

Apolipoprotein B (Apo B) Kit for use on SPAPLUS®

For *in-vitro* diagnostic use

Product code: NK086.S

The Binding Site Group Ltd, 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, U.K.
www.bindingsite.co.uk
Telephone : +44 (0)121 456 9500
Fax : +44 (0)121 456 9749
E-mail: info@bindingsite.co.uk

In Europe and the USA, SPAPLUS® is a registered trademark of The Binding Site Group Ltd, Birmingham, UK.

FDA (USA) Information
Analyte Name: Apolipoprotein B
Complexity Cat.: Moderate



1 INTENDED USE

For the quantitative *in vitro* determination of apolipoprotein B (Apo B) in serum and plasma. This product is suitable for use on the SPAPLUS analyser.

2 SUMMARY AND EXPLANATION

Lipids are synthesised in the intestine or liver but must be transported to tissues and organs. However this is not possible without hydrophilic adaptation. Lipids are therefore transported by a series of micellar structures. These structures consist of an outer monolayer of protein (an apolipoprotein) and polar lipids (phospholipids and unesterified cholesterol) plus an inner core of neutral lipids (triglycerides and cholesterol esters). The apolipoproteins interact with a series of enzymes and tissue receptors and are therefore responsible for further metabolism and catabolism of the micelle. The B apolipoproteins are the main form of protein found in low density lipoproteins (LDL). Two forms of Apo B are found in humans. The most common form is B-100 (or large B) which constitutes the Apo B found in lipoproteins synthesised in the liver. The other form is B-48 (or small B), thought to be synthesised in the intestinal wall. Apo B is the main cholesterol carrying protein in the blood and is the ligand concerned with the uptake of cholesterol into cells by the LDL – receptor pathway. Apo B shows atherogenic signs and is thus useful for the evaluation of coronary risk. Studies have shown that there is an inverse relationship between Apo A-1 and coronary artery disease and a direct relationship with Apo B such that patients with CAD have generally reduced levels of Apo A-1 and increased levels of Apo B.^{1,2,3,4}

3 PRINCIPLE

This method is based on the reaction of a sample containing human Apo B and specific antiserum to form an insoluble complex which can be measured turbidimetrically at 340 nm. By constructing a standard curve from the absorbances of standards the concentration of Apo B can be determined.

4 REAGENTS

- 4.1 **R1. Apolipoprotein B Reaction Buffer** Containing polyethylene glycol <4%, Tris/HCl buffer 15mmol/L, Sodium chloride 106mmol/L.
- 4.2 **R2. Apolipoprotein B Antiserum** Anti-human Apo B.
- 4.3 **Apolipoprotein B Controls** Supplied at 2 levels, Medium and High. Target values and ranges are supplied in the Quality Control certificate. Supplied lyophilised.
- 4.4 **Apolipoprotein B Calibrator** Calibration has been carried out and values have been assigned using an immunoturbidimetric method with reference material standardised against WHO/IFCC Reference Standard SP3-07. Supplied lyophilised.

5 CAUTION

For *in vitro* diagnostic use only. Do not pipette by mouth. Exercise the normal precautions required for handling laboratory reagents. All reagents contain sodium azide. Avoid ingestion or contact with skin or mucous membranes. In case of skin contact, flush affected area with copious amounts of water. In case of contact with eyes or if ingested, seek immediate medical attention. Sodium azide reacts with lead and copper plumbing, to form potentially explosive azides. When disposing of such reagents flush with large volumes of water to prevent azide build up. Exposed metal surfaces should be cleaned with 10% sodium hydroxide. Each human-based component in the kit has been found negative for the presence of HIV antibodies and hepatitis B surface antigen by FDA cleared methods. However, as no method can offer complete assurance, these reagents should be handled as if capable of transmitting infection. Health and Safety Data Sheets are available on request. Please dispose of all biological and chemical materials according to local guidelines. **The reagents must be used only for the purpose intended by suitably qualified laboratory personnel, under appropriate laboratory conditions.**

6 STORAGE AND STABILITY

- R1. Apolipoprotein B Reaction Buffer**
Supplied ready for use. Stable up to expiry date when stored at 2-8°C. The *Apolipoprotein B Reaction Buffer* may be stored, uncapped, on the analyser for up to 35 days, provided that the main power switch (located at the rear of the left hand panel) is left switched on.
- R2. Apolipoprotein B Antiserum**
Supplied ready for use. Stable up to expiry date when stored at 2-8°C. Invert several times before use, avoiding the formation of foam. The *Apolipoprotein B Reagent* may be stored, uncapped, on the analyser for up to 35 days, provided that the main power switch (located at the rear of the left hand panel) is left switched on.

Apolipoprotein B Controls

Unopened control are stable until the expiry date printed on the product label when stored between 2-8°C. Once reconstituted the components of the serum are stable for 7 days at 2-8°C, and 4 weeks at -20°C when frozen once.

Apolipoprotein B Calibrator

Unopened calibrator is stable until the expiry date printed on the product label when stored at 2-8°C. Once reconstituted Apolipoprotein B calibrators are stable for 7 days at 2-8°C, and 1 month at -20°C when frozen once.

7 SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

APO B is stable for 1 day at 15-25°C or 8 days at 2-8°C and can be frozen once and stored for 2 months at -15°C to -25°C^{10,11}.

8 METHODOLOGY

8.1 Materials provided

- 8.1.1 1 x 100 tests *Apolipoprotein B Antiserum SPAPLUS*.
- 8.1.2 1 x 100 tests *Apolipoprotein B Reaction Buffer SPAPLUS*.
- 8.1.3 2 x *Apolipoprotein B SPAPLUS Calibrator* (2 x 1.0mL calibrator lyophilised).
- 8.1.4 2 x 1.0mL *Apolipoprotein B SPAPLUS Medium Control*
- 8.1.5 2 x 1.0mL *Apolipoprotein B SPAPLUS High Control*

8.2 Materials required but not provided

- 8.2.1 Equipment for collection and preparation of test samples e.g. sample tubes, centrifuge etc.
- 8.2.2 A fully operational and equipped SPAPLUS analyser.
- 8.2.3 Current analyser operating instructions: SPAPLUS Reference Guide, Insert Code FIN012.
- 8.2.4 Sample Diluent (99: Dil 1). Binding Site Product Code: SN080.S.

8.3 Calibrator, Control and Antiserum preparation

- 8.3.1 The calibrator and controls are supplied in lyophilised form. Open the vial carefully, avoiding any loss of the material and reconstitute with 1.0mL of distilled water. Replace the rubber stopper, close the vial and leave to stand for 30 minutes before use. Ensure that all traces of dry material are dissolved by swirling gently. Note: The *Apolipoprotein B SPAPLUS Calibrator* vials are not suitable for use with the SPAPLUS Calibrator Rack Direct Load (IK530).

A standard series must be manually produced following reconstitution of the Apolipoprotein B Calibrator fluid.

Standard	Dilution	Standard/diluent volumes (µl)
# 5	1/9.4	500 µL neat Calibrator fluid (reconstituted) + 4200 µL sample diluent
# 4	1/18.8	500 µL of Standard #5 + 500 µL diluent
# 3	1/37.6	500 µL of Standard #4 + 500 µL diluent
# 2	1/75.2	500 µL of Standard #3 + 500 µL diluent
# 1	1/150.4	500 µL of Standard #2 + 500 µL diluent

- 8.3.2 Antiserum: Before loading the reagent, gently mix by inversion ensuring no foam or bubbles are generated or remain on the surface as these may interfere with reagent aspiration.

8.4 Test procedure

The user should be familiar with the operation of the SPAPLUS analyser before attempting to carry out the test procedures. The analyser should be prepared for use according to the manufacturer's instructions and the assay protocol entered as described below.

For full details of analyser operation refer to the SPAPLUS Reference Guide (FIN012) supplied with the analyser.

8.4.1 Test parameters

Assay parameters are entered into item number 51

Item Name 51 APOB		CALIBRATION	
DATA INFORMATION		Type	Spline 1 ▼
Units	mg/dL	Standard	Auto Fill
Decimals	2	1 #	4 #
ANALYSIS		2 #	5 #
Type	End ▼	3 #	6 #
Main W.Length 1	340 ▼	NORMAL RANGE	
Sub W.Length	700 ▼	MALE HIGH FEMALE HIGH	
Method		Serum	[] [] [] []
CORR.		Urine	[] [] [] []
Y =	SLOPE INTER	Plasma	[] [] [] []
	1 X + 0	CSF	[] [] [] []
		Dialysis	[] [] [] []
		Other	[] [] [] []
Page : 1	Print Hard Copy	Next Page	Save Return

Item Name 51 APOB		DATA PROCESS	
ASPIRATION		READ	ABSORBANCE LIMIT
KIND	o Single • Double	MAIN 50 51	LOW -3
SAMPLE	VOLUME	SUB 30 31	HIGH 3
REAGENT1 VOL	200 µL	FACTOR	Reaction Check
REAGENT2 VOL	40	Blank correction *	o ON • OFF
		ENDPOINT LIMIT 2	CHECK POINT
		LINEAR CHECK (%) 0	LOW -3
Third mix	• OFF o ON		HIGH 3
Blank	• Water - Blank	DILUTION	
		Diluent	• 99: Dil 1 o 100: Dil 2
		Pre Dilution Rate	20 ▼
		Auto Rerun Dilution Rate High	100 ▼
		Auto Rerun Dilution Rate Low	▼
MONITOR		PROZONE CHECK	
0 LEVEL SPAN 1		START END LIMIT (%) Min dOD [0]	
SPAN 3		FIRST [] [] [] []	
		SECOND [] [] [] []	o Low • High
		THIRD [] [] [] []	o Low • High
Page : 2	Print	Prev Page	Next Page Save Return

