



APO-B

# Apolipoprotein B

Turbidimetry

## Quantitative determination of apolipoprotein B (APO B) IVD

Store 2 - 8°C.

### PRINCIPLE OF THE METHOD

Turbidimetric test for the measurement of apolipoprotein B in human serum or plasma.

Anti- Apo B antibodies when mixed with samples containing Apo B, form insoluble complexes. These complexes cause an absorbance change, dependent upon the Apo B concentration of the patient sample, that can be quantified by comparison from a calibrator of known Apo B concentration.

### CLINICAL SIGNIFICANCE<sup>1</sup>

Apo B is the major structural apolipoprotein in VLDL (Very Low Density Lipids), LDL (Low Density Lipids) lipoproteins and chylomicron. The most important function is the transport of rich tryglicerides lipoproteins from liver and intestine to other tissues. Apo B exists in two forms: Apo B-100 and Apo B-48. Apo B-100, the most important component of LDL, is synthesized in the liver and excreted in plasma as part of VLDL. Apo B-48, the most important component of chylomicrons, is synthesized in the intestine.

Several studies demonstrated that in people with coronary heart disease (CHD), changes in the serum concentrations of Apo A-I and Apo B are similar to those for HDL and LDL, respectively and whereas, are somewhat better discriminators of people with CHD than the LDL and HDL cholesterol concentrations.

The hiperbetalipoproteinemia is characterized by increased LDL Apo B-100 concentrations with normal or moderately increased concentrations of LDL cholesterol. The ratio of LDL cholesterol to Apo B-100 is therefore reduced in these patients.

Defects in the Apo B structure or lipoproteins containing Apo B prevent the secretion of triglycerides rich intestinal and hepatic lipoproteins; this disorder occurs in abetalipoproteinemia or homozygous hypobetalipoproteinemia.

### REAGENTS

<b>Diluent (R1)</b>	Tris buffer 20 mmol/L, PEG, pH 8,3. Preservative.
<b>Antibody (R2)</b>	Goat serum, anti-human Apo B, tris 50 mmol/L, pH 7,5. Preservative.
<b>Optional</b>	APO CAL ref: 93005

### CALIBRATION

The assay and the value of the calibrator concentration have been standardized against the Certified Reference Material WHO/IFCC SP3-07 (CDC, USA). It is recommended the use of the APO CAL Calibrator for calibration.

### PREPARATION

**Reagents:** Ready to use.

### 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.

**Reagent deterioration:** The presence of particles and turbidity.

Do not freeze; frozen Antibody or Diluent could change the functionality of the test.

### ADDITIONAL EQUIPMENT

- SPIN640 / SPIN640Plus autoanalyzer
- Laboratory equipment.

### SAMPLES

Fresh serum or plasma. EDTA or heparin should be used as anticoagulant. Stable 2 weeks 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<sup>5</sup>

Between 69 – 105 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. Spinreact Apolipoprotein Control (Ref.:93006) is available. Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

### NOTES

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

**BARCODED REAGENTS LOAD MUST BE PRECEDED OF A SPINREACT "DATABASE" COPY INTO THE ANALYZER SOFTWARE. IT IS AVAILABLE UNDER REQUEST TO SPINREACT.**

### SPIN640 APPLICATION

<b>TEST INFORMATION</b>		<b>REAGENT VOLUME</b>		
Nº	**	Vol. R1	240	
Test	ApoB	Vol. R2	60	
Full Name	ApolipoproteinB	Vol. R3		
Standard nº	6	Vol. R4		
<b>SAMPLE VOLUME</b>		<b>RESULT SETUP</b>		
Vol. Sample Stand.	2	Decimal	1 Slope 1	
Vol. Sample Increas.		Unit	mg/dL Inter. 0	
Vol. Sample Dec				
<b>REACTION PARAMETERS</b>				
Reac. Type	End Point	Direction	Increase	
Pri. Wave.	340	Reagent Blank	40-41	
Sec. Wave.		React. Time	75-76	
<b>CALIBRATION DILUTION (5 CAL + 1 WATER BLANK)</b>				
CALIBRATION TYPE: SPLINE				
<b>Nº CAL DIL</b>	<b>CONCENTRATION</b>	<b>SAMPLE DIL</b>	<b>VOL DIL</b>	<b>VOL SAMPLE</b>
0	CAL *0.1	10.0	90.0	2.0
1	CAL *0.25	30.0	90.0	2.0
2	CAL *0.4971	30.0	90.0	4.0
3	CAL *0.7412	30.0	90.0	6.0
4	CAL	0.0	0.0	2.0

