

# APOLIPOPROTEINA B

## DETERMINACIÓN CUANTITATIVA POR INMUNOTURBIDIMETRÍA

Para diagnóstico "in vitro"

### PRINCIPIO

El reactivo permite cuantificar los niveles de apolipoproteína B presentes en las muestras comparando las respuestas turbidimétricas producidas por éstas con las obtenidas en una curva estándar de concentraciones conocidas en apolipoproteína B.

El reactivo consiste en una disolución de antisuero anti-apolipoproteína B humano, que reacciona con la apolipoproteína B sérica formando agregados. Este proceso de agregación provoca un aumento de la Abs del sistema.

### UTILIDAD DIAGNÓSTICA

La apolipoproteína B (APO B), es la proteína estructural más abundante de la lipoproteína LDL, VLDL y quilomicrones. Su principal función es la secreción de lipoproteínas ricas en triglicéridos desde el hígado a otros tejidos.

Debido a que los cambios de concentración de APO A1 y APO B son parecidos a los del HDL y LDL en individuos que sufren enfermedades coronarias, la medición de las apolipoproteínas puede utilizarse para la detección de un posible riesgo de enfermedad cardiovascular.

El aumento de la concentración de la APO B puede deberse a algún trastorno del metabolismo de las lipoproteínas, como la hiperapobetalipoproteinemia. Donde aumenta la concentración de APO B y la concentración de LDL colesterol es normal.

La concentración de APO B disminuye en la abetalipoproteinemia, donde se impide la secreción de los lipoproteínas intestinales y hepáticas ricas en triglicéridos.

Una única prueba de laboratorio no permite establecer un diagnóstico. Los resultados se han de evaluar en el contexto de todos los datos clínicos y de laboratorio obtenidos.

### REACTIVOS

**Kit (Ref. 99 34 06).** Contiene:

- A. 1 x 16,0 mL Disolución Tampón. Ref. 99 04 59  
B. 1 x 4,0 mL de anti APO B humana Ref. 99 04 83

### Calibrador de apolipoproteínas

**Ref. 99 36 90**  
1 x 1 mL Pool de plasmas valorados en apolipoproteína A1 y apolipoproteína B.  
La concentración de cada componente viene indicada en la etiqueta del vial.

### Control de apolipoproteínas

**Ref. 99 36 92**  
1 x 1 mL Muestra positiva en apolipoproteína A1 y apolipoproteína B para el control de calidad.  
Los valores vienen indicados en la etiqueta del vial.

### PREPARACIÓN DEL REACTIVO DE TRABAJO

Los reactivos están listos para su uso.

### COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS

- A. Tampón fosfato/salina a pH 7,4 con estabilizante y conservantes.  
B. Reactivo antisuero de cabra anti-APO B humano en un medio de salina tamponada a pH 7,4 con estabilizantes y conservantes.

### CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

El reactivo antisuero, la disolución tampón y el calibrador y control son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, mantenidos a 2-8°C. Ni el antisuero ni el tampón se deben congelar.

### Indicaciones de alteración de los reactivos:

Presencia de partículas en el reactivo. Control de calidad fuera del rango de aceptación.

### MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

Material común de laboratorio.  
Espectrofotómetro, analizador automático o fotómetro termostatzado a 37°C. Cubeta de 1 cm de paso de luz.

### PRECAUCIONES

Los plasmas humanos utilizados en la preparación del calibrador y el control han resultado negativos en la reacción con el HBsAg y el HIV I/II. A pesar de ello, deberán manejarse con precaución. Por otra parte, todos los reactivos contienen azida sódica al 0,09% como conservante.

Se aconseja consultar la ficha de datos de seguridad antes de la manipulación del reactivo. La eliminación de los residuos debe hacerse según la normativa local vigente.

### MUESTRA

Suero o plasma (con heparina o EDTA) reciente o que no haya sido conservado más de 48h a 2-8°C. Si la realización de la prueba debe ser demorada durante un tiempo más largo se aconseja congelar la muestra. Evitar congelaciones y descongelaciones repetidas. Desechar las muestras contaminadas o hemolizadas.

### CONTROL DE CALIDAD

Es recomendable la inclusión de sueros control, en cada proceso de medida, para verificar los resultados.

Se aconseja que cada laboratorio establezca su propio programa de control de calidad y los procedimientos de corrección de las desviaciones en las medidas.

### PROCEDIMIENTO

#### Técnica

Para utilizar con analizadores automáticos.