*Automatically calculated

Item Name 51 APOB	
Auto Rerun SW	
<input type="radio"/> On <input type="radio"/> Off <input type="radio"/> On <input type="radio"/> Off	
Auto Rerun Range (Result)	
<input type="radio"/> On <input type="radio"/> Off <input type="radio"/> On <input type="radio"/> Off <input type="radio"/> Lower <input type="radio"/> Higher	
Serum #	#
Urine #	#
Plasma #	#
CSF #	#
Dialysis #	#
Other #	#
Bottle Size (ml)	
24 Items	36 Items
Reagent1 60	Reagent 1 0
Reagent2 R1 21.0	Reagent2 R1 0
Reagent2 R2 5.0	Reagent2 R2 0
Page : 3	Print Prev Page Save Return

Item Name 51 APOB						
Out-of-Range Table						
	NEAT	Pre Dilution (*20)		Auto-rerun Dilution (*100)		
	ABOVE	BELOW	ABOVE	BELOW	ABOVE	BELOW
	Cal#1	Cal#2-Cal#6	Cal#1	Cal#2-Cal#6	Cal#1	Cal#2-Cal#6
Serum #	#	#	#	#	#	#
Urine #	#	#	#	#	#	#
Plasma #	#	#	#	#	#	#
CSF #	#	#	#	#	#	#
Dialysis #	#	#	#	#	#	#
Other #	#	#	#	#	#	#
Page : 4	Prev Page		Save	Return		

N.B. The calibrator (Standard #) values are found in the Quality Control certificate (SIN287.QC). Calibrator values on Page 1 should be entered in ascending order, i.e. the lowest value first. **IMPORTANT:** the analyser will only update the calibrator values providing the **Auto Fill** button is pressed after typing the value for calibrator 5 on Page: 1. The assay utilises an extrapolated calibration curve therefore the Auto Rerun Range (Result) (Page 3) and Out-of-Range (Page 4) tables must be manually updated using values supplied in the Quality Control certificate (SIN287.QC).

8.4.2 Control volumes

Transfer 150µL of control fluid into a sample cup and place onto the rack.

8.5 Measuring range

The range of this assay is approximately 11.2 - 184 mg/dL. In the event of a rerun, the upper limit of the assay range is increased to approximately 920 mg/dL. These values are dependent on the lot specific value of the calibrator in use.

SPAPLUS analyser dilution	Approximate measuring range (mg/dL)
1/20	11.2 - 184
1/100	56 - 920

9 QUALITY CONTROL

The controls provided should be included in all assay runs. The Apolipoprotein B concentration is stated on the accompanying Quality Control certificate (SIN287.QC). Sample results obtained should only be accepted if the control results are within ±20% of the concentration(s) stated.

10 LIMITATIONS

- 10.1 These kits are not suitable for the measurement of samples containing circulating immune complexes (CICs) or for lipaemic or haemolysed samples due to the unpredictable degree of non-specific scatter these sample types may generate. Unexpected results should be confirmed using an alternative assay method.
- 10.2 Customers are strongly advised to run all controls with every batch of samples being assayed. Should a control value be out of range against a stored curve, it is recommended that the control is re-assayed using the same calibration curve. If the control value is still out of range the curve should be recalibrated and the controls re-assayed. If control values are out of range against the new calibration curve check the instrument and parameters entered before repeating the assay. If problems persist, refer to the supplier.
- 10.3 Diagnosis cannot be made and treatment must not be initiated on the basis of apolipoprotein B measurements alone. Clinical history and other laboratory findings must also be taken into account.

11 EXPECTED VALUES

NORMAL RANGE⁵

63 - 114 mg/dL.

It is recommended that each laboratory establish its own reference range to reflect the age, sex, diet and geographical location of the population.

12 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

12.1 Precision

Apolipoprotein B precision summary						
	n	Mean (mg/dL)	Intra assay		Total precision	
			SD	CV %	SD	CV %
Serum 1	80	30.86	1.04	3.4%	2.22	7.2%
Serum 2	80	70.08	2.41	3.4%	3.26	4.7%
Serum 3	80	148.43	3.06	2.1%	4.17	2.8%

12.2 Comparison

This method (Y) was compared with another commercially available method (X) and the following linear regression equation obtained:

$$y = 1.05x - 7.15$$

and a correlation coefficient of $r = 0.990$

98 patient samples were analysed spanning the range 15.1 to 209.2 mg/dL.

12.3 Analytical sensitivity

The limit of Quantitation (LoQ), the limit of Detection (LoD) and the limit of Blank (LoB) were determined consistent with CLSI guidelines EP17-A2. LoQ is the smallest concentration that can be detected reliably. LoD is the smallest concentration that can be detected to determine the presence or absence of Apolipoprotein B. LoB is the highest concentration that is likely to be observed in a blank sample.

SPAPLUS

Apolipoprotein B concentration mg/dL	
Limit of Blank	2.08
Limit of Detection	3.81
Limit of Quantitation	9.00

12.4 Linearity

The method is linear up to an Apolipoprotein B concentration of 206.9 mg/dL.

This gave a regression plot of $y = 0.96x + 4.23$ $r = 0.998$ ($y =$ measured Apolipoprotein B concentration, $x =$ theoretical concentration).

12.5 Interference

The analytes below were tested up to the following levels and were found not to interfere:

- Triglyceride 2000 mg/dL
- Haemoglobin 1000 mg/dL
- Free Bilirubin 60 mg/dL
- Conjugated Bilirubin 60 mg/dL
- Intralipid 250 mg/dL

12.6 Antigen excess

Antigen excess effects are not noted until levels approach 3420 mg/dL.

13 BIBLIOGRAPHY

1. Bachorik, P.S., Kwiterovich, P.O. Clinica Chimica Acta 1988; 178: 1-34
2. Wang, X. L., Dudman, N.P.B. Clin. Chem. 1989; 35(10): 2082-2086
3. Wang, X. L., Dudman, N.P.B. Wilken, D.E.L., Clin Chem. 1989; 35 (6): 1000 - 1004.
4. Kukita H., Hiwada K., Kobubu T. Serum Apolipoprotein A-1, A-2 and B levels and their discriminative values in relatives of patients with coronary artery disease. Atheroscler 51: 261, 1984.
5. Provisional normal values recalculated on the basis of the CDC values C. Fruchart, J.-C. (1986), Ann. Biol. Clin. 44:116.
6. Adolphson, J.L., Albers J.J., Journal of Lipid Research 1989; 30: 599-806
7. Labour, C., Shepherd, J., Rosseneu, M. Clin. Chem. 1990; 36(4): 591-597
8. Marcynova, S.M, et al (1992), WHO/IFCC Meeting On Standardisation of Apolipoproteins, May 1992, Nice, France.
9. Albers, J.J, et al (1992) Clin Chem. 38:58.
10. Evans K, Mitcheson J, Laker M. Effect of Storage at 4°C and -20°C on Lipid, Lipoprotein, and Apolipoprotein Concentrations. Clin Chem 1995; 41: 392-396.
11. Use of anticoagulants in Diagnostic laboratory Investigations. WHO Publication. WHO/DIL/LAB 99.1/Rev. 2 Jan. 2002.

Apolipoprotein B (Apo B) Kit zur Verwendung auf dem SPAPLUS®

Zur *in-vitro* Diagnostik

Bestell-Nr.: NK086.S

In England hergestellt von:
The Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham B15 1QT, UK.
www.bindingsite.co.uk

Vertrieb in Deutschland, Österreich und der Schweiz durch:
The Binding Site GmbH, Robert-Bosch-Straße 2A,
D-68723 Schwetzingen, Deutschland
Telefon: +49 (0) 6202 92 62 0
Fax: +49 (0) 6202 92 62 222
e-mail: office@bindingsite.de

SPAPLUS® ist in Europa und USA ein eingetragenes Warenzeichen von The Binding Site Group Ltd., Birmingham, UK.



1 VERWENDUNGSZWECK

Dieser Kit dient der quantitativen Bestimmung von Apolipoprotein B (Apo B) in Serum und Plasma. Dieses Produkt ist für die Verwendung auf dem SPAPLUS Analyser vorgesehen.

2 EINFÜHRUNG

Lipide werden im Darm oder der Leber metabolisiert und, nachdem hydrophile Umwandlungen stattgefunden haben, durch eine Reihe von Mizellen-Strukturen zu Geweben und Organen transportiert. Diese Strukturen bestehen aus einem äußeren Monolayer aus Proteinen (einem Apolipoprotein) und polaren Lipiden (Phospholipide und nicht-verestertes Cholesterin) sowie einem inneren Kern aus neutralen Lipiden (Triglyceride und Cholesterinester). Die Apolipoproteine interagieren mit einer Reihe von Enzymen und Gewebsrezeptoren und sind so entscheidend für den weiteren Metabolismus und den Katabolismus der Mizelle. Die B Apolipoproteine stellen den Hauptteil des im Low Density Lipoprotein (LDL) gefundenen Proteins dar. Zwei Formen von Apo B treten beim Menschen auf, wobei B-100 (oder großes B) die häufigste Form ist. B100 entspricht Apo B, das in Lipoproteinen gefunden wird, die der Leber synthetisiert werden. Die andere Form ist B-48 (oder kleines B) von dem man annimmt, dass es in der Darmwand synthetisiert wird. Apo B ist das wichtigste Cholesterin-Transportprotein im Blut. Und ist der Ligand, der für die Aufnahme von Cholesterin in die Zellen über den LDL-Rezeptorweg, verantwortlich ist. Apo B gibt Hinweise auf eine Atherogenese und ist deshalb hilfreich bei der Bewertung des Risikos für Koronarerkrankung. Studien konnten ein umgekehrtes Verhältnis von Apo A-1 und koronaren Herzkrankheiten aufzeigen sowie eine direkte Beziehung zum Apo B, so dass Patienten mit koronaren Herzkrankungen generell verminderte Konzentrationen von Apo A-1 und erhöhte Konzentrationen von Apo B aufweisen^{1,2,3,4}.