### SPIN640Plus APPLICATION

<b>EDIT PARAMETERS</b>																												
Test	APO B	No.	**																									
Full name	APO B	Print name	APO B																									
Reac. Type	End Point	Direction	Increase																									
Pri. Wave.	340	Sec. Wave.																										
Unit	mg/dL	Decimal	0.1																									
Reagent Blank	46 - 47	React. Time	81 - 82																									
Vol. Sample	2.1 ul	R1	240 ul																									
Increased		R2	60 ul																									
Decreased		R3																										
Sample blank		R4																										
<table border="1"> <tr> <td>CALIBRATION</td> <td>Spline</td> <td>Water</td> <td>0</td> <td rowspan="6"> <i>Vol aspirated</i>   <i>Vol net</i>   <i>Vol dil</i>  2.1   13   115  2.1   35   105  4.2   35   105  6.3   35   105  2.1   --   -- </td> </tr> <tr> <td></td> <td>Calibrator</td> <td>*0.1</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>Calibrator</td> <td>*0.25</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>Calibrator</td> <td>*0.489</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>Calibrator</td> <td>*0.735</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>Calibrator</td> <td>(*Cal Value</td> <td>2.1</td> </tr> </table>				CALIBRATION	Spline	Water	0	<i>Vol aspirated</i> <i>Vol net</i> <i>Vol dil</i> 2.1   13   115 2.1   35   105 4.2   35   105 6.3   35   105 2.1   --   --		Calibrator	*0.1			Calibrator	*0.25			Calibrator	*0.489			Calibrator	*0.735			Calibrator	(*Cal Value	2.1
CALIBRATION	Spline	Water	0	<i>Vol aspirated</i> <i>Vol net</i> <i>Vol dil</i> 2.1   13   115 2.1   35   105 4.2   35   105 6.3   35   105 2.1   --   --																								
	Calibrator	*0.1																										
	Calibrator	*0.25																										
	Calibrator	*0.489																										
	Calibrator	*0.735																										
	Calibrator	(*Cal Value	2.1																									

The Calibration is stable until 27 days. After this period the Calibration must be performed again in order to obtain good results.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

- Measurement range:** Up to 250 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 depends on the sample / reagent ratio. It will be higher by decreasing the sample volume, although the sensitivity of the test will be proportionally decreased.
- Detection Limit:** Values less than 1,91 mg/dL give non-reproducible results.
- Precision:** The reagent has been tested for 20 days, using three levels of serum in a EP5-based study (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	23,92 mg/dL	59,08 mg/dL	119,07 mg/dL
Total	7,4%	4,3%	3,6%
Within Run	2,0%	1,4%	1,0%
Between Run	3,7%	2,2%	1,8%
Between Day	6,1%	3,4%	3,0%

- Accuracy:** Results obtained using this reagent (y) were compared to those obtained with a Daiichi immunoturbidimetric method. 48 samples ranging from 50 to 200 mg/dL of Apo B were assayed. The correlation coefficient (r) was 0,965 and the regression equation  $y = 0,996x + 5,112$ . The results of the performance characteristics depend on the used analyzer.