1. Homogeneizar por agitación suave los reactivos antes de su uso. La muestra no debe diluirse antes de su utilización.

Condiciones:	
Volumen de disolución tampón (A):	240 µL
Volumen de antisuero (B):	60 µL
Volumen de muestra:	3 µL
Temperatura de reacción:	37°C

2. Mezclar bien, poner en marcha el cronómetro y leer inmediatamente la Abs (Absi). Repetir la lectura después de 2 minutos de reacción (Absf) a 340nm.

#### CÁLCULOS

Determinar la variación de Abs para cada una de las muestras, estándar o control.

$\Delta Abs = Absf - Absi$

El valor de la concentración de apolipoproteína B se obtienen por interpolación de la  $\Delta Abs$  en la curva de calibración.

#### Curva de calibración

Realizar diluciones seriadas con disolución salina a partir del calibrador. (Calibrador de apolipoproteínas Ref. 99 36 90). Para obtener la concentración de cada dilución, multiplicar la concentración del calibrador por el factor indicado en la tabla:

	0	1	2	3	4	5
CAL (µL)	--	25	50	100	200	400
Dis.salina (µL)	400	375	350	300	200	--
Factor	0	0,0625	0,125	0,25	0,5	1,0

El procedimiento anterior es orientativo ya que debe adaptarse la técnica de modo específico para cada autoanalizador.

#### VALORES DE REFERENCIA

Entre 59 y 168 mg/dL

Estos valores son orientativos. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

#### PRESTACIONES. CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO.

Las características de funcionamiento de un producto dependen tanto del reactivo como del sistema de lectura empleado.

Los resultados siguientes se han obtenido en un autoanalizador.

Sensibilidad, como límite de detección: 7,8 mg/dL

Margen de reacción: Hasta 300 mg/dL. Para concentraciones superiores, diluir la muestra con NaCl 0,9% (1+1). Multiplicar el resultado final por 2.

Exactitud, como % de recuperación: 95,1%

Precisión en la serie, como CV%: 1,69%

Precisión total, como CV%: 7,19%

No se observa efecto prozona hasta 3000 mg/dL.

Veracidad. Los resultados obtenidos con el reactivo no presentan diferencias significativas al compararlo con el reactivo considerado de referencia.

Los datos detallados del estudio de las prestaciones del reactivo están disponibles bajo demanda.

#### INTERFERENCIAS

No hay interferencias por bilirrubina (5 mg/dL), hemoglobina (125 mg/dL) y FR (600 UI/mL). Sueros lipémicos y otras sustancias pueden interferir (consultar bibliografía).

Las muestras que den lugar a valores con Abs superiores al obtenido para el último punto de la curva estándar deberán diluirse en salina y repetir de nuevo la determinación.

#### AUTOANALIZADORES

Adaptaciones a distintos analizadores automáticos, disponibles bajo demanda.

#### BIBLIOGRAFÍA

Tiezt, NW., Textbook of Clinical Chemistry 5th Edition, W.B. Saunders, Philadelphia (2012).

Richitit, RF. et. al., *Clin. Chem.*, 1991, 37, 1676.

Young, D.S.; Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 3rd Ed. AACCPress 2000.

Young, D.S.; Effects of drugs on Clinical Laboratory Tests. 4th Ed. AACCPress. 2000.

# APOLIPOPROTEIN B

## QUANTITATIVE DETERMINATION BY IMMUNOTURBIDIMETRY

For "in vitro" diagnostic

### PRINCIPLE

The reagent allows quantifying the level of human apolipoprotein B present in the sample by comparing the turbidimetric response produced with that obtained from the standard curve of known concentrations of human apolipoprotein B.

The reagent is an antiserum anti-human apolipoprotein B which reacts with the apolipoprotein B of the serum giving protein aggregates. This aggregation process produces an increase in the Abs. of the system.

### DIAGNOSTIC USE

The apolipoprotein B (APO B) is the most abundant structural protein in LDL, VLDL lipoprotein and chylomicrons. The main function is to transport lipoproteins rich in triglycerides from the liver to body tissues.

Since changes on APO A1 and APO B concentrations are similar to the ones in HDL and LDL on patients with coronary heart diseases, the measurement of apolipoproteins can be applied to the estimation of coronary risk.

Increase in APO B concentration could be because a disorder on lipoprotein metabolism as hyperapobetalipoproteinemia, in which the concentration of APO B increase and LDL-cholesterol levels are normal.

APO B concentration decreases in abetalipoproteinemia, in which the secretion of intestinal and hepatic lipoproteins rich in triglycerides is blocked.