3 METHODE

Diese Methode basiert auf der Reaktion einer humanes Apolipoprotein B enthaltenden Probe mit spezifischem Antiserum. Dabei entstehen unlösliche Komplexe, die turbidimetrisch bei 340 nm gemessen werden können. Durch das Erstellen einer Kalibrationskurve, basierend auf den Absorptionen von Standards, kann die Konzentration von Apo B bestimmt werden.

4 REAGENZIE

- 4.1 R1. Apolipoprotein B-Reaktionspuffer enthält Polyethylenglykol <4%, Tris/HCl Puffer 15mmol/L, Natriumchlorid 106mmol/L.
- 4.2 R2. Apolipoprotein B-Antiserum Anti-Human Apo B.
- 4.3 Apolipoprotein B-Kontrollen werden in 2 Konzentrationen: ‚Medium‘ und ‚High‘ geliefert. Zielwerte und Vertrauensbereiche sind auf dem Kalibrator-/Kontroll-datenblatt angegeben. Das Material liegt in lyophilisierter Form vor.
- 4.4 Apolipoprotein B-Kalibrator Die Kalibration wurde durchgeführt und die Werte anhand einer immuno-turbidimetrischen Methode ermittelt; standardisiert gegen den WHO/IFCC Referenzstandard SP3-07. Das Material liegt in lyophilisierter Form vor.

5 WARNUNGEN UND VORSICHTSMAßNAHMEN

Nur für die *in vitro* Diagnostik zu verwenden. Nicht mit dem Mund pipettieren. Führen Sie die üblichen Vorsichtsmaßnahmen aus, die für den Umgang mit Reagenzien im Labor erforderlich sind. Alle Reagenzien enthalten Natriumazid und müssen mit den entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen behandelt werden. Verschlucken sowie Kontakt mit Haut oder Schleimhäuten vermeiden. Nach Kontakt die betroffene Stelle mit viel Wasser abspülen. Im Fall von Augenkontakt oder Verschlucken sofort ärztlichen Rat einholen. Natriumazid kann mit Blei- oder Kupferrohren explosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung mit ausreichend der Menge Wasser nachspülen, um Azidablagerungen zu vermeiden. Exponierte Metalloberflächen sollten mit 10% Natriumhydroxid gereinigt werden. Jede Kit-Komponente humanen Ursprungs wurde untersucht und bezüglich Antikörper gegen HIV und Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HBsAG) als negativ befunden. Hierzu wurden von der FDA (USA) zugelassenen Methoden verwendet. Es gibt zur Zeit keine absolut sicheren Testmethoden zum Ausschluss dieser und anderer Infektionsträger. Sicherheitsdatenblätter sind auf Anfrage erhältlich. Alle biologischen und chemischen Materialien sollten entsprechend den lokalen Richtlinien entsorgt werden. **Das Reagenz sollte nur für den angegebenen Verwendungszweck und von entsprechend geschultem Laborpersonal durchgeführt werden. Die Einhaltung der Arbeitsanleitung bei allen Arbeitsschritten ist dringend notwendig.**

6 LAGERUNG UND STABILITÄT

R1. Apolipoprotein B-Reaktionspuffer

Puffer ist gebrauchsfertig und bei 2-8°C bis zum auf der Packung angegebenen Verfallsdatum haltbar. Der *Apolipoprotein B Reaktionspuffer* kann ohne Deckel bis zu 35 Tage im Gerät gelagert werden, vorausgesetzt der Hauptstromschalter (linke Seite hinten) wird nicht ausgeschaltet.

R2. Apolipoprotein B-Reagenz

Das Reagenz ist gebrauchsfertig und bei 2-8°C bis zum auf der Packung angegebenen Verfallsdatum haltbar. Vor Gebrauch mehrmals schwenken, dabei Schaumbildung vermeiden. Das *Apolipoprotein B Reagenz* kann ohne Deckel bis zu 35 Tage im Gerät gelagert werden, vorausgesetzt der Hauptstromschalter (linke Seite hinten) wird nicht ausgeschaltet.

Apolipoprotein B-Kontrollen

Die nicht-rekonstituierten Kontrollen sind haltbar bei 2-8°C bis zum auf jeder Flasche angegebenen individuellen Verfall. Gelöste Kontrollen sind bei 2-8°C 7 Tage stabil, bei -20°C, bei einmaligem Einfrieren, 4 Wochen.

Apolipoprotein B-Kalibrator

Der nicht-rekonstituierten Kalibrator ist haltbar bei 2-8°C bis zum auf jeder Flasche angegebenen individuellen Verfall. Der gelöste Kalibrator ist bei 2-8°C 7 Tage stabil, bei -20°C, bei einmaligem Einfrieren, einen Monat.

7 PROBENENTNAHME UND-VORBEREITUNG

Apo B ist bei 15-25°C einen Tag und bei 2-8°C 8 Tage stabil. Probe kann bei -15°C bis -25°C, bei einmaligem Einfrieren, bis zu zwei Monaten gelagert werden^{10,11}.

8 TESTDURCHFÜHRUNG

8.1 Gelieferte Materialien

- 8.1.1 1 x 100 tests *Apolipoprotein B Antiserum SPAPLUS* (Reagenz SPAPLUS)
- 8.1.2 1 x 100 tests *Apolipoprotein B Reaction Buffer SPAPLUS* (Reaktionspuffer SPAPLUS)
- 8.1.3 2 x *Apolipoprotein B SPAPLUS Calibrator* (2 x 1.0mL Kalibrator lyophilisiert).
- 8.1.4 2 x 1.0mL *Apolipoprotein B SPAPLUS Medium Control*
- 8.1.5 2 x 1.0mL *Apolipoprotein B SPAPLUS High Control*

8.2 Benötigte, nicht im Kit enthaltene Materialien

- 8.2.1 Laborausstattung zum Sammeln und Vorbereiten der Proben (Probenröhrchen, Zentrifugen etc.).
- 8.2.2 Einen vollausgestatteten und funktionsfähigen SPAPLUS Analyser..
- 8.2.3 Aktuelle Geräte-Bedienungsanleitung: SPAPLUS Bedienungsanleitung (FIN012).
- 8.2.4 Probendiluens (99: Dil 1), Binding Site Bestell-Nr.: SN080.S

8.3 Vorbereitung der Kalibratoren, Kontrollen und Reagenzien

- 8.3.1 Der Kalibrator und die Kontrollen werden in lyophilisierter Form geliefert. Öffnen Sie das Fläschchen vorsichtig unter Vermeidung jeglichen Verlusts des Lyophilisats und lösen Sie dieses mit 1,0ml destilliertem Wasser. Setzen Sie den Gummistopfen auf, verschließen das Fläschchen und lassen es 30 Minuten vor Gebrauch stehen. Das Fläschchen anschließend mischen und schwenken und dabei sicherstellen, dass das gesamte lyophilisierte Material gelöst wurde. Hinweis: Die Apolipoprotein B Kalibrator-Fläschchen (*Apolipoprotein B SPAPLUS Calibrator*) sind nicht zur Verwendung mit dem SPAPLUS Kalibrationsrack-Standard (IK530) geeignet.

Nach Rekonstitution des Apolipoprotein B-Kalibrators, muss manuell eine Standard-Verdünnungsreihe hergestellt werden.

Standard	Verdünnung	Kalibrator/Probendiluens-Volumen (µl)
# 5	1/9.4	500 µL Kalibrator (gelöst) + 4200 µL Probendiluens
# 4	1/18.8	500 µL Kalibrator #5 + 500 µL Probendiluens
# 3	1/37.6	500 µL Kalibrator #4 + 500 µL Probendiluens
# 2	1/75.2	500 µL Kalibrator #3 + 500 µL Probendiluens
# 1	1/150.4	500 µL Kalibrator #2 + 500 µL Probendiluens

- 8.3.2 Bevor das Reagenz im Gerät platziert wird, mehrmals schwenken, dabei Vermeiden, dass Schaum oder Bläschen gebildet werden oder auf der Oberfläche verbleiben, da dies das Ansaugen des Reagenz behindern kann.

8.4 Testdurchführung

Der Anwender sollte mit dem SPAPLUS vertraut sein, bevor der Test durchgeführt wird. Das Gerät, wie im Handbuch des Herstellers beschrieben, vorbereiten. Die Testparameter werden wie nachfolgend aufgeführt eingegeben.

Eine ausführliche Beschreibung entnehmen Sie der SPAPLUS Bedienungsanleitung (FIN012), die mit dem Gerät geliefert wird.