### BIBLIOGRAPHY

- Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
- Mahley RW et al. J Lipids Res 1984; 25: 1277-1294.
- Brown MS et al. Science 1986; 232:34-47.
- Freedman DS et al. N Eng J Med 1986; 315: 721-726.
- Sakurabayashi I et al. Clinica Chimica Acta 2001; 312: 87-95.
- Young DS. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

### PACKAGING

Ref.: MD1103013	Cont.	R1. Diluent: 2 x 40 mL
		R2. Antibody: 1 x 20 mL



## Determinación cuantitativa de la Apolipoproteína B (APO B) IVD

Conservar a 2 - 8°C.

### PRINCIPIO DEL MÉTODO<sup>1</sup>

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 CLÍNICO<sup>1</sup>

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

<b>Diluyente (R1)</b>	Tris 20 mmol/L, PEG pH 8,3. Conservante.
<b>Anticuerpo (R2)</b>	IgG de cabra, anti-Apo B humana, tris 50 mmol/L, pH 7,5. Conservante.
<b>Opcional:</b>	APO CAL ref: 93005

### 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.

### MATERIAL ADICIONAL

- Autoanalizador SPIN640 / SPIN640Plus
- Equipamiento habitual de laboratorio.

### 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.

### VALORES DE REFERENCIA<sup>5</sup>

Entre 69– 105 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. Spinreact dispone del Suero APO Control Ref: 93006.

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.

### 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.

**PARA LA CARGA DE REACTIVOS MEDIANTE EL CÓDIGO DE BARRAS SE DEBE PRECARGAR LA "BASE DE DATOS" DISPONIBLE BAJO SOLICITUD A SPINREACT.**

### APLICACIÓN AL SPIN640

TEST INFORMATION		REAGENT VOLUME		
Nº	**	Vol. R1	240	
Test	ApoB	Vol. R2	60	
Full Name	ApolipoproteinB	Vol. R3		
Standard nº	6	Vol. R4		
SAMPLE VOLUME		RESULT SETUP		
Vol. Sample Stand.	2	Decimal	1 Slope 1	
Vol. Sample Increas.		Unit	mg/dL Inter. 0	
Vol. Sample Dec				
REACTION PARAMETERS				
Reac. Type	End Point	Direction	Increase	
Pri. Wave.	340	Reagent Blank	40-41	
Sec. Wave.		React. Time	75-76	
CALIBRATION DILUTION (5 CAL + 1 WATER BLANK)				
CALIBRATION TYPE: SPLINE				
Nº CAL DIL	CONCENTRATION	SAMPLE DIL	VOL DIL	VOL SAMPLE
0	CAL *0.1	10.0	90.0	2.0
1	CAL *0.25	30.0	90.0	2.0
2	CAL *0.4971	30.0	90.0	4.0
3	CAL *0.7412	30.0	90.0	6.0
4	CAL	0.0	0.0	2.0

### APLICACIÓN AL SPIN640PLUS

EDIT PARAMETERS																																													
Test	APO B	No.	**																																										
Full name	APO B	Print name	APO B																																										
Reac. Type	End Point	Direction	Increase																																										
Pri. Wave.	340	Sec. Wave.																																											
Unit	mg/dL	Decimal	0.1																																										
Reagent Blank	46 - 47	React. Time	81 - 82																																										
Vol. Sample	2.1 ul	R1	240 ul																																										
Increased		R2	60 ul																																										
Decreased		R3																																											
Sample blank		R4																																											
<table border="1"> <thead> <tr> <th>CALIBRATION</th> <th>Spline</th> <th>Water</th> <th>0</th> <th>Vol aspirated</th> <th>Vol net</th> <th>Vol dil</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Calibrator</td> <td>*0.1</td> <td></td> <td></td> <td>2.1</td> <td>13</td> <td>115</td> </tr> <tr> <td>Calibrator</td> <td>*0.25</td> <td></td> <td></td> <td>2.1</td> <td>35</td> <td>105</td> </tr> <tr> <td>Calibrator</td> <td>*0.489</td> <td></td> <td></td> <td>4.2</td> <td>35</td> <td>105</td> </tr> <tr> <td>Calibrator</td> <td>*0.735</td> <td></td> <td></td> <td>6.3</td> <td>35</td> <td>105</td> </tr> <tr> <td>Calibrator</td> <td>(* )Cal Value</td> <td></td> <td></td> <td>2.1</td> <td>--</td> <td>--</td> </tr> </tbody> </table>				CALIBRATION	Spline	Water	0	Vol aspirated	Vol net	Vol dil	Calibrator	*0.1			2.1	13	115	Calibrator	*0.25			2.1	35	105	Calibrator	*0.489			4.2	35	105	Calibrator	*0.735			6.3	35	105	Calibrator	(* )Cal Value			2.1	--	--
CALIBRATION	Spline	Water	0	Vol aspirated	Vol net	Vol dil																																							
Calibrator	*0.1			2.1	13	115																																							
Calibrator	*0.25			2.1	35	105																																							
Calibrator	*0.489			4.2	35	105																																							
Calibrator	*0.735			6.3	35	105																																							
Calibrator	(* )Cal Value			2.1	--	--																																							