Single test result could not be used to make a clinical diagnosis. It should integrate clinical and laboratory data.

### REAGENTS

**Kit (Ref. 99 34 06).** Contents:

- A. 1 x 16.0 mL Buffer solution. Ref. 99 04 59  
B. 1 x 4.0 mL anti-human APO B serum Ref. 99 04 83

### Apolipoprotein Calibrator.

Ref. 99 36 90

1 x 1 mL Pool of human plasma samples calibrated in apolipoprotein A1 and apolipoprotein B.

The concentration of each component is stated on the vial label.

### Apolipoprotein Control

Ref. 99 36 92

1 x 1 mL Samples positive for apolipoprotein A1 and apolipoprotein B.

The concentration of each component is stated on the vial label.

### REAGENT PREPARATION

Reagents are ready to use.

### REAGENT COMPOSITION

- A. Sodium phosphate/saline buffer pH 7.4 with stabilizers and preservatives.  
B. Goat antiserum anti-human APO B in buffered saline pH 7.4 with stabilizers and preservatives.

### STORAGE AND STABILITY

The antiserum reagent, the buffer solution and the Calibrator and Control are stable up to the expiry date indicated on the label when kept at 2-8°C.

Do not freeze antisera or buffer solution.

### Signs of reagent deterioration:

Presence of particles in the reagent. Quality control values outside acceptance range.

### ADDITIONAL EQUIPMENT

General laboratory equipment.  
Spectrophotometer or photometer thermostatable at 37°C with a 340nm filter.

### CAUTION

Human plasmas used in the control preparation have been found negative in the reaction to HBsAg and HIV I/II. However they should always be handled with care. All reagents contain sodium azide 0.09% as preservative. It is recommended to read SDS before reagent manipulation.

Waste products must be handled as per local regulations.

### SAMPLE

Recent serum or plasma (heparin or EDTA plasma) kept at 2-8°C for no longer than 48h. If the test is to be performed later, it is recommended to freeze the sample. Avoid successive freezing and thawing. Discard hemolyzed or contaminated samples.

### QUALITY CONTROL

Calibrator or positive control should be included in each run. Each particular laboratory should establish its own control program.

### PROCEDURE

#### Technique

To be used in clinical chemistry analyzers.

1. Shake gently the reagents before use. The sample shall be processed without dilution.

Conditions:

Volume of buffer solution (A):	240 $\mu$ L
Volume of antibody solution (B):	60 $\mu$ L
Volume of sample:	3 $\mu$ L
Reaction temperature:	37°C

2. Mix well; start the stopwatch and read the Abs (Absi). Repeat the reading after 2min of reaction (Absf) at 340nm

### CALCULATIONS

Determine the  $\Delta$ Abs (Absorbance increase) as (Absf – Absi) for each sample, standard or control. Apolipoprotein B concentrations are obtained by the interpolation of the  $\Delta$ Abs value in the calibration curve.

#### Calibration curve

Prepare the curve by serially diluting the calibrator with saline (apolipoprotein calibrator Ref. 99 36 90). To obtain the concentration of each dilution, multiply the calibrator concentration by the corresponding factor indicated in the table:

	0	1	2	3	4	5
CAL ( $\mu$ L)	--	25	50	100	200	400
Saline sol. ( $\mu$ L)	400	375	350	300	200	--
Factor	0	0.0625	0.125	0.25	0.5	1.0

The method described above is only indicative, as it should be specifically adapted to each autoanalyzer.

### REFERENCES VALUES

59-168 mg/dL

Each particular laboratory should establish its own normal range, obtained from samples of a representative population, using its own instrumentation, blood collection methods and assaying procedures.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The performance characteristics depend on the method used. It is recommended to calculate these data for each particular test protocol. These results have been obtained using an autoanalyzer.

Sensitivity, as detection limit: 7.8 mg/dL

Reaction range: 300 mg/dL. Samples that give higher concentration should be diluted in saline NaCl 0.9% (1+1) and the final result has to be multiplied by 2.

Accuracy: 95.1%

Repetitivity, as CV%: 1.69%

Reproducibility, as CV%: 7.19%

No prozone effect was observed up to 3000 mg/dL

Trueness: Results obtained with this reagent did not show systematic differences when compared with the reference reagent.

Details of the comparison experiments are available on request.

### INTERFERENCES

No interference was observed by hemoglobin (125 mg/dL), bilirubin (5 mg/dL) and RF (600 UI/mL). Lipemic sera and other substances could interfere (See references).