8.4.1 Testparameter

Die Eingabe der Assay Parameters erfolgt unter Item Nummer 51

Item Name 51 APOB			
DATA INFORMATION			
Units	mg/dL	CALIBRATION	
Decimals	2	Type Spline 1 ▾ Auto Fill	
ANALYSIS			
Type	End ▾	1 # 4 # 2 # 5 # 3 # 6 #	
Main W.Length 1	340 ▾	NORMAL RANGE	
Sub W.Length	700 ▾	MALE FEMALE	
Method		LOW HIGH LOW HIGH	
CORR.			
Y =	SLOPE INTER		
	1 X + 0		
Page : 1	Print	Hard Copy	Next Page Save Return

Item Name 51 APOB		
DATA PROCESS		
READ		
ASPIRATION	START END	ABSORBANCE LIMIT
KIND <input type="radio"/> Single <input checked="" type="radio"/> Double	MAIN 50 51	LOW -3
VOLUME	SUB 30 31	HIGH 3
SAMPLE	FACTOR	Reaction Check
REAGENT1 VOL 200 µL	Blank correction *	<input type="radio"/> ON <input checked="" type="radio"/> OFF
REAGENT2 VOL 40	ENDPOINT LIMIT 2	CHECK POINT
	LINEAR CHECK (%) 0	LOW -3
		HIGH 3
Third mix <input checked="" type="radio"/> OFF <input type="radio"/> ON	DILUTION	
Blank <input checked="" type="radio"/> Water - Blank	Diluent <input checked="" type="radio"/> 99: Dil 1 <input type="radio"/> 100: Dil 2	
	Pre Dilution Rate 20	
	Auto Rerun Dilution Rate High 100	
	Auto Rerun Dilution Rate Low	
MONITOR		
START END LIMIT (%) Min dOD [0]		
0 LEVEL SPAN 1	FIRST [] [] []	
SPAN 3	SECOND [] [] []	<input type="radio"/> Low <input checked="" type="radio"/> High

THIRD [] [] [] [] Low • High

Page : 2 Print Prev Page Next Page Save Return

*automatisch berechnet

Item Name 51 APOB

Auto Rerun SW

• On • Off • On • Off

Auto Rerun Range (Result)

• On • Off • On • Off

Lower Higher Lower Higher

Serum # #
Urine # #
Plasma # #
CSF # #
Dialysis # #
Other # #

Auto Rerun Condition (Absorbance)

Absorbance Range

Lower Higher • On • Off • On • Off

Prozone Range • On • Off

Bottle Size (ml)

24 Items 36 Items

Reagent1 60 Reagent 1 0
Reagent2 R1 21.0 Reagent2 R1 0
Reagent2 R2 5.0 Reagent2 R2 0

Page : 3 Print Prev Page Save Return

Item Name 51 APOB

Out-of-Range Table

	NEAT		Pre Dilution (*20)		Auto-rerun Dilution	
	ABOVE Cal#1	BELOW Cal#2-Cal#6	ABOVE Cal#1	BELOW Cal#2-Cal#6	ABOVE Cal#1	BELOW Cal#2-Cal#6
Serum	#	#	#	#	#	#
Urine	#	#	#	#	#	#
Plasma	#	#	#	#	#	#
CSF	#	#	#	#	#	#
Dialysis	#	#	#	#	#	#
Other	#	#	#	#	#	#

Page : 4 Print Prev Page Save Return

Hinweis. Die Kalibratorkonzentrationen (Standard #) sind auf dem Kalibrator/Kontroll-Datenblatt (SIN287.QC) angegeben. Die Kalibratorkonzentrationen auf Page 1 müssen in aufsteigender Reihenfolge angegeben werden, d.h. der niedrigste Wert zuerst. WICHTIG: Das Gerät wird die Kalibratorkonzentrationen erst aktualisieren, wenn die **Auto Fill** Taste gedrückt wurde, nachdem der 5. Kalibratorwert auf Page 1 eingegeben wurde. Da dieser Test mit einer extrapolierten Kurve arbeitet, müssen die „Auto Rerun Range (Result)“ (Page 3) und die „Out-of-Range-“ (Page 4) Tabellen manuell anhand der Werte, die im Kalibrator/Kontroll-Datenblatt (SIN287.QC) angegeben sind, aktualisiert werden.

8.4.3 Kontrollvolumina

Unter Verwendung eines SPA_{PLUS}-Probengefäßes, das auf dem Rack platziert wird, reichen 150µL Kontrollvolumen aus.

8.5 Messbereich

Der ungefähre Messbereich dieses Assays liegt bei 11,2 – 184 mg/dL. Im Falle einer Wiederholungsmessung erweitert sich die obere Grenze des Messbereichs auf 920 mg/dL. Diese Messbereiche sind abhängig von der jeweils eingesetzten Kalibrator-Charge.

SPA _{PLUS} Geräteverdünnung	Ungefährer Messbereich (mg/dL)
1/20	11,2 - 184
1/100	56 - 920

9 QUALITÄTSKONTROLLE

Die mitgelieferten Kontrollen sollten in allen Testläufen verwendet werden. Die Apolipoprotein B-Konzentration ist auf dem im Kit enthaltenen Kalibrator-/Kontroll-Datenblatt (SIN287.QC) angegeben. Gemessene Probenergebnisse sollten nur verwendet werden, wenn die Kontrollergebnisse sich innerhalb des ±20% Vertrauensbereichs befinden.

10 LIMITATIONS

- 10.1 Dieser Test ist nicht für die Bestimmung von lipämischen oder hämo-lytischen Proben, oder Proben, die zirkulierende Immunkomplexe (CIC) enthalten, geeignet, da diese Proben einen nicht vorher-sag-baren Anteil an unspezifischer Trübung erzeugen können. Un-ge-wöhnliche Ergebnisse sollten mit einer alter-nativen Methode überprüft werden.
- 10.2 Es wird dringend angeraten alle Kontrollen in jedem Testlauf mitzuführen. Liegt eine Kontrolle außerhalb des Vertrauensbereichs und wurde eine gespeicherte Kalibrationskurve verwendet, so wird empfohlen den Test neu zu kalibrieren. Liegt die Kontrolle auch nach der neuen Kalibration außerhalb des Vertrauensbereichs sollten das Gerät und die programmierten Testparameter überprüft werden. Lässt sich das Problem nicht lösen, wenden Sie sich bitte an Ihre Lieferfirma.
- 10.3 Die Diagnose und die Einleitung einer Therapie dürfen nicht aus-schließlich auf der Apolipoprotein B -Bestimmung basieren. Das klinische Bild und andere Labor-Befunde müssen ebenfalls berücksichtigt werden.

11 ERWARTETE WERTE

NORMALBEREICH⁵

63 - 114 mg/dL.

Es wird empfohlen, dass jedes Labor unter Berücksichtigung des Alters, Geschlecht, Ernährung und geographischer Lage der Bevölkerung, eigene Referenzbereiche ermittelt.

12 LEISTUNGSDATEN

12.1 Präzision

	n	Mittelwert (mg/dL)	Apolipoprotein B Präzisions - Zusammenfassung			
			Intra- Assay		Gesamt-Präzision	
			SD	VK%	SD	VK %
Serum 1	80	30.86	1.04	3.4%	2.22	7.2%
Serum 2	80	70.08	2.41	3.4%	3.26	4.7%
Serum 3	80	148.43	3.06	2.1%	4.17	2.8%

12.2 Methodenvergleich

Diese Methode (Y) wurde mit einer anderen kommerziell erhältlichen Methode (X) verglichen; dabei wurden folgende Passing & Bablok Regressionsgleichung und Korrelationskoeffizient ermittelt:

$$y = 1,05x - 7,15 \text{ und } r = 0,990 \text{ (lineare Regression)}$$

98 Patientenproben wurden in einem von 15,1 bis 209,2 mg/dL umfassenden Bereich gemessen.

12.3 Analytische Sensitivität

Die Bestimmungs-, Nachweis- und Leerwertgrenzen wurden einheitlich gemäß der CLSI Richtlinie EP17-A2 bestimmt. Die Bestimmungsgrenze ist die kleinste Konzentration, die zuverlässig bestimmt werden kann. Die Nachweisgrenze bezeichnet die kleinste Konzentration mit welcher der Apolipoprotein B gerade noch nachgewiesen werden kann. Die Leerwertgrenze ist die höchste Konzentration, die wahrscheinlich in der Leerwertprobe beobachtet werden kann.

SPA_{PLUS}

	Apolipoprotein B Konzentration mg/dL
Leerwertgrenze	2.08
Nachweisgrenze	3.81
Bestimmungsgrenze	9.00

12.4 Linearität

Die Methode ist bis zu einer Apolipoprotein B Konzentration von 206.9 mg/dL linear.

Folgende lineare Regressionsgleichung wurde ermittelt $y = 0,96x + 4,23$ $r = 0,998$ ($y =$ gemessene Apolipoprotein B Konzentration, $x =$ theoretische Konzentration).

12.5 Interferenzen

Folgende Analyte wurden bis zu den angegebenen Konzentrationen getestet und verursachten keine Interferenzen:

Triglyceride 2000 mg/dL
Hämoglobin 1000 mg/dL
Freies Bilirubin 60 mg/dL
Konjugiertes Bilirubin 60 mg/dL
Intralipid 250 mg/dL

12.6 Antigenüberschuss

Bis zu einer Konzentration von 3420 mg/dL wurden keine Antigenüberschuss-Effekte beobachtet.

