

APO B

Diagnostic reagent for the quantitative in vitro determination of APO B (Apolipoprotein B) in human serum by turbidimetric assay

REF	Content
A00508	1x 10 mL APO B Antibody Reagent 5x 25 mL PEG6 Buffer
Additionally offered:	
A00716	1x 1 mL APO A1/A2/B Calibrator High
A00806	1x 1 mL APO A1/A2/B Control

GENERAL INFORMATION

Method	Immunoturbidimetric
Reaction	Nonlinear, endpoint
Wavelength	340 nm
Assay Temperature	18 – 37 °C
Sample	Serum
Measuring Range	approx. 0 – 300 mg/dL
Sensitivity	4 mg/dL (Cobas Mira)
Hook Effect	without sample dilution: > 3,300 mg/dL with sample dilution: > 3,300 mg/dL

Manual Test Procedure Tests/Kit*

without sample dilution	125
with sample dilution	200

Automated Test Procedure

Instrument dependent – please ask for applications

* calculated on amount of antibody reagent; additional buffer on request

REAGENT COMPOSITION

COMPONENTS FINAL CONCENTRATION

COMPONENTS	FINAL CONCENTRATION
APO B Antibody Reagent	
Turbidimetric grade antibody raised in the goat, monospecific for APO B	variable
Sodium azide	0.095 %

PEG6 Buffer

Phosphate buffered saline	
PEG	6 %
Sodium azide	0.095 %

REAGENT PREPARATION

The reagents are liquid and ready to use.

REAGENT STABILITY AND STORAGE

Conditions:	Protect from light. Close immediately after use.	
Stability:	at 2 – 8 °C	up to the expiration date
	at 18 – 25 °C	1 month

Do not freeze!

SAMPLE STABILITY AND STORAGE

Stability:	at 2 – 8 °C	48 hours
	at – 20 °C	3 months

Freeze only once!

MANUAL TEST PROCEDURE

Test Procedure without Sample Dilution:

Samples/Controls: ready to use

Calibration curve: Use APO A1/A2/B Calibrator High to generate a calibration curve by making 1:2 serial dilutions of the calibrator with 0.9% saline as diluent. Use 0.9% saline as zero point.

Pipette into test tubes:	Calibrators	Samples/Controls
Buffer	900 µL	900 µL
Cal./Ctrls/Samples	5 µL	5 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Latex Reagent	80 µL	80 µL
Mix. Incubate 5 minutes at assay temperature. Read A2 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Calculate: $\Delta A = (A2 - A1)$		

Test Procedure with Sample Dilution:

Sample/ Control: dilute 1:10 in saline 0.9%

Calibration curve: Use APO A1/A2/B Calibrator High to generate a calibration curve by making 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 and 1:160 dilutions with 0.9% saline as diluent. Use 0.9% saline as zero point.

Pipette into test tubes	Calibrators	Samples/Controls
Buffer	900 µL	900 µL
Cal./Ctrls/Samples	40 µL	40 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Antibody Reagent	50 µL	50 µL
Mix. Incubate 5 minutes at assay temperature. Read A2 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Calculate: $\Delta A = (A2 - A1)$		

CALCULATION

Calculate and plot $\Delta A = (A2 - A1)$ of the calibrators versus assigned concentration values on a linear-linear graph paper. Calculate ΔA optical densities of samples and control(s) and read values in mg/dL on the reference curve. Samples yielding absorbances above highest calibrator should be retested after further dilution.

REFERENCE RANGE

Men: 60 – 138 mg/dL

Women: 52 – 129 mg/dL

It is recommended that each laboratory establishes its own normal range.

TEST PRINCIPLE

The assay of APO B is based on turbidimetric measurement. Turbidity is caused by the formation of antigen-antibody insoluble immuno complexes. The formation of the complexes is accelerated and enhanced by PEG.

DIAGNOSTIC IMPLICATIONS

The Apolipoprotein B concentration as a single parameter exhibits the closest correlation to atherosclerotic vascular changes and in particular shows the highest prognostic value for total cholesterol levels. APO B is the main protein component of LDL (Low Density Lipoprotein). APO B is necessary for the reaction with LDL receptors in the liver and on cell walls and is thus involved in transporting cholesterol from the liver to the vessel cells. Elevated levels of APO B are frequently found in atherosclerotic vascular changes and are a risk factor for atherosclerosis.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

SENSITIVITY

4 mg/dL (Cobas Mira)

ACCURACY

Controls are assayed in duplicate on Cobas Mira.

Control	Assigned Value (mg/dL)	Measured Value (mg/dL)
DIALAB	93.0 (79 – 107)	95.6
Behring	97.2 (82.6 – 111.8)	92.1
Biorad	163 (130 – 196)	148.3

PRECISION

Intra-Assay Precision

The APO B concentration (mg/dl) of an unknown serum sample was measured 10 times on the Cobas Mira.