La Calibración es estable hasta 27 días. Pasado este período es necesario solicitar de nuevo la Calibración para la obtención de buenos resultados.

### CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

- Rango de medida:** hasta 250 mg/dL, en las condiciones descritas del ensayo. Las muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 con NaCl 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.
- Límite de detección:** valores por debajo de 1,91 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.
- Precisión:** El reactivo ha sido probado durante 20 días con tres niveles diferentes de suero en un estudio basado en las normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	23,92 mg/dL	59,08 mg/dL	119,07 mg/dL
Total	7,4%	4,3%	3,6%
Within Run	2,0%	1,4%	1,0%
Between Run	3,7%	2,2%	1,8%
Between Day	6,1%	3,4%	3,0%

- Exactitud:** El comportamiento de este método (y) fue comparado con un método inmunoturbidimétrico de Daiichi. 48 muestras de concentraciones de Apo-B entre 50 y 200 mg/dL fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r) fue de 0,965 y la ecuación de la recta de regresión y = 0,996 x + 5,112.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

### BIBLIOGRAFÍA

- Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
- Mahley RW et al. J Lipids Res 1984; 25: 1277-1294.
- Brown MS et al. Science 1986; 232:34-47.
- Freedman DS et al. N Eng J Med 1986; 315: 721-726.
- Sakurabayashi I et al. Clinica Chimica Acta 2001; 312: 87-95.
- Young DS. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

### PRESENTACIÓN

Ref.: MD1103013	Cont.	R1.Diluyente: 2 x 40 mL
		R2.Anticuerpo: 1 x 20 mL

**Détermination quantitative de l'apolipoprotéine B (APO B) IVD**

Conserver à 2 - 8°C.

**PRINCIPE DE LA MÉTHODE<sup>1</sup>**

Essai turbidimétrique pour la quantification d'apolipoprotéine B en sérum ou plasma humain.

Les anticorps anti-Apo B forment des composés insolubles quand ils sont associés avec les Apo B de l'échantillon du patient, occasionnant un changement d'absorption proportionnel à la concentration d'Apo B dans l'échantillon, et qui peut être quantifiée par comparaison avec un calibre d'Apo B de concentration connue.

**SIGNIFICATION CLINIQUE<sup>1</sup>**

L'Apo B est la principale apolipoprotéine structurelle associée aux lipoprotéines de VLDL (Very Low Density Lipids), LDL (Low Density Lipides) et chylomicrons. Sa principale fonction est la sécrétion de lipoprotéines riches en triglycérides depuis l'intestin et le foie vers d'autres tissus. L'Apo B existe sous deux formes distinctes. Apo B-100 composant majoritaire de la LDL synthétisée dans le foie et excrétée dans le plasma comme partie de VLDL et l'Apo B-48, composant majoritaire des chylomicrons et synthétisée dans l'intestin.