13 REFERENZEN

- Bachorik, P.S., Kwiterovich, P.O. Clinica Chimica Acta 1988; 178: 1-34
- Wang, X.L., Dudman, N.P.B. Clin. Chem. 1989; 35(10): 2082-2086
- Wang, X. L., Dudman, N.P.B. Wiliken, D.E.L., Clin Chem. 1989; 35 (6): 1000 - 1004.
- Kukita H., Hiwada K., Kobubu T. Serum Apolipoprotein A-1, A-2 and B levels and their discriminative values in relatives of patients with coronary artery disease. Atheroscler 51: 261, 1984.
- Provisional normal values recalculated on the basis of the CDC values C. Fruchart, J-C. (1986), Ann. Biol. Clin. 44:116.
- Adolphson, J.L., Albers J.J., Journal of Lipid Research 1989; 30: 599-806
- Labour, C., Shepherd. J., Rosseneu, M. Clin. Chem. 1990; 36(4): 591-597
- Marcinova, S.M, et al (1992), WHO/IFCC Meeting On Standardisation of Apolipoproteins, May 1992, Nice, France.
- Albers, J.J, et al (1992) Clin Chem. 38:58.
- Evans K, Mitcheson J, Laker M. Effect of Storage at 4°C and -20°C on Lipid, Lipoprotein, and Apolipoprotein Concentrations. Clin Chem 1995; 41: 392-396.
- Use of anticoagulants in Diagnostic laboratory Investigations. WHO Publication. WHO/DIL/LAB 99.1/Rev. 2 Jan. 2002.

Coffret Apolipoprotéine B (Apo B) pour une utilisation sur SPAPLUS®

Pour un usage en diagnostic *in-vitro*

Référence : NK086.S

The Binding Site Group Ltd, 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, U.K.
www.bindingsite.co.uk

Distribués en France par la société :
The Binding Site France, 14 rue des Glairaux, CS 30026, 38522 Saint Egrève Cedex.
Téléphone : 04.38.02.19.19
Fax : 04.38.02.19.20
E-mail : info@bindingsite.fr

En Europe et aux USA, SPAPLUS® est une marque déposée de The Binding Site Group Ltd, Birmingham, RU.



1 INDICATIONS

Ce coffret est destiné à la quantification *in vitro* de l'Apolipoprotéine B (Apo B) du sérum et du plasma, en utilisant le turbidimètre SPAPLUS.

2 PRESENTATION GENERALE

Les lipides sont synthétisés dans l'intestin ou le foie mais sont transportés vers les tissus et les organes. Cependant, ceci n'est pas possible sans une adaptation hydrophile. Par conséquent, les lipides sont transportés par une série de structures micellaires. Ces structures consistent en une monocouche externe de protéine (une apolipoprotéine) et des lipides polaires (phospholipides et esters de cholestérol) plus un cœur interne de lipides neutres (triglycérides et esters de cholestérol). Les apolipoprotéines interagissent avec une série d'enzymes et de récepteurs tissulaires et sont par conséquent responsables du métabolisme et du catabolisme du micelle. Les apolipoprotéines B sont la forme principale de protéines des lipoprotéines de basse densité (LDL). Deux formes d'Apo B se rencontrent chez l'homme. La forme la plus commune est B-100 (ou B large) ce qui constitue l'Apo B trouvée dans les lipoprotéines synthétisés par le foie. L'autre forme est B-48 (ou petit B), synthétisée dans la paroi intestinale. L'Apo B est la principale protéine transportant le cholestérol dans le sang et elle est le ligand concerné dans l'assimilation du cholestérol dans les cellules par les LDL- récepteurs. L'Apo B montre des signes athérogéniques et par conséquent est utile pour l'évaluation du risque coronaire. Des études ont montré qu'il y a une relation inverse entre Apo A-1 et maladie coronaire et une relation directe avec Apo B. Des patients avec une maladie coronaire ont généralement des taux réduits d'Apo A-1 et des taux augmentés d'Apo B^{2,3,4}.

3 PRINCIPE

Cette méthode est basée sur la réaction d'un échantillon contenant de l'Apo B humaine et un antisérum spécifique pour former un complexe insoluble qui peut être mesuré en turbidimétrie à 340 nm. Par construction d'une courbe de calibration à partir des valeurs des standards, la concentration d'Apo B peut être déterminée.

4 REACTIFS

- 4.1 **Tampon de réaction R1 Apolipoprotéine B** Contient du polyéthylène glycol <4%, tampon Tris/HCl 15mmol/L, Chlorure de Sodium 106mmol/L.
- 4.2 **Antisérum R2 Apolipoprotéine B** Anti-Apo B humaine.
- 4.3 **Contrôles Apolipoprotéine B** fournis à 2 niveaux, Moyen et Haut. Les valeurs et les gammes cibles sont fournies dans le Certificat de Contrôle de Qualité. Fournis lyophilisés.
- 4.4 **Calibrateur Apolipoprotéine B** La calibration a été effectuée et les valeurs ont été déterminées utilisant une méthode immunoturbidimétrique avec le matériel de référence standardisé contre le standard de référence WHO/IFCC SP3-07. Fourni lyophilisé.

5 PRECAUTIONS

Pour le diagnostic *in vitro* uniquement. Ne pas pipeter à la bouche. Prendre les précautions d'usage nécessaire à l'utilisation de réactifs de laboratoire. Tous les réactifs contiennent de l'azide de sodium. Eviter l'ingestion ou le contact avec la peau ou les muqueuses. En cas de contact avec la peau, la partie exposée doit être lavée à grande eau. En cas de contact avec les yeux ou d'ingestion, contacter un médecin rapidement. L'azide de Sodium réagit avec le plomb ou le cuivre de la plomberie pour former des azides potentiellement explosifs. Lorsque l'on dispose de tels réactifs, rincer à l'eau abondante pour prévenir la formation d'azides. Les surfaces métalliques exposées doivent être nettoyées avec de l'hydroxide de sodium à 10%. Chaque composant d'origine humaine dans le kit est négatif pour la présence d'anticorps anti-VIH et pour l'antigène de surface de l'hépatite B par les méthodes de la FDA. Toutefois, étant donné qu'aucune méthode ne peut offrir une assurance totale, ces réactifs doivent être manipulés comme s'ils étaient potentiellement infectieux. Les fiches de données de sécurité sont disponibles à la demande. Veuillez utiliser les produits biologiques et chimiques selon le guide des bonnes pratiques locales. **Les réactifs doivent être utilisés uniquement pour le but indiqué par du personnel de laboratoire qualifié, dans les conditions appropriées du laboratoire.**

6 STOCKAGE ET STABILITE

- R1. Tampon de réaction Apolipoprotéine B**
Fourni prêt à l'emploi. Stable jusqu'à la date d'expiration lorsqu'il est stocké à 2-8°C. Le tampon de réaction Apolipoprotéine B peut être stocké, débouché, sur automate jusqu'à 35 jours à condition que l'interrupteur principal (localisé à l'arrière sur côté gauche du panneau) soit laissé sur ON.
- R2. Réactif Apolipoprotéine B**
Fourni prêt à l'emploi. Stable jusqu'à la date d'expiration lorsqu'il est stocké à 2-8°C. Retourner plusieurs fois avant l'utilisation en évitant la formation de mousse. Le réactif Apolipoprotéine B peut être stocké, débouché, sur l'automate jusqu'à 35 jours à condition que l'interrupteur principal (localisé à l'arrière sur côté gauche du panneau) soit laissé sur ON.

Contrôles Apolipoprotéine B

Les contrôles non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette du produit lorsqu'il est stocké entre 2-8°C. Une fois reconstitués, les composants du sérum sont stables 7 jours à 2-8°C, et 4 semaines à -20°C une fois congelés.

Calibrateur Apolipoprotéine B

Le calibrateur non ouvert est stable jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette du produit lorsqu'il est stocké entre 2-8°C.

Une fois reconstitué le calibrateur Apolipoprotéine B est stable pour 7 jours entre 2-8°C, et 1 mois à -20°C une fois congelé.

7 PRELEVEMENT ET PREPARATION DE L'ECHANTILLON

Apo B est stable pendant 1 jour à 15-25°C ou 8 jours à 2-8°C et peut être congelé une fois et stocké durant 2 mois à -15°C et -25°C.^{10,11}

8 METHODOLOGIE

8.1 Matériels fournis

- 8.1.1 1 x 100 tests Apolipoprotein B Antiserum SPAPLUS.
8.1.2 1 x 100 tests Apolipoprotein B Reaction Buffer SPAPLUS.
8.1.3 2 x Apolipoprotein B SPAPLUS Calibrator (2 x 1.0mL calibrateur lyophilisé).
8.1.4 2 x 1.0mL Apolipoprotein B SPAPLUS Medium Control
8.1.5 2 x 1.0mL Apolipoprotein B SPAPLUS High Control

8.2 Matériels requis mais non fournis

- 8.2.1 Matériel nécessaire au prélèvement et à la préparation des échantillons : tubes, centrifugeuse, etc.
8.2.2 Un automate SPAPLUS opérationnel et équipé.
8.2.3 Instructions de fonctionnement à jour de l'automate : SPAPLUS Guide de référence (référence FIN012).
8.2.4 Coffret de diluant échantillon 1 SPAPLUS (99 : Dil 1), Référence : SN080.S

8.3 Préparation de l'ensemble de Calibrateurs, des Contrôles et du Réactif

- 8.3.1 Le calibrateur et les contrôles sont fournis sous forme lyophilisée. Ouvrir le flacon avec précaution en évitant la perte de produit et le reconstituer avec 1.0mL d'eau distillée. Reboucher le flacon, et le laisser 30 minutes avant de l'utiliser. S'assurer que l'ensemble du produit sec soit bien dissout en faisant tourner doucement le flacon. Note : Le flacon Apo B (Apolipoprotein B SPAPLUS Calibrator) n'est pas adapté pour l'utilisation sur le rack calibrateur (IK530) du SPAPLUS.

Une série de standards doit être produite manuellement après la reconstitution du calibrateur Apolipoprotéine B.