Analyzer	n	Mean	S.D.	C.V.
Cobas Mira	10	73.13	0.95	1.29

Inter-Assay Precision

After calibration an unknown serum sample was measured on 6 different days during two weeks on the Cobas Mira. The Serum was stored at + 4 °C.

Analyzer	n	Mean	S.D.	C.V.
Cobas Mira	6	72.9	0.75	1.02

METHOD COMPARISON

A comparison with Nephelometry gave the following results:
 $y = 1.0608x - 6.4573$; $r = 0.9886$

INTERFERING SUBSTANCES

No interference up to:

Triglycerides	2500 mg/dL	Hemoglobin	1000 mg/dL
Bilirubin	20 mg/dL	Sodium Citrate	1000 mg/dL
Turbidity	5 %		

QUALITY CONTROL

All Control sera with APO B values measured by this method may be used. We recommend the Dialab APO A1/A2/B Control.

CALIBRATION

The assay requires the use of APO B serum Calibrators. We recommend the Dialab APO A1/A2/B Calibrator High.

AUTOMATION

Applications for automated systems (with and without sample dilution) are available upon request.

WARNINGS AND PRECATIONS

- The APO B reagents are intended for in vitro diagnostic use only.
- Sodium azide has been reported to form lead or copper azide in laboratory plumbing which may explode on percussion.
- Each donor unit used in the preparation of the standards and controls was found to be negative for the presence of HIV antibodies, as well as for Hepatitis B surface antigen, using a method approved by the FDA

WASTE MANAGEMENT

Please refer to local requirements.

REFERENCES

- Naito, H.K., J. Clin. Immunoassay, 9, 155 (1986)
- Kottke, B.A., et al., Mayo Clin. Proc., 61, 313 (1986)
- Dati, F. et al., Lab. Med. 13, 87 (1989)



APO B

Diagnostisches Reagenz für den quantitativen Nachweis von
APO B (Apolipoprotein B) in Humanserum mittels turbidimetrischer Methode

REF

Inhalt

A00508 1x 10 mL APO B Antikörperreagenz
 5x 25 mL PEG6 Puffer

Zusätzlich wird angeboten:

A00716 1x 1 mL APO A1/A2/B Kalibrator Hoch
 A00806 1x 1 mL APO A1/A1/B Kontrolle

ALLGEMEINE INFORMATION

Methode: Immunturbidimetrisch
Reaktion: Nicht-linear, Endpunkt
Wellenlänge: 340 nm
Testtemperatur: 18 – 37 °C
Probe: Serum
Messbereich: ca. 0 – 300 mg/dL
Sensitivität: 4 mg/dL (Cobas Mira)
Hook-Effekt ohne Probenverdünnung: > 3,300 mg/dL
 mit Probenverdünnung: > 3,300 mg/dL

Manuelle Testdurchführung Tests/Kit*

ohne Probenverdünnung 125
 mit Probenverdünnung 200

Automatische Testdurchführung

Instrumentenabhängig - Applikationen auf Anfrage

* berechnet aufgrund der Menge des Antikörperreagenz; zusätzlicher Puffer auf Anfrage

REAGENZIENZUSAMMENSETZUNG

KOMPONENTEN ENDKONZENTRATION

APO B Antikörperreagenz

Turbidimetrie-Grade-Antikörper aus der Ziege,
 monospezifisch für APO B variabel
 Natriumazid 0.095 %

PEG6 Puffer

Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung
 PEG 6 %
 Natriumazid 0.095 %

REAGENZIENVORBEREITUNG

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

REAGENZIENSTABILITÄT UND -LAGERUNG

Bedingungen: Vor Licht schützen. Nach Verwendung sofort verschließen.
 Haltbarkeit: bei 2 – 8 °C bis zum Verfallsdatum
 bei 18 – 25 °C 1 Monat

Nicht einfrieren!

PROBENSTABILITÄT UND -LAGERUNG

Haltbarkeit: bei 2 – 8 °C 48 Stunden
 bei – 20 °C 3 Monate

Nur einmal einfrieren!

MANUELLE TESTDURCHFÜHRUNG

Testdurchführung ohne Probenverdünnung:

Proben/Kontrollen: gebrauchsfertig
 Kalibrationskurve: mit dem APO A1/A2/B Kalibrator Hoch eine Kalibrationskurve erstellen. Dazu eine serielle 1:2 Verdünnung des Kalibrators mit 0,9 % Kochsalzlösung herstellen. 0,9 % Kochsalzlösung als Nullpunkt verwenden.