Samples that give an Abs. higher than that obtained for the last point in the standard curve should be diluted in saline (NaCl 0.9%) and the determination repeated.

### AUTOANALYZERS

QCA has adaptation to different autoanalyzers on request.

### REFERENCES

Tiezt, NW., Textbook of Clinical Chemistry 5th Edition, W.B. Saunders, Philadelphia (2012).

Richitie, RF. et. al., *Clin. Chem.*, 1991, 37, 1676.

Young, D.S.; Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 3rd Ed. AACCPress 2000.

Young, D.S.; Effects of drugs on Clinical Laboratory Tests. 4th Ed. AACCPress. 2000.

---

---

# APOLIPOPROTEINE B

## DÉTERMINATION QUANTITATIVE PAR IMMUNOTURBIDIMÉTRIE

Pour le diagnostic "in vitro"

### PRINCIPE

Le réactif permet de quantifier les taux d'apolipoprotéine B présents dans les échantillons en comparant les réponses turbidimétriques produites par ces derniers avec celles obtenues à partir d'une courbe standard de concentrations connues d'apolipoprotéine B.

Le réactif est composé d'une solution d'antisérum anti-apolipoprotéine B humain, qui réagit avec l'apolipoprotéine B présente dans le sérum en formant des agrégats. Ce processus d'agrégation provoque une augmentation de l'Abs du système.

### UTILITÉ DU DIAGNOSTIC

L'apolipoprotéine B (APO B) est la protéine structurale la plus abondante dans les lipoprotéines LDL, VLDL et chylomicrons. Sa fonction principale est de transporter des lipoprotéines riches en triglycérides du foie vers les tissus de l'organisme.

Étant donné que les variations de la concentration d'APO A1 et APO B sont similaires à celles des HDL et LDL chez les individus atteints de maladies coronariennes, la mesure des apolipoprotéines peut être utilisée pour la détection d'un possible risque de maladie cardiovasculaire.

L'augmentation de la concentration de l'APO B peut être attribuée à un trouble du métabolisme des lipoprotéines, comme l'hypobétalipoprotéïnémie, dans laquelle la concentration d'APO B augmente et celle de cholestérol LDL est normale.

La concentration en APO B diminue dans le cas de l'abétalipoprotéïnémie, caractérisée par l'absence de sécrétion des lipoprotéines riches en triglycérides hépatiques et intestinaux.

Un seul test de laboratoire ne permet pas d'établir un diagnostic. Les résultats doivent être évalués en prenant en compte toutes les données cliniques et de laboratoire obtenues.

### RÉACTIFS

Kit (Réf. 99 34 06). Contenu:

- A. 1 x 16,0 mL Solution tampon Réf. 99 04 59  
B. 1 x 4,0 mL Sérum anti-APO B humaine Réf. 99 04 83

**Calibrateur de apolipoprotéines** Réf. 99 36 90

1 x 1 mL Pool de plasma dont les concentrations en apolipoprotéine A1 et apolipoprotéine B sont connues.

La concentration de chaque composant est indiquée sur l'étiquette du flacon.

**Contrôle de apolipoprotéines** Réf. 99 36 92

1 x 1 mL Échantillon positif en apolipoprotéine A1 et apolipoprotéine B pour le contrôle de la qualité.

Les valeurs sont indiquées sur l'étiquette du flacon.

### PRÉPARATION DU RÉACTIF DE TRAVAIL

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

### COMPOSITION DES RÉACTIFS

- A. Tampon phosphate/salin de pH 7,4 avec stabilisateurs et conservateurs.  
B. Réactif antisérum de chèvre anti-APO B humain, dans un milieu salin tamponné de pH 7,4 avec stabilisateurs et conservateurs.

### CONSERVATION ET STABILITÉ

Conservés entre 2-8°C, le réactif antisérum, la solution tampon, le calibrateur et le contrôle sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. L'antisérum et le tampon ne doivent pas être congelés.

### Indications d'altération des réactifs:

Présence de particules dans le réactif. Contrôle de la qualité en dehors de la plage autorisée.

### MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

Matériel courant de laboratoire.  
Spectrophotomètre, analyseur automatique ou photomètre thermostaté à 37°C. Cuvette de 1 cm de trajet optique.

### PRÉCAUTIONS

Les plasmas humains utilisés dans la préparation du calibrateur et du contrôle se sont avérés négatifs dans le cadre de la réaction avec le HBsAg et le HIV I/II. Cependant, ils doivent être manipulés avec précaution.