Diverses études montrent que des individus avec une maladie coronaire (CHD) subissent des changements dans les concentrations d'Apo A-I et Apo B, semblables aux changements de concentration de HDL et LDL. En outre, la concentration d'Apo A-I et Apo B sont de meilleurs indicateurs que la concentration LDL et HDL cholestérol.

Dans l'hyperbétalipoprotéinémie, la concentration de LDL cholestérol est normale ou légèrement basse, tandis que la concentration d'Apo B-100 est nettement élevée. Le rapport de LDL cholestérol et l'Apo B-100 diminue chez ces patients.

Les défauts dans la structure d'Apo B ou les lipoprotéines qui contiennent de l'Apo B empêchent la sécrétion des lipoprotéines intestinales et hépatiques riches en triglycérides. Cette dyslipoprotéinémie se nomme abétalipoprotéinémie ou hypobétalipoprotéinémie homozygotique.

**RÉACTIFS**

<b>Diluant (R1)</b>	Tampon tris 20 mmol/L, PEG pH 8,3. Conservateur.
<b>Anticorps (R2)</b>	IgG de chèvre, anti-Apo B humaine, tris 50 mmol/L, pH 7,5. Conservateur.
<b>En option :</b>	APO CAL réf : 93005

**ÉTALONNAGE**

La sensibilité des réactifs ainsi que la valeur de concentration du calibre sont standardisées face au Matériel de référence certifié WHO/IFCC SP3-07 (CDC, USA). Il est recommandé d'utiliser le calibre APO CAL pour l'étalonnage.

**PRÉPARATION**

Réactifs : Prêt à l'usage.

**CONSERVATION ET STABILITÉ**

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date d'expiration quand les flacons sont gardés bien fermés à 2-8°C, et que la contamination est évitée au cours de leur utilisation. Ne pas utiliser de réactifs qui ont dépassé la date d'expiration.

**Indicateurs de détérioration :** La présence de particules et de turbidité.

Ne pas congeler, la congélation de l'anticorps ou du diluant peut affecter leur fonctionnalité.

**MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE**

- Auto-analyseur SPIN640 / SPIN640Plus
- Equipement classique de laboratoire.

**ÉCHANTILLONS**

Sérum ou plasma frais, recueilli avec héparine ou EDTA comme anticoagulants. Stable 2 semaines à 2-8°C ou 3 mois à -20°C.

Les échantillons avec des restes de fibrine doivent être centrifugés.

Ne pas utiliser d'échantillons fortement hémolysés ou lypémiques.

**VALEURS DE RÉFÉRENCE<sup>5</sup>**

Entre 69 - 105 mg/dL.

Il est conseillé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs de référence.

**CONTRÔLE DE QUALITÉ**

Il est conseillé d'utiliser des sérums de contrôle pour contrôler les essais aussi bien en procédure manuel qu'automatique. Spinreact dispose du Sérum APO Contrôle Réf : 93006.

Chaque laboratoire devrait établir son propre Contrôle de qualité et établir des corrections dans le cas où les contrôles ne sont pas conformes aux tolérances exigées.

**REMARQUES**

Le diagnostic clinique ne doit pas être réalisé uniquement avec les résultats d'un seul essai, il faut considérer en même temps les données cliniques du patient.

**POUR TRAVAILLER AVEC CODES A BARRES, IL FAUT CHARGER LA BASE DE DONNEES QUE VOUS DEVEZ SOLLICITER PREALABLEMENT A SPINREACT.**
**APPLICATION AU SPIN640**

