



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 SIGNIFICANCE¹

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

Diluent (R1)	Tris buffer 20 mmol/L, PEG, pH 8.3. Preservative.
Antibody (R2)	Goat serum, anti-human Apo B, tris 50 mmol/L, pH 7.5. Preservative.
Optional	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.

Calibration Curve: Prepare the following APO CAL Calibrator dilutions in NaCl 9 g/L as diluent. Multiply the concentration of the Apo B calibrator by the corresponding factor stated in table below to obtain the Apo B concentration of each dilution.

Calibrator dilution	1	2	3	4	5	6
Calibrator (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0.25	0.5	0.75	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.

Reagent deterioration: The presence of particles and turbidity.

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

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spintech 240 autoanalyzer
- Laboratory equipment.

REFERENCE VALUES⁵

Between 69 – 105 mg/dL.

Each laboratory should establish its own reference range.

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.

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.

SPINTECH 240 APPLICATION

Item Name APO B		CALIBRATION	
DATA INFORMATION		TYPE	Spline
Units	mg/dL		
Decimals	0		
ANALYSIS		STANDARD	
Type	END	#1 0.10 x Cal. Val.	#4 0.75 x Cal. Val.
		#2 0.25x Cal. Val.	#5 1.00 x Cal. Val.
		#3 0.50 x Cal. Val.	#6
W.Length 1	340	NORMAL RANGE (37°C)	
		LOW	HIGH
Method	Turbidimetry	SERUM	MALE
			FEMALE
SLOPE	INTER	URINE	
1.000 x +	0		
Item Name APO B		DATA PROCESS	
ASPIRATION		ABSORBANCE LIMIT	
KIND	Single <input type="checkbox"/> Double <input checked="" type="checkbox"/>	READ	LOW -3.000
		START	HIGH 3.000
		END	
	VOLUME**	MAIN	42 43
SAMPLE	2 µL	SUB	30 31
REAGENT 1	240 µL	ENDPOINT LIMIT 3	
REAGENT 2	60 µL	LINEAR CHECK (%)	
		FACTOR	
Third Mix	<input checked="" type="checkbox"/> OFF <input type="checkbox"/> ON	Blank Correction	1.000
R1 Blank	<input checked="" type="checkbox"/> Water <input type="checkbox"/> R1-B	PROZONE CHECK	
MONITOR		START END LIMIT (%)	
0 LEVEL POINT	1	FIRST	
SPAN	3.000	SECOND	<input checked="" type="checkbox"/> Low High
		THIRD	<input checked="" type="checkbox"/> Low High

** Modify reagents and sample volumes according to the range accepted but keeping always the mentioned ratio.

INTERFERENCES

Hemoglobin (20 g/L), bilirubin (40 mg/dL), lipemia (5 g/L), and rheumatoid factor (800 UI/mL) do not interfere. Other substances may interfere ^{6,7}.

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.

NOTES

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

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.
- Freedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PACKAGING

Ref.: TK1103013

Cont.

R1. Diluent: 2 x 24 mL

R2. Antibody: 2 x 6 mL



Determinación cuantitativa de la Apolipoproteína B (APO B) IVD

Conservar a 2 - 8°C.

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 20 mmol/L, PEG pH 8.3. Conservante.
Anticuerpo (R2)	IgG de cabra, anti-Apo B humana, tris 50 mmol/L, pH 7.5. Conservante.
Opcional:	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.

Curva de Calibración: Preparar las siguientes diluciones del Calibrador APO CAL en NaCl 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución de Apo B, multiplicar la concentración de Apo B del calibrador por el factor correspondiente indicado en la tabla:

Dilución calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0.25	0.5	0.75	1.0

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 Spintech 240
- 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 REFERENCIA⁵

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.

APLICACIÓN AL SPINTECH 240

Item Name APO B		CALIBRATION	
DATA INFORMATION		TYPE	Spline
Units	mg/dL	STANDARD	
Decimals	0	#1	0.10 x Cal. Val.
ANALYSIS		#2	0.25 x Cal. Val.
Type	END	#3	0.50 x Cal. Val.
W.Length 1	340	#4	0.75 x Cal. Val.
Method		#5	1.00 x Cal. Val.
Turbidimetría		#6	
SLOPE		NORMAL RANGE (37°C)	
1.000 x +	0	LOW HIGH	
INTER		SERUM	MALE
0		FEMALE	
0		URINE	
Item Name APO B		DATA PROCESS	
ASPIRATION		ABSORBANCE LIMIT	
KIND	Single <input type="checkbox"/> Double <input checked="" type="checkbox"/>	READ	LOW -3.000
VOLUME**		START	END
SAMPLE	2 µL	MAIN	42 43
REAGENT 1	240 µL	SUB	30 31
REAGENT 2	60 µL	ENDPOINT LIMIT 3	
Third Mix <input checked="" type="checkbox"/> OFF <input type="checkbox"/> ON		LINEAR CHECK (%)	
R1 Blank <input checked="" type="checkbox"/> Water <input type="checkbox"/> R1-B		FACTOR	
MONITOR		Blank Correction 1.000	
O LEVEL POINT	1	PROZONE CHECK	
SPAN	3.000	START	END
		FIRST	LIMIT (%)
		SECOND	<input type="checkbox"/> Low <input type="checkbox"/> High
		THIRD	<input type="checkbox"/> Low <input type="checkbox"/> High

** Modificar los volúmenes de reactivos y muestra en función de los rangos aceptados, pero manteniendo siempre la ratio descrita anteriormente.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (40 mg/dL), hemoglobina (20 g/L), lípidos (5 g/L) y factor reumatoide (800 UI/mL) no interfieren. Otras sustancias pueden interferir⁶⁻⁷

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
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 $y = 0,996x + 5,112$.