In Küvetten pipettieren	Kalibratoren	Proben/Kontrollen
Puffer	900 µL	900 µL
Kal./Ktrl./Proben	5 µL	5 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	80 µL	80 µL
Mischen. 5 min. bei Testtemperatur inkubieren. A2 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Berechnung: $\Delta A = (A2 - A1)$		

Testdurchführung mit Probenverdünnung:

Proben/Kontrollen: 1:10 mit 0,9% Kochsalzlösung verdünnen
 Kalibrationskurve: mit dem APO A1/A2/B Kalibrator Hoch eine Kalibrationskurve erstellen. Dazu eine 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 und 1:160 Verdünnung mit 0,9 % Kochsalzlösung herstellen. 0,9 % Kochsalzlösung als Nullpunkt verwenden.

In Küvetten pipettieren	Kalibratoren	Proben/Kontrollen
Puffer	900 µL	900 µL
Kal./Ktrl./Proben	40 µL	40 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	50 µL	50 µL
Mischen. 5 min. bei Testtemperatur inkubieren. A2 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen.		

BERECHNUNG

Das $\Delta A = (A2 - A1)$ jedes Kalibrators berechnen und gegen die angegebenen Konzentration auf einem linearen Millimeterpapier auftragen. Die ΔA optischen Dichten von Proben und Kontrolle(n) berechnen und die Werte in mg/dL auf der Referenzkurve ablesen. Proben mit Absorptionen über dem höchsten Kalibrator sollten nach Verdünnung nochmals getestet werden.

REFERENZBEREICH

Männer: 60 – 138 mg/dL

Frauen: 52 – 129 mg/dL

Jedes Labor sollte wenn möglich seinen eigenen Normalbereich ermitteln.

TESTPRINZIP

Dieser Test für APO B basiert auf turbidimetrischer Messung. Durch Bildung von unlöslichen Antigen-Antikörper Immuno-Komplexen kommt es zu einer Trübung. Die Bildung dieser Komplexe wird durch PEG beschleunigt und verbessert.

DIAGNOSTISCHE BEDEUTUNG

Apolipoprotein B als Einzelparameter zeigt die beste Korrelation mit atherosklerotischen Gefäßveränderungen, vor allem ist es auch ein sehr guter Prognosefaktor für die Gesamt-Cholesterin-Werte. APO B ist die Hauptprotein-Komponente des LDL (Low Density Lipoprotein). APO B wird für die Reaktion mit LDL-Rezeptoren in der Leber und an Zellwänden benötigt und ist deshalb im Cholesterin-Transport von der Leber zu den Gefäßzellen involviert. Erhöhte APO B-Werte werden häufig bei athero-sklerotischen Gefäßveränderungen gemessen und sind ein Risikofaktor für Atherosklerose.

LEISTUNGSMERKMALE

SENSITIVITÄT

4 mg/dL (Cobas Mira)

GENAUIGKEIT

Kontrollen wurden in Doppelbestimmung auf dem Cobas Mira getestet.

Kontrolle	Bestimmter Wert (mg/dL)	Gemessener Wert (mg/dL)
DIALAB	93.0 (79 – 107)	95.6
Behring	97.2 (82.6 – 111.8)	92.1
Biorad	163 (130 – 196)	148.3

PRÄZISION

Präzision innerhalb der Serie

Die APO B Konzentration (mg/dl) einer unbekannt Probe wurde 10x auf dem Cobas Mira gemessen.

Analyzer	n	Mittelwert	S.D.	C.V.
Cobas Mira	10	73.13	0.95	1.29

Präzision zwischen den Serien

Nach Kalibration wurde eine unbekannt Probe an 6 Tagen über 2 Wochen gemessen. Das Serum wurde bei +4°C gelagert.

Analyzer	n	Mittelwert	S.D.	C.V.
Cobas Mira	6	72.9	0.75	1.02

METHODENVERGLEICH

Ein Vergleich mit Nephelometrie ergab folgende Ergebnisse:

$$y = 1.0608x - 6.4573; r = 0.9886$$

STÖRENDE SUBSTANZEN

Keine Interferenzen bis:

Triglyceride	2500 mg/dL	Hämoglobin	1000 mg/dL
Bilirubin	20 mg/dL	Natrium-Citrat	1000 mg/dL
Trübung	5 %		

QUALITÄTSKONTROLLE

Alle Kontrollseren, bei denen APO B mit dieser Methode gemessen wurde, können verwendet werden. Wir empfehlen die Dialab APO A1/A2/B Kontrolle.

KALIBRATION

Für diesen Test werden APO B Serumkalibratoren benötigt. Wir empfehlen den Dialab APO A1/A2/B Kalibrator Hoch.

AUTOMATISIERUNG

Applikationen für automatisierte Systeme (mit und ohne Probenverdünnung) sind auf Anfrage erhältlich.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Die APO B Reagenzien sind nur für die In-Vitro-Diagnostik.
- Natriumazid bildet Blei- oder Kupferazide in Laborleitungen, was bei Erschütterung zu Explosionen führen kann.
- Jede Spendereinheit, die für die Herstellung der Standards und Kontrollen verwendet wurde, wurde negativ auf HIV-Antikörper und Hepatitis B Oberflächen