES AUXILIARES

S. Padrão de Apo B (BioSystems Cod. 31200). A concentração vem indicada na etiqueta do frasco. O valor de concentração é traçável ao Material de Referência Certificada WHO/IFCC SP3-07 (Centers for Disease Control and Prevention, USA).

O soro humano utilizado na preparação do padrão era negativo para o antígeno HBs e para os anticorpos anti-HCV e anti-HIV. No entanto, o padrão deve tratar-se com precaução pois é potencialmente infeccioso.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Os Reagentes estão prontos para seu uso.

Padrão de Apo B (S): Reconstituir o liofilizado com 1,0 mL de água destilada. Estável 1 semana a 2-8°C ou 1 mês a -20°C (congele-se somente uma vez).

Curva de Calibração: Preparar diluições do padrão de apo B usando a solução salina 9 g/L como diluente. Multiplicar a concentração do padrão de apo B pelo factor correspondente indicado na tabela, para obter a concentração de apolipoproteína B das diluições.

DILUIÇÃO	1	2	3	4	5
Padrão de apo B (µL)	10	20	40	60	80
Sol. salina (µL)	70	60	40	20	—
Factor	0,125	0,25	0,5	0,75	1,0

MATERIAL ADICIONAL

- Banho de água a 37°C.
- Analisador, espectrofotómetro ou fotómetro com cubete termostaticada a 37°C para leituras a 340 ± 20 nm

AMOSTRAS

Soro ou plasma recolhidos mediante procedimentos standard. Utilizar heparina ou EDTA como anticoagulantes. Não congelar as amostras.

A apolipoproteína B em soro ou plasma é estável 7 dias a 2-8°C.

PROCEDIMENTO

- Pré-aquecer os Reagentes e o equipamento a 37°C.
- Pipetar numa cubete (Nota 1):

Reagente (A)	0,8 mL
Água destilada (Branco), Padrão (S) ou Amostra	10 µL

- Misturar e inserir a cubete no equipamento.
- Ler a absorvância (A₁) a 340 nm.

5. Pipetar:

Reagente (B)	0,2 mL
--------------	--------

- Misturar e inserir a cubete no equipamento. Ligar o cronómetro.
- Ler a absorvância (A₂) a 340 nm exactamente aos 5 minutos da adição do Reagente B.

CÁLCULOS

Curva de calibração: Representar gráficamente os valores de diferença de absorvância (A₂-A₁) de cada padrão contra a respectiva concentração de apolipoproteína B. Utilizar o Branco como padrão de concentração 0. A concentração de apolipoproteína B na amostra calcula-se por interpolação da sua diferença de absorvância (A₂ - A₁) na curva de calibração.

VALORES DE REFERÊNCIA

Soro, adultos³: 63-133 mg/dL

Estes valores dão-se unicamente a título orientativo; é recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CONTROLE DE QUALIDADE

Recomenda-se o uso de Soro Controle de Lípidos níveis I (cod. 18040) e II (cod. 18041) para verificar a funcionalidade do procedimento de medida.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio programa de Controle de Qualidade interno, assim como procedimentos de correcção como nos casos em que os controles não cumpram com as tolerâncias aceitáveis.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

– Limite de detecção: 1,5 mg/dL apolipoproteína B.

– Intervalo de medida (valor aproximado dependendo da concentração do padrão mais elevado): 1,5-300 mg/dL. Quando se obtêm valores superiores, diluir a amostra 1/5 com água destilada e repetir a medição.

– Repetibilidade (intraensaio):

Concentração média	CV	n
94 mg/dL	1,6 %	25
214 mg/dL	1,3 %	25

– Reprodutibilidade (interensaio):

Concentração média	CV	n
94 mg/dL	3,7 %	25
214 mg/dL	1,7 %	25

– Sensibilidade: 3,6 mA-dL/mg a 140 mg/dL.

– Veracidade: Os resultados obtidos com estes reagentes não mostram diferenças sistemáticas significativas quando comparados com reagentes de referência. Os detalhes do estudo comparativo estão abaixo disponíveis.

– Fenómeno de zona: obtêm-se resultados falsamente baixos em amostras com uma concentração de apolipoproteína B superior a 400 mg/dL.

– Interferências: A bilirrubina (20 mg/dL) e factor reumatoide (300UI/mL) não interferem. Lipemia (triglicéridos 5 g/L) e hemoglobina (10 g/L) interferem. Outros medicamentos e substâncias podem interferir⁴.

Estes dados foram obtidos utilizando um analisador. Os resultados podem variar ao mudar de equipamento ou ao realizar-se o procedimento manualmente

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

A apolipoproteína B é a proteína mais abundante nas lipoproteínas de LDL, VLDL, IDL e quilomícrons. A sua principal função é o transporte de lípidos, especialmente de ésteres de colesterol desde o fígado a outros tecidos.

A medição das apolipoproteínas utiliza-se tanto para o reconhecimento de risco coronário, como no diagnóstico de determinados trastornos do metabolismo primário das lipoproteínas, onde o perfil plasmático das apolipoproteínas altera-se significativamente. A concentração plasmática da apolipoproteína B aumenta na hiperapobetalipoproteinemia, onde a concentração de LDL-colesterol encontra-se dentro do intervalo de referência.

Um grande numero de estudos realizados em pacientes com trastornos coronários puseram em evidência que a concentração plasmática da apolipoproteína B tem um valor discriminante superior ao resto de lipoproteínas e lípidos. Da mesma maneira, diversos estudos prospectivos confirmaram a utilidade da sua medição na determinação de risco cardiovascular.

A ausência ou diminuição severa no plasma da apo B ocorre na abetalipoproteinemia ou na hipobetalipoproteinemia homozigota.

O diagnóstico clínico não se deve realizar tendo em conta o resultado de um unico teste, mas deve integrar-se nos dados clínicos e de laboratório.

NOTAS

- Estes reagentes podem utilizar-se na maioria dos analisadores automáticos. Solicite informação ao seu distribuidor.

BIBLIOGRAFIA

- Marcovina SM, Albers JJ, Dati F, Ledue TB, Richitie RF. International Federation of Clinical Chemistry standardization project for measurements of apolipoproteins A-I and B. *Clin Chem* 1991; 37: 1676-82.
- Price CP, Spencer K and Whicher J. Light-scattering immunoassay of specific proteins: a review. *Ann Clin Biochem* 1983; 20: 1-14.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999..
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.