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

- 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.: TK1103013	Cont.	R1. Diluyente: 2 x 24 mL
		R2. Anticuerpo: 2 x 6 mL

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

Conserver à 2 - 8°C.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE¹

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 CLINIQUE¹

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 coronarienne (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 abetalipoprotéinémie ou hypobetalipoprotéinémie homozygotique.

RÉACTIFS

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

Courbe d'étalonnage: Préparer les dilutions suivantes du Calibre Apo B dans NaCl 9 g/L. Pour la concentration de chaque dilution de Apo B, multiplier la concentration du calibre par le facteur correspondant indiqué dans le tableau:

Dilution calibre	1	2	3	4	5	6
Calibre (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Facteur	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

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 SPINTECH 240.
- 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 RÉFÉRENCE⁵

Entre 69 – 105 mg/dL.

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

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.

APPLICATION AU SPINTECH 240

Item Name APO B		CALIBRATION	
DATA INFORMATION		TYPE Spline	
Units	mg/dL		
Decimals	0		
ANALYSIS		STANDARD	
Type	END	#1 0.10 x Cal. Val.	#4 0.75 x Cal. Val.
		#2 0.25x Cal. Val.	#5 1.00 x Cal. Val.
		#3 0.50 x Cal. Val.	#6
W.Length 1	340	NORMAL RANGE (37°C)	
Method	Turbidimetry	LOW	HIGH
SLOPE	INTER	SERUM MALE	
1.000 x +	0	URINE FEMALE	
Item Name APO B		DATA PROCESS	
ASPIRATION		ABSORBANCE LIMIT	
KIND	Single <input type="checkbox"/> Double <input checked="" type="checkbox"/>	READ	LOW -3.000
		START END	HIGH 3.000
SAMPLE	2 µL	MAIN 42 43	
REAGENT 1	240 µL	SUB 30 31	
REAGENT 2	60 µL		ENDPOINT LIMIT 3
			LINEAR CHECK (%)
Third Mix	<input checked="" type="checkbox"/> OFF <input type="checkbox"/> ON	FACTOR	
R1 Blank	<input checked="" type="checkbox"/> Water <input type="checkbox"/> R1-B	Blank Correction 1.000	
MONITOR		PROZONE CHECK	
0 LEVEL POINT	1	START END LIMIT (%)	
SPAN	3.000	FIRST	<input checked="" type="checkbox"/> Low <input type="checkbox"/> High
		SECOND	<input checked="" type="checkbox"/> Low <input type="checkbox"/> High
		THIRD	

** Modifier les réactifs et les volumes d'échantillons selon la gamme acceptée mais en gardant toujours le ratio mentionné.

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.

CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

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

- 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 0,968 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

- 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.

PRÉSENTATION

Ref.: TK1103013	Cont.	R1. Diluant: 2 x 24 mL
		R2. Anticorp: 2 x 6 mL

Determinação quantitativa de Apolipoproteína B (APO B) IVD

Conservar a 2 – 8 °C.

PRINCÍPIO DO MÉTODO¹

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 CLÍNICO¹

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 homozigótica.

REAGENTES

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

Curva de Calibração: Preparar as seguintes soluções PROT CAL Calibrador em NaCl 9 g/L como diluente. Para as concentrações de cada diluição de Apo B, multiplicar a concentração de Apo B calibrador pelo factor correspondente indicado na tabela:

Diluição do calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

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.

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

Indicadores de degradação: Presença de partículas e turvação.

MATERIAL ADICIONAL

- Autoanalisador SPINTECH 240.
- 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 REFERÊNCIA⁵

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.

APLICAÇÃO AO SPINTECH 240

Item Name	APO B			
<u>DATA INFORMATION</u>			<u>CALIBRATION</u>	
Units	mg/dL		TYPE	Spline
Decimals	0			
<u>ANALYSIS</u>			STANDARD	
Type	END		#1	0.10 x Cal. Val. #4 0.75 x Cal. Val.
			#2	0.25x Cal. Val. #5 1.00 x Cal. Val.
W.Length 1	340		#3	0.50 x Cal. Val. #6
Method			<u>NORMAL RANGE (37°C)</u>	
	Turbidimetry			LOW HIGH
SLOPE			SERUM MALE FEMALE	
1.000 x +	INTER	0	URINE	
Item Name	APO B			
<u>ASPIRATION</u>			<u>DATA PROCESS</u>	
KIND	Single	<input checked="" type="checkbox"/> Double	<u>READ</u>	<u>ABSORBANCE LIMIT</u>
			START	END
			MAIN	42 43
			SUB	30 31
SAMPLE	2	µL	ENDPOINT LIMIT 3	
REAGENT 1	240	µL	LINEAR CHECK (%)	
REAGENT 2	60	µL		
Third Mix			<u>FACTOR</u>	
R1 Blank	<input checked="" type="checkbox"/> OFF	ON	Blank Correction	
	<input checked="" type="checkbox"/> Water	R1-B	1.000	
<u>MONITOR</u>			<u>PROZONE CHECK</u>	
0 LEVEL POINT	1		START	END
SPAN	3.000		LIMIT (%)	
			FIRST	<input checked="" type="checkbox"/> Low High
			SECOND	<input checked="" type="checkbox"/> Low High
			THIRD	<input checked="" type="checkbox"/> Low High

** Modifique os reagentes e os volumes da amostra de acordo com o intervalo aceite, mas mantendo sempre a proporção mencionada.

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 0,968 e a equação da reta de regressão $y = 0.996x + 5,112$.

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

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.

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 at 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.: TK1103013	Cont.	R1. Solvente: 2 x 24 mL
		R2. Anticorpo: 2 x 6 mL