TEST INFORMATION		REAGENT VOLUME		
N°	**	Vol. R1	240	
Test	ApoB	Vol. R2	60	
Full Name	ApolipoproteinB	Vol. R3		
Standard n°	6	Vol. R4		
SAMPLE VOLUME		RESULT SETUP		
Vol. Sample Stand.	2	Decimal	1 Slope 1	
Vol. Sample Increas.		Unit	mg/dL Inter. 0	
Vol. Sample Dec				
REACTION PARAMETERS				
Reac. Type	End Point	Direction	Increase	
Pri. Wave.	340	Reagent Blank	40-41	
Sec. Wave.		React. Time	75-76	
CALIBRATION DILUTION (5 CAL + 1 WATER BLANK)				
CALIBRATION TYPE: SPLINE				
N° CAL DIL	CONCENTRATION	SAMPLE DIL	VOL DIL	VOL SAMPLE
0	CAL *0.1	10.0	90.0	2.0
1	CAL *0.25	30.0	90.0	2.0
2	CAL *0.4971	30.0	90.0	4.0
3	CAL *0.7412	30.0	90.0	6.0
4	CAL	0.0	0.0	2.0

**APPLICATION AU SPIN640Plus**

EDIT PARAMETERS			
Test	APO B	No.	**
Full name	APO B	Print name	APO B
Reac. Type	End Point	Direction	Increase
Pri. Wave.	340	Sec. Wave.	
Unit	mg/dL	Decimal	0.1
Reagent Blank	46 - 47	React. Time	81 - 82
Vol. Sample	2.1 ul	R1	240 ul
Increased		R2	60 ul
Decreased		R3	
Sample blank		R4	
CALIBRATION			
Spline	Water	0	
Calibrator	*0.1	2.1	13 115
Calibrator	*0.25	2.1	35 105
Calibrator	*0.489	4.2	35 105
Calibrator	*0.735	6.3	35 105
Calibrator	(*)Cal Value	2.1	-- --

*The L'étalonnage est stable jusqu'à 27 jours. Passé ce délai, doit étalonner de nouveau pour obtenir de bons résultats.*

**CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE**
**1. Plage de mesure :** jusqu'à 250 mg/dL dans les conditions décrites de l'essai.

Les échantillons avec des valeurs supérieures doivent être dilués 1/5 avec NaCl 9 g/L et testés à nouveau. L'intervalle de mesure dépend du rapport échantillon/réactif. En réduisant le volume d'échantillon, on augmente la limite supérieure de l'intervalle de mesure, même si la sensibilité est réduite.

**2. Limites de détection :** les valeurs en dessous de 1,91 mg/dL entraînent des résultats peu reproductibles.

**3. Précision :** Le réactif a été testé pendant 20 jours avec trois niveaux de sérum différents dans une étude basée sur les normes EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	23,92 mg/dL	59,08 mg/dL	119,07 mg/dL
Total	7,4%	4,3%	3,6%
Pendant l'exécution	2,0%	1,4%	1,0%
Entre l'exécution	3,7%	2,2%	1,8%
Entre jours	6,1%	3,4%	3,0%

**4. Précision :** Le comportement de cette méthode (y) a été comparé avec une méthode immunoturbidimétrique de Daiichi. 48 échantillons de concentrations d'Apo B entre 50 et 200 mg/dL ont été analysés avec les deux méthodes. Le coefficient de régression (r) a été de 0,965 et l'équation de la droite de régression  $y = 0,996x + 5,112$ .

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier selon l'analyseur utilisé.

**BIBLIOGRAPHIE**

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NWTietz 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.

**PRÉSENTATION**

Réf : MD1103013	Cont.	R1. Diluant : 2 x 40 mL
		R2. Anticorps : 1 x 20 mL

## Determinação quantitativa de Apolipoproteína B (APO B) IVD

Conservar a 2 – 8 °C.

### PRINCÍPIO DO MÉTODO<sup>1</sup>

Ensaio turbidimétrico para a quantificação de apolipoproteína B no soro ou plasma humano.

Os anticorpos anti-Apo B formam compostos insolúveis quando se combinam com as Apo B da amostra do doente, provocando uma alteração na absorvância proporcional à concentração de Apo B na amostra, e que pode ser quantificada por comparação com um calibrador de Apo B de concentração conhecida.