Par ailleurs, tous les réactifs contiennent de l'azide de sodium à 0,09% en tant que conservateur.

Il est conseillé de consulter la fiche de données de sécurité avant de manipuler le réactif.

L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux normes en vigueur.

### ÉCHANTILLON

Sérum ou plasma (avec héparine ou EDTA) frais ou n'ayant pas été conservé plus de 48 heures entre 2-8°C. Si la réalisation de l'essai doit être reportée à une date ultérieure, il est conseillé de congeler l'échantillon. Éviter les congélations et décongélations répétées. Jeter les échantillons contaminés ou hémolysés.

### CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Il est recommandé d'inclure des sérums de contrôle dans chaque processus de mesure, pour vérifier les résultats.

Il est conseillé à chaque laboratoire d'établir son propre programme de contrôle de la qualité et les procédures de correction des écarts dans les mesures.

### PROCÉDURE

#### Technique

À utiliser avec des analyseurs automatiques.

1. Homogénéiser les réactifs avant utilisation en les agitant doucement. L'échantillon ne doit pas être dilué avant utilisation.

Conditions :	
Volume de solution tampon (A) :	240 µL
Volume d'antisérum (B) :	60 µL
Volume d'échantillon :	3 µL
Température de réaction :	37°C

2. Bien mélanger, démarrer le chronomètre et lire immédiatement l'Abs. (Absi) et au bout de 2 minutes de réaction (Absf) à 340nm.

#### CALCULS

Déterminer la variation d'Abs pour chacun des échantillons, standards ou contrôles.

$\Delta\text{Abs} = \text{Absf} - \text{Absi}$

La valeur de la concentration d'apolipoprotéine B est obtenue par interpolation de la  $\Delta\text{Abs}$  sur la courbe d'étalonnage.

#### Courbe d'étalonnage

Réaliser des dilutions en série avec une solution saline à partir du calibrateur (calibrateur de apolipoprotéines Réf. 99 36 90). Multiplier la concentration du calibrateur par le facteur indiqué dans le tableau pour obtenir la concentration de chaque dilution.

	0	1	2	3	4	5
CAL (µL)	--	25	50	100	200	400
Saline (µL)	400	375	350	300	200	--
Factor	0	0,0625	0,125	0,25	0,5	1,0

La procédure précédente est indicative; en effet, la technique doit être spécifiquement adaptée à chaque autoanalyseur.

#### VALEURS DE RÉFÉRENCE

Entre 59 et 168 mg/dL

Ces valeurs sont approximatives. Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs de référence.

#### PERFORMANCE. CARACTÉRISTIQUES DE FONCTIONNEMENT.

Les caractéristiques de fonctionnement d'un produit dépendent aussi bien du réactif que du système de lecture utilisé.

Les résultats suivants ont été obtenus en utilisant un autoanalyseur.

Sensibilité, comme limite de détection : 7,8 mg/dL

Marge de réaction: jusqu'à 300 mg/dL. Pour des concentrations plus élevées, diluer l'échantillon avec du NaCl à 0,9% (1+1). Multiplier le résultat final par 2.

Exactitude, en tant que % de récupération : 95,1%

Précision dans la série, en tant que CV% : 1,69%

Précision totale, en tant que CV% : 7,19%

Aucun effet prozone à une concentration de 3000 mg/dL

Justesse. Les résultats obtenus avec le réactif ne présentent pas de différences significatives par rapport au réactif utilisé comme réactif de référence.

Les données détaillées concernant l'étude de performance du réactif sont disponibles sur demande.

#### INTERFÉRENCES

Aucune interférence n'a été observée avec la bilirubine (5 mg/dL), l'hémoglobine (125 mg/dL) et le FR (600 UI/mL).

Les sérums lipémiques et d'autres substances peuvent interférer (consulter la bibliographie). Les échantillons qui présentent des valeurs dont l'Abs est supérieure à celle obtenue pour le dernier point de la courbe standard doivent être dilués dans une solution saline et la détermination doit être répétée.

#### AUTOANALYSEURS

Des adaptations à différents analyseurs automatiques sont disponibles sur demande.

#### BIBLIOGRAPHIE

Tiezt, NW., Textbook of Clinical Chemistry 5th Edition, W.B. Saunders, Philadelphia (2012).  
Richit, RF. et al., *Clin. Chem.*, 1991, 37, 1676.

Young, D.S.; Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 3rd Ed. AACCPress 2000.

Young, D.S.; Effects of drugs on Clinical Laboratory Tests. 4th Ed. AACCPress. 2000.