Standard	Dilution	Volumes de standard et de diluant (µl)
# 5	1/9.4	500 µL de Calibrateur pur (reconstitué) + 4200 µL de diluant échantillon
# 4	1/18.8	500 µL de Standard #5 + 500 µL diluant
# 3	1/37.6	500 µL de Standard #4 + 500 µL diluant
# 2	1/75.2	500 µL de Standard #3 + 500 µL diluant
# 1	1/150.4	500 µL de Standard #2 + 500 µL diluant

- 8.3.2 Avant de charger le réactif, le mélanger doucement par inversion en s'assurant qu'aucune mousse ou bulle ne soit générée ou reste à la surface car cela pourrait interférer avec l'aspiration du réactif.

8.4 Procédure de test

L'utilisateur doit être familiarisé avec le maniement de l'automate SPAPLUS avant de lancer la procédure de test. L'appareil doit être préparé selon les recommandations du fabricant et le protocole doit être saisi de la façon suivante.

Pour plus de détails sur les opérations pour l'automate, se référer au guide de référence du SPAPLUS (FIN012) fourni avec la machine.

8.4.1 Paramètres de test

Les paramètres du test sont entrés sous le numéro d'item 51

Item Name 51 APOB		
DATA INFORMATION	CALIBRATION	
Units mg/dL	Type Spline 1 ▼	Auto Fill
Decimals 2	Standard	
	1 # 4 #	
ANALYSIS	2 # 5 #	
Type End ▼	3 # 6 #	
Main W.Length 1 340 ▼		
Sub W.Length 700 ▼		
	NORMAL RANGE	
Method	LOW HIGH MALE LOW HIGH FEMALE	
CORR.	Serum [] [] [] [] [] []	
	Urine [] [] [] [] [] []	
	Plasma [] [] [] [] [] []	
	CSF [] [] [] [] [] []	
	Dialysis [] [] [] [] [] []	
	Other [] [] [] [] [] []	
Y =	1 X + 0	
Page : 1	Print Hard Copy	Next Page Save Return

Item Name 51 APOB		
DATA PROCESS	READ	ABSORBANCE LIMIT
ASPIRATION	START END	
KIND ○ Single ● Double	MAIN 50 51	LOW -3
	SUB 30 31	HIGH 3
SAMPLE	VOLUME	
REAGENT1 VOL 200 µL		
REAGENT2 VOL 40 µL		
FACTOR	Reaction Check	
Blank correction *	○ ON ● OFF	
ENDPOINT LIMIT 2	CHECK POINT	
LINEAR CHECK (%) 0	LOW HIGH	-3 3
Third mix ● OFF ○ ON		
Blank ● Water - Blank		
	DILUTION	
Diluent	● 99: Dil 1 ○ 100: Dil 2	
Pre Dilution Rate 20		
Auto Rerun Dilution Rate High 100		
Auto Rerun Dilution Rate Low		
MONITOR	PROZONE CHECK	
0 LEVEL SPAN 1	START END LIMIT (%) Min dOD [0]	
SPAN 3	FIRST [] [] [] [] [] []	
	SECOND [] [] [] [] [] []	○ Low ● High
	THIRD [] [] [] [] [] []	○ Low ● High
Page : 2	Print	Prev Page Next Page Save Return

* Calculé automatiquement

Item Name 51 APOB

Auto Rerun SW
 On Off

Auto Rerun Range (Result)
 On Off

Lower Higher
 Lower Higher

Serum	#	#
Urine	#	#
Plasma	#	#
CSF	#	#
Dialysis	#	#
Other	#	#

Bottle Size (ml)

24 Items	36 Items
Reagent1 60	Reagent 1 0
Reagent2 R1 21.0	Reagent2 R1 0
Reagent2 R2 5.0	Reagent2 R2 0

Page : 3 Print Prev Page Save Return

Item Name 51 APOB

Out-of-Range Table

	NEAT		Pre Dilution (*20)		Auto-rerun Dilution (*100)	
	ABOVE Cal#1	BELOW Cal#2-Cal#6	ABOVE Cal#1	BELOW Cal#2-Cal#6	ABOVE Cal#1	BELOW Cal#2-Cal#6
Serum	#	#	#	#	#	#
Urine	#	#	#	#	#	#
Plasma	#	#	#	#	#	#
CSF	#	#	#	#	#	#
Dialysis	#	#	#	#	#	#
Other	#	#	#	#	#	#

Page : 4 Prev Page Save Return

N.B. Les valeurs des calibrateurs (Standard #) à entrer en Page : 1 se trouvent sur le Certificat de Contrôle Qualité (SIN287.QC) et doivent être saisies par ordre croissant, en commençant donc par la valeur la plus faible. **IMPORTANT** : L'automate ne mettra à jour les valeurs des calibrateurs que si le bouton **Auto Fill** est pressé après avoir entré la valeur du calibrateur 5 sur la Page : 1. Le test utilise une courbe de calibration extrapolée. Ainsi, les tables Auto Rerun Range (Résultat) (Page 3) et Out-of-Range (Page 4) doivent être mises à jour manuellement en utilisant les valeurs indiquées dans le Certificat de Contrôle Qualité (SIN287.QC).

8.4.2 Volumes des contrôles

Transférer 150µL de contrôle dans une cupule échantillon et la placer sur le portoir.

8.5 Gamme de mesure

La gamme de mesure de ce test est approximativement de 11.2 - 184 mg/dL. Dans l'éventualité d'une relance, la limite supérieure de la gamme de mesure du test est augmentée approximativement à 920 mg/dL. Ces valeurs sont spécifiques du lot de calibrateurs utilisés.

Dilution automate SPAPLUS	Gamme de mesure approximative (mg/dL)
1/20	11.2 - 184
1/100	56 - 920

9 CONTROLE QUALITE

Les contrôles fournis doivent être inclus dans chaque série. Les concentrations des contrôles Apo B sont indiquées sur le Certificat de Contrôle de Qualité (SIN287.QC). Les résultats obtenus pour les échantillons ne doivent être acceptés que si les résultats des contrôles de la série sont dans une gamme de ± 20% par rapport aux valeurs cibles.

10 LIMITES

- 10.1 Ce coffret n'est pas approprié pour le dosage des échantillons contenant des complexes immuns circulants (CICs), ou des échantillons lipidiques ou hémolysés, du fait du degré imprévisible de déviation non spécifique que ces échantillons peuvent générer. Des résultats inattendus doivent être confirmés en utilisant une méthode alternative.
- 10.2 Il est vivement conseillé aux utilisateurs de passer tous les contrôles avec chaque série d'échantillons à tester. Si la valeur d'un contrôle est en dehors des limites acceptables en utilisant une courbe en mémoire, il est recommandé de repasser le contrôle en utilisant la même courbe de calibration. Si la valeur du contrôle est toujours en dehors des limites acceptables, établir une nouvelle calibration et repasser les contrôles. Si après cette calibration, les valeurs des contrôles sont toujours en dehors des limites, l'appareil et les paramètres du protocole doivent être vérifiés et le test répété. Si les problèmes persistent, contacter le fournisseur.
- 10.3 Le diagnostic ne peut être fait, et le traitement ne peut être initié, uniquement sur les mesures de Apo B. L'historique clinique et les autres résultats de laboratoire doivent être pris en compte.

11 VALEURS ATTENDUES

GAMME NORMALE⁵

63 - 114 mg/dL.

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres normes qui reflètent l'âge, le sexe, le régime alimentaire et la localisation géographique de la population.

12 PERFORMANCES

12.1 Précision

Résumé des précisions Apo B						
	n	Moyenne (mg/dL)	Intra-essais		Totale	
			Ecart-type	CV %	Ecart-type	CV %
Sérum 1	80	30.86	1.04	3.4%	2.22	7.2%
Sérum 2	80	70.08	2.41	3.4%	3.26	4.7%
Sérum 3	80	148.43	3.06	2.1%	4.17	2.8%

12.2 Comparaison

Cette méthode (Y) a été comparée à une méthode commerciale alternative (X) et l'équation de Passing & Bablok suivante a été obtenue :

$$y = 1.05x - 7.15$$

et un coefficient de corrélation $r = 0.990$

98 échantillons ont été testés, couvrant la gamme 15.1 à 209.2 mg/dL.

12.3 Sensibilité analytique

La limite de Quantification (LoQ), la limite de Détection (LoD) et la limite du Blanc (LoB) ont été déterminées conformément aux instructions CLSI EP17-A2. LoQ est la plus petite concentration qui peut être détectée de façon fiable. LoD est la plus petite concentration qui peut être détectée pour déterminer la présence ou l'absence d'Apolipoprotéine B. LoB est la plus haute concentration qui est supposée être observée dans un échantillon de blanc.

SPAPLUS

	Concentration en Apo B en mg/dL
Limite du blanc	2.08
Limite de détection	3.81
Limite de quantification	9.00

12.4 Linéarité

La linéarité de cette méthode a été testée jusqu'à une concentration en Apolipoprotéine B de 206.9 mg/dL, donnant l'équation de régression linéaire suivante : $y = 0.96x + 4.23$ avec $r = 0.998$ ($y =$ concentration en Apolipoprotéine B mesurée, $x =$ concentration théorique).

12.5 Interférence

Aucune interférence significative n'a été observée avec les concentrations suivantes d'analytes :

- 2 000 mg/dL de triglycérides
- 1 000 mg/dL d'hémoglobine
- 60 mg/dL de bilirubine libre
- 60 mg/dL de bilirubine conjuguée
- 250 mg/dL de lipides

12.6 Excès d'antigène

Aucun excès d'antigène n'a été observé jusqu'à une concentration d'approximativement 3420 mg/dL.