### SIGNIFICADO CLÍNICO<sup>1</sup>

A Apo B é a principal apolipoproteína estrutural associada às lipoproteínas VLDL (Very Low Density Lipids), LDL (Low Density Lipids) e quilomicrons. A sua função principal é a secreção de lipoproteínas ricas em triglicérides desde o intestino e o fígado para outros tecidos. A Apo B existe em duas formas distintas: Apo B-100, componente maioritário da LDL, sintetizada no fígado e excretada no plasma como parte da VLDL, e a Apo B-48, componente maioritário dos quilomicrons e sintetizada no intestino.

Diversos estudos mostram que indivíduos com doença coronária (CHD) sofrem alterações nas concentrações de Apo A-I e Apo B, parecidas às alterações de concentração de HDL e LDL. Adicionalmente, a concentração de Apo A-I e Apo B são melhores indicadores que a concentração de LDL e HDL colesterol.

Na hiperbetalipoproteinemia, a concentração de LDL colesterol está normal ou ligeiramente baixa, enquanto que a concentração de Apo B-100 está significativamente elevada. A proporção da LDL colesterol e Apo B-100 diminui nestes doentes.

Os defeitos na estrutura da Apo B ou das lipoproteínas que contêm Apo B, impedem a secreção das lipoproteínas intestinais e hepáticas ricas em triglicérides. Esta dislipoproteinemia denomina-se abetalipoproteinemia ou hipobetalipoproteinemia homocigótica.

### REAGENTES

<b>Solvente (R1)</b>	Tris 20 mmol/L, PEG pH 8,3. Conservante.
<b>Anticorpo (R2)</b>	IgG de cabra, anti-Apo B humana, tris 50 mmol/L, pH 7,5. Conservante.
<b>Opcional:</b>	APO CAL ref: 93005

### CALIBRAÇÃO

A sensibilidade dos reagentes assim como o valor de concentração do calibrador estão padronizados comparativamente ao Material de Referência Certificado WHO/IFCC SP3-07 (CDC, USA). É recomendável utilizar o Calibrador APO CAL para a calibração.

### PREPARAÇÃO

**Reagentes:** Prontos a utilizar.

### CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até à data de validade indicada no rótulo do frasco quando os frascos são mantidos bem fechados a 2 - 8 °C e se evita a contaminação durante a sua utilização. Não utilizar reagentes que tenham excedido a data de validade indicada.

**Indicadores de degradação:** Presença de partículas e turvação.

Não congelar; a congelação do Anticorpo ou Solvente pode afetar a sua funcionalidade.

### MATERIAL ADICIONAL

- Autoanalisador SPIN640 / SPIN640Plus.
- Equipamento habitual de laboratório.

### AMOSTRAS

Soro ou plasma fresco, recolhido com heparina ou EDTA como anticoagulantes. Estável durante 2 semanas a 2 – 8 °C ou durante 3 meses a -20 °C.

As amostras com resíduos de fibrina devem ser centrifugadas.

Não utilizar amostras altamente hemolizadas ou lipémicas.

### VALORES DE REFERÊNCIA<sup>5</sup>

Entre 69 – 105 mg/dl.

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

### CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-se utilizar soros controlo para controlar os ensaios tanto em procedimento manual como em automático. A Spinreact dispõe do Soro APO Control Ref: 93006.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio esquema de Controlo de Qualidade e as ações corretivas no caso de os controlos não estarem de acordo com as tolerâncias exigidas.

### NOTAS

O diagnóstico clínico não deve realizar-se unicamente através dos resultados de um único ensaio, devendo considerar-se em simultâneo os dados clínicos do doente.