13 BIBLIOGRAPHIE

- Bachorik, P.S., Kwiterovich, P.O. Clinica Chimica Acta 1988; 178: 1-34
- Wang, X.L., Dudman, N.P.B. Clin. Chem. 1989; 35(10): 2082-2086
- Wang, X. L., Dudman, N.P.B. Wiliken, D.E.L., Clin Chem. 1989; 35 (6): 1000 - 1004.
- Kukita H., Hiwada K., Kobubu T. Serum Apolipoprotein A-1, A-2 and B levels and their discriminative values in relatives of patients with coronary artery disease. Atheroscler 51: 261, 1984.
- Provisional normal values recalculated on the basis of the CDC values C. Fruchart, J.-C. (1986), Ann. Biol. Clin. 44:116.
- Adolphson, J.L., Albers J.J., Journal of Lipid Research 1989; 30: 599-806
- Labour, C., Shepherd, J., Rosseneu, M. Clin. Chem. 1990; 36(4): 591-597
- Marcinova, S.M, et al (1992), WHO/FCC Meeting On Standardisation of Apolipoproteins, May 1992, Nice, France.
- Albers, J.J, et al (1992) Clin Chem. 38:58.
- Evans K, Mitcheson J, Laker M. Effect of Storage at 4°C and -20°C on Lipid, Lipoprotein, and Apolipoprotein Concentrations. Clin Chem 1995; 41: 392-396.
- Use of anticoagulants in Diagnostic laboratory Investigations. WHO Publication. WHO/DIL/LAB 99.1/Rev. 2

Kit Apolipoproteína B (Apo B) para uso en SPAPLUS®

Para uso diagnóstico *in-vitro*

Código de Producto: NK086.S

The Binding Site Group Ltd, 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, U.K.
www.bindingsite.co.uk

The Binding Site Group Limited Sucursal en España
Bruc 72 2ª planta, 08009 Barcelona
Teléfono 902027750
Fax: 902027752
e-mail: info@bindingsite.es
web: www.bindingsite.es

En Europa y en los Estados Unidos, SPAPLUS® es una marca registrada de The Binding Site Group Ltd, Birmingham, UK.



1 APLICACIÓN

Para la determinación cuantitativa *in vitro* de apolipoproteína B (Apo B) en suero y plasma. Este producto está diseñado para uso en el analizador SPAPLUS.

2 RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Los lípidos se metabolizan en el intestino o el hígado, y son transportados a los tejidos y órganos tras la adaptación hidrofílica por una serie de estructuras micelares. Estas estructuras consisten en una monocapa exterior de proteína (una apolipoproteína) y lípidos polares (fosfolípidos y colesterol no esterificado) más un núcleo interior de lípidos neutros (triglicéridos y ésteres de colesterol). Las apolipoproteínas interactúan con una serie de enzimas y receptores de tejido, y por lo tanto se encargan del metabolismo y catabolismo del sistema micelar. Las apolipoproteínas B son la forma principal de proteína que se encuentra en las lipoproteínas de baja densidad (LDL). En humanos se encuentran dos formas de Apo B. La forma más común es B-100 (o B grande) que constituye la Apo B que se encuentra en las lipoproteínas sintetizadas en el hígado. La otra forma es B-48 (o B pequeña), que se cree que se sintetiza en la pared intestinal. Apo B es la principal proteína transportadora de colesterol en la sangre y es el ligando involucrado en la asimilación de colesterol en las células por la vía de recepción LDL. Apo B muestra señales aterogénicas y por eso es útil para la evaluación del riesgo coronario.

Varios estudios indican que existe una relación inversa entre Apo A-1 y las arteriopatías coronarias y una relación directa con Apo B ya que estos pacientes presentan por lo general niveles reducidos de Apo A-1 y niveles aumentados de Apo B.^{1,2,3,4}

3 PRINCIPIO

Este método se basa en la reacción de una muestra que contiene Apo B humana con un antisuero específico, tras la cual se forma un complejo insoluble que se puede medir por turbidimetría a 340nm. Se puede determinar la concentración de Apo B construyendo una curva estándar a partir de la absorbancia de los calibradores.

4 REACTIVOS

- 4.1 **R1. Buffer de reacción apolipoproteína B** Contiene polietilenglicol <4%, buffer Tris/HCl 15mmol/L, cloruro sódico 106mmol/L.
- 4.2 **R2. Antisuero apolipoproteína B Anti- Apo B humana.**
- 4.3 **Controles apolipoproteína B** Suministrados en 2 niveles, medio y alto. Los rangos y valores diana se especifican en el certificado de control de calidad que acompaña al kit. Se suministran liofilizados.
- 4.4 **Calibrador apolipoproteína B** Se ha llevado a cabo la calibración y se han asignado los valores usando un método inmunoturbidimétrico estandarizado según la preparación internacional de referencia SP3-07 de la OMS/IFCC. Se suministra liofilizado.

5 PRECAUCIONES

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*. No pipetee con la boca. Tome las precauciones habituales requeridas para la manipulación de reactivos de laboratorio. Todos los reactivos contienen azida sódica. No trague ni permita el contacto con la piel o las mucosas. En caso de contacto con la piel, lave la zona afectada con abundante agua. En caso de contacto con los ojos o ingestión, busque asistencia médica inmediatamente. Con el plomo y el cobre pueden formarse azidas metálicas explosivas. Cuando se elimine el reactivo, lave con mucha agua los recipientes para evitar la acumulación de azida. Las superficies metálicas expuestas se deben limpiar con hidróxido de sodio al 10%. Los componentes de origen humano del kit han resultado negativos a la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B y a la presencia de los anticuerpos del VIH mediante técnicas aprobadas por la FDA. Sin embargo, dado que ningún método da total seguridad, deben tratarse los reactivos como potencialmente infecciosos. Las hojas de datos de seguridad del material están a su disposición bajo petición. Elimine los residuos de materiales biológicos y químicos de acuerdo a las directrices locales. **Los reactivos sólo deben utilizarse por personal especializado con el objetivo descrito, en un laboratorio en condiciones apropiadas.**

6 ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

R1. Buffer de reacción apolipoproteína B
Listo para usar. Estable hasta la fecha de caducidad si se conserva a 2-8°C. El *Buffer de reacción apolipoproteína B* se puede conservar, sin proteger, hasta 35 días en el analizador, siempre y cuando se deje encendido el interruptor de alimentación (situado en la parte posterior del panel izquierdo).

R2. Antisuero apolipoproteína B
Listo para usar. Estable hasta la fecha de caducidad si se conserva a 2-8°C. Invertir varias veces antes de usar evitando la formación de espuma. El *Reactivo apolipoproteína B* se puede conservar, sin proteger, hasta 35 días en el analizador, siempre y cuando se deje encendido el interruptor de alimentación (situado en la parte posterior del panel izquierdo).

Controles apolipoproteína B

Los controles sin abrir son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta si se conservan a 2-8°C. Una vez reconstituidos, los componentes del suero son estables durante 7 días a 2-8°C, y 4 semanas a -20°C si sólo se congelan una vez.

Calibrador apolipoproteína B

El calibrador sin abrir es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta si se conserva a 2-8°C. Una vez reconstituidos, los calibradores apolipoproteína B son estables durante 7 días a 2-8°C, y 1 mes a -20°C si sólo se congelan una vez.

7 OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Apo B es estable durante 1 día a 15-25°C u 8 días a 2-8°C y se puede congelar una única vez y conservar durante 2 meses entre -15°C y -25°C^{10,11}.

8 METODOLOGÍA

8.1 Material suministrado

- 8.1.1 1 x 100 tests *Apolipoprotein B Antiserum SPAPLUS*.
8.1.2 1 x 100 tests *Apolipoprotein B Reaction Buffer SPAPLUS*.
8.1.3 2 x *Apolipoprotein B SPAPLUS Calibrator* (2 x 1.0mL calibrador liofilizado).
8.1.4 2 x 1.0mL *Apolipoprotein B SPAPLUS Medium Control*
8.1.5 2 x 1.0mL *Apolipoprotein B SPAPLUS High Control*

8.2 Materiales necesarios no suministrados con el kit

- 8.2.1 Equipamiento de laboratorio para la recolección y preparación de muestras (probetas para las muestras, centrifuga, etc.).
8.2.2 Un analizador SPAPLUS completamente equipado.
8.2.3 Las instrucciones actuales de funcionamiento del analizador: Manual del usuario SPAPLUS, Código FIN012.
8.2.4 Diluyente de muestra (99: Dil 1) Código de Producto: SN080.S.

8.3 Preparación del conjunto de calibradores, controles y reactivos

- 8.3.1 El calibrador y los controles se suministran en forma liofilizada. Abra el vial con cuidado, evitando la pérdida del material, y reconstituya con 1,0mL de agua destilada. Vuelva a poner el tapón de goma al vial, ciérralo y déjelo reposar durante 30 minutos antes de usar. Haga girar el vial con cuidado para asegurar que se disuelvan las trazas de material seco. Nota: Los viales de calibrador Apo B (*Apolipoprotein B SPAPLUS Calibrator*) no son adecuados para uso con el rack de calibración de carga directa SPAPLUS (IK530).

Se debe producir manualmente una serie de estándares tras la reconstitución del calibrador apolipoproteína B.

Estándar	Dilución	Volúmenes de estándar/diluyente (µL)
# 5	1/9.4	500 µL calibrador neto (reconstituido) + 4200µL diluyente de muestra
# 4	1/18.8	500 µL de estándar #5 + 500 µL diluyente
# 3	1/37.6	500 µL de estándar #4 + 500 µL diluyente
# 2	1/75.2	500 µL de estándar #3 + 500 µL diluyente
# 1	1/150.4	500 µL de estándar #2 + 500 µL diluyente

- 8.3.2 Reactivo: Antes de cargar el reactivo, mezclar por inversión evitando que se formen espuma o burbujas o que se queden en la superficie ya que pueden interferir en la aspiración de los reactivos.

8.4 Procedimiento de la prueba

El usuario deberá estar familiarizado con el funcionamiento del equipo SPAPLUS antes de realizar la prueba. Preparar el equipo según el manual del fabricante y el protocolo de prueba introducido tal y como se describe a continuación.

Consulte información más detallada sobre el funcionamiento del analizador en el Manual del usuario SPAPLUS (FIN012) suministrado junto con el analizador.

8.4.1 Parámetros de la prueba

Los parámetros del ensayo están introducidos en el ítem número 51

Item Name 51 APOB		
DATA INFORMATION		
Units mg/dL	Type Spline 1 ▼	Auto Fill
Decimals 2	Standard	
	1 # 4 #	
	2 # 5 #	
	3 # 6 #	
ANALYSIS		
Type End ▼		
Main W.Length 1 340 ▼		
Sub W.Length 700 ▼		
NORMAL RANGE		
Method	LOW	HIGH
	MALE	FEMALE
	LOW	HIGH
CORR.		
SLOPE		
INTER		
Y = 1 X + 0		
Page : 1	Print	Hard Copy
	Next Page	Save
		Return

Item Name 51 APOB		
DATA PROCESS		
ASPIRATION		
KIND	Single	Double
VOLUME		
SAMPLE 12		
REAGENT1 VOL 200 µL		
REAGENT2 VOL 40		
FACTOR		
Blank correction *		
ENDPOINT LIMIT 2		
LINEAR CHECK (%) 0		
Reaction Check		
Blank	OFF	ON
Water - Blank		
DILUTION		
Diluent	99: Dil 1	100: Dil 2
Pre Dilution Rate	20	
Auto Rerun Dilution Rate High	100	
Auto Rerun Dilution Rate Low		
MONITOR		
0 LEVEL SPAN 1		
SPAN 3		
PROZONE CHECK		
START	END	LIMIT (%)
FIRST [] [] []		Min dOD [0]
SECOND [] [] []		Low High
THIRD [] [] []		Low High
Page : 2	Print	Prev Page
	Next Page	Save
		Return

* Calculado automáticamente

Item Name 51 APOB

Auto Rerun SW
 On Off

Auto Rerun Range (Result)
 On Off On Off

Lower Higher
 Serum # #
 Urine # #
 Plasma # #
 CSF # #
 Dialysis # #
 Other # #

Auto Rerun Condition (Absorbance)
Absorbance Range
 Lower On Off
 Higher On Off

Prozone Range On Off

Bottle Size (ml)
 24 Items 36 Items
 Reagent1 60 Reagent 1 0
 Reagent2 R1 21.0 Reagent2 R1 0
 Reagent2 R2 5.0 Reagent2 R2 0

Page : 3 Print Prev Page Save Return

Item Name 51 APOB

Out-of-Range Table

	NEAT		Pre Dilution (*20)		Auto-rerun Dilution(*100)	
	ABOVE Cal#1	BELOW Cal#2-Cal#6	ABOVE Cal#1	BELOW Cal#2-Cal#6	ABOVE Cal#1	BELOW Cal#2-Cal#6
Serum	#	#	#	#	#	#
Urine	#	#	#	#	#	#
Plasma	#	#	#	#	#	#
CSF	#	#	#	#	#	#
Dialysis	#	#	#	#	#	#
Other	#	#	#	#	#	#

Page : 4 Prev Page Save Return

N.B. Los valores de comprobación del calibrador (# Estándar) se encuentran en el certificado de control de calidad (SIN287.QC). Los valores del calibrador en **Page 1** se deben introducir en orden ascendente, el valor más bajo en primer lugar. **IMPORTANTE:** el analizador sólo actualizará los valores del calibrador siempre y cuando se pulse el botón **Auto Fill** tras introducir el valor del calibrador 5 en Page: 1. El ensayo utiliza una curva de calibración extrapolada, por lo tanto las tablas Auto Rerun Range (Result) (Page 3) y Out-of-Range (Page 4) se deben actualizar manualmente con los valores indicados en el certificado de control de calidad (SIN287.QC).

8.4.2 Volúmenes de control

Transfiera 150µL de fluido de control a una copa de muestras y colóquelo en el rack.

8.5 Rango de medición

El rango aproximado de medición de este ensayo es de 11,2 - 184 mg/dL. En caso de repetición, el límite superior del rango del ensayo se aumenta hasta aproximadamente 920 mg/dL.

Dilución del analizador SPAPLUS	Rango de medición aproximado (mg/dL)
1/20	11,2 - 184
1/100	56 - 920

9 CONTROL DE CALIDAD

Los controles suministrados se deben incluir en todas las ejecuciones del ensayo. La concentración de Apo B está indicada en el Certificado de calidad que acompaña al producto (SIN287.QC). Los resultados obtenidos sólo pueden aceptarse si los resultados de los controles entran dentro del ±20% de las concentraciones indicadas.

10 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- 10.1 Estos kits no son adecuados para la determinación de muestras altamente lipémicas o hemolíticas o muestras que contengan complejos inmunes circulantes (CICs) dado que estas muestras pueden producir una cantidad impredecible de luz dispersa no especificable. Los resultados previstos deberán verificarse con un método alternativo.
- 10.4 Se recomienda encarecidamente ensayar todos los controles con cada lote de muestras a ensayar. Si una medida de control queda fuera de rango cuando se ensaya con una curva de calibración guardada se recomienda volver a analizar el control con la misma curva. Si con la nueva curva los valores de control quedan aún fuera de rango, se debe revisar el instrumento y los parámetros introducidos antes de repetir el ensayo. Si los problemas continúan, contacte con su proveedor.
- 10.5 No debe realizarse el diagnóstico ni iniciarse un tratamiento basándose únicamente en la medida de Apo B, deben tenerse en cuenta también la historia clínica y resultados de otras pruebas de laboratorio

11 VALORES ESPERADOS

RANGO NORMAL⁵

63 - 114 mg/dL.

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia para reflejar la localización geográfica y la edad, sexo y dieta de la población.

12 CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

12.1 Precisión

Resumen de precisión Apo B						
	n	Media (mg/dL)	Intra ensayo		Precisión total	
			SD	CV %	SD	CV %
Suero 1	80	30.86	1.04	3.4%	2.22	7.2%
Suero 2	80	70.08	2.41	3.4%	3.26	4.7%
Suero 3	80	148.43	3.06	2.1%	4.17	2.8%

12.2 Estudio comparativo

Se comparó este método (Y) con otro método alternativo disponible en el mercado (X) y se obtuvo la siguiente regresión Passing & Bablok:

$$y = 1.05x - 7.15$$

$$r = 0.990$$

Se analizaron 98 muestras abarcando un rango de 15.1 a 209.2 mg/dL.

12.3 Sensibilidad analítica

El límite de la Cuantificación (LoQ), el límite de la Detección (LoD) y el límite del Blanco (LoB) fueron determinados de forma consistente con las recomendaciones de la CLSI EP17-A2. LoQ es la mínima concentración que puede ser detectada de manera fiable. LoD es la mínima concentración que puede ser detectada para determinar la presencia o ausencia de Apo B. LoB es la concentración más alta que es posible observar en una muestra de blanco.

SPAPLUS

	Concentración Apolipoprotein B mg/dL
Límite de Blanco	2.08
Límite de Detección	3.81
Límite de Cuantificación	9.00

12.4 Linealidad

Este método es lineal hasta una concentración de Apo B de 206.9 mg/dL.

Esto dio una curva de regresión de $y = 0.96x + 4.23$ $r = 0.998$ (y = concentración de Apo B, x = concentración teórica).

12.5 Sustancias interferentes

Se analizaron los siguientes analitos hasta los niveles que se indican sin que resultaran interferentes:

- 2000 mg/dL de triglicéridos
- 1000 mg/dL de hemoglobina
- 60 mg/dL de bilirrubina libre
- 60 mg/dL de bilirrubina conjugada
- 250 mg/dL de intralípido

12.6 Exceso de antígeno

Sin presencia de exceso de antígeno hasta niveles de cerca de 3420 mg/dL.

13 BIBLIOGRAFIA

- Bachorik, P.S., Kwiterovich, P.O. Clinica Química Acta 1988; 178: 1-34
- Wang, X.L., Dudman, N.P.B. Clin. Chem. 1989; 35(10): 2082-2086
- Wang, X. L., Dudman, N.P.B. Wilken, D.E.L., Clin Chem. 1989; 35 (6): 1000 - 1004.
- Kukita H., Hiwada K., Kobubu T. Serum Apolipoprotein A-1, A-2 and B levels and their discriminative values in relatives of patients with coronary artery disease. Atheroscler 51: 261, 1984.
- Provisional normal values recalculated on the basis of the CDC values C. Fruchart, J-C. (1986), Ann. Biol. Clin. 44:116.
- Adolphson, J.L., Albers J.J., Journal of Lipid Research 1989; 30: 599-806
- Labour, C., Shepherd, J., Rosseneu, M. Clin. Chem. 1990; 36(4): 591-597
- Marcinova, S.M, et al (1992), WHO/IFCC Meeting On Standardisation of Apolipoproteins, May 1992, Nice, France.
- Albers, J.J, et al (1992) Clin Chem. 38:58.
- Evans K, Mitcheson J, Laker M. Effect of Storage at 4°C and -20°C on Lipid, Lipoprotein, and Apolipoprotein Concentrations. Clin Chem 1995; 41: 392-396.
- Use of anticoagulants in Diagnostic laboratory Investigations. WHO Publication. WHO/DIL/LAB 99.1/Rev. 2