**PARA CARREGAR REAGENTES POR CODIGO DE BARRAS DEVE PRÉ-CARREGAR O "BANCO DE DADOS" DISPONÍVEL MEDIANTE ORDEM A SPINREACT.**

### APLICAÇÃO AO SPIN640

TEST INFORMATION		REAGENT VOLUME		
Nº	**	Vol. R1	240	
Test	ApoB	Vol. R2	60	
Full Name	ApolipoproteinB	Vol. R3		
Standard nº	6	Vol. R4		
SAMPLE VOLUME		RESULT SETUP		
Vol. Sample Stand.	2	Decimal	1 Slope 1	
Vol. Sample Increas.		Unit	mg/dL Inter. 0	
Vol. Sample Dec				
REACTION PARAMETERS				
Reac. Type	End Point	Direction	Increase	
Pri. Wave.	340	Reagent Blank	40-41	
Sec. Wave.		React. Time	75-76	
CALIBRATION DILUTION (5 CAL + 1 WATER BLANK)				
CALIBRATION TYPE: SPLINE				
Nº CAL DIL	CONCENTRATION	SAMPLE DIL	VOL DIL	VOL SAMPLE
0	CAL *0.1	10.0	90.0	2.0
1	CAL *0.25	30.0	90.0	2.0
2	CAL *0.4971	30.0	90.0	4.0
3	CAL *0.7412	30.0	90.0	6.0
4	CAL	0.0	0.0	2.0

### APLICAÇÃO AO SPIN640Plus

EDIT PARAMETERS			
Test	APO B	No.	**
Full name	APO B	Print name	APO B
Reac. Type	End Point	Direction	Increase
Pri. Wave.	340	Sec. Wave.	
Unit	mg/dL	Decimal	0.1
Reagent Blank	46 - 47	React. Time	81 - 82
Vol. Sample	2.1 ul	R1	240 ul
Increased		R2	60 ul
Decreased		R3	
Sample blank		R4	
CALIBRATION Spline Water 0			
Calibrator	*0.1	Vol aspirated	Vol net Vol dil
Calibrator	*0.25	2.1	13 115
Calibrator	*0.489	2.1	35 105
Calibrator	*0.735	4.2	35 105
Calibrator	(* )Cal Value	6.3	35 105
		2.1	-- --

A Calibração juntamente com o branco de reagente é estável até 27 dias.

Passado este período, é necessário solicitar novamente o branco do reagente para validar a calibração.

### CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

- Intervalo de medição:** até 250 mg/dL, nas condições descritas do ensaio. As amostras com valores superiores devem ser diluídas 1/5 com NaCl 9 g/L e serem ensaiadas novamente. O intervalo de medição depende da proporção amostra/reagente. Diminuindo o volume da amostra, aumenta-se o limite superior do intervalo de medição, embora se reduza a sensibilidade.
- Limite de deteção:** valores inferiores a 1,91 mg/dL originam resultados pouco reprodutíveis.
- Precisão:** o reagente foi testado durante 20 dias com três níveis diferentes de soro num estudo baseado nas normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	23,92 mg/dL	59,08 mg/dL	119,07 mg/dL
Total	7,4%	4,3%	3,6%
Within Run	2,0%	1,4%	1,0%
Between Run	3,7%	2,2%	1,8%
Between Day	6,1%	3,4%	3,0%

- Exatidão:** o comportamento deste método (y) foi comparado com um método imunoturbidimétrico de Daiichi. 48 39 amostras com concentrações de Apo-B entre 50 e 200 mg/dl foram analisadas com ambos métodos. O coeficiente de regressão (r) foi de 0,965 e a equação da reta de regressão  $y = 0.996 x + 5,112$ .

As características do método variam de acordo com o analisador utilizado.

### BIBLIOGRAFIA

- Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
- Mahley RW et al. J Lipids Res 1984; 25: 1277-1294.
- Brown MS et al. Science 1986; 232:34-47.
- Freedman DS et al. N Eng J Med 1986; 315: 721-726.
- Sakurabayashi I et al. Clinica Chimica Acta 2001; 312: 87-95.
- Young DS. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

### APRESENTAÇÃO

Ref.: MD1103013

Cont.

R1. Solvente: 2 x 40 mL

R2. Anticorpo: 1 x 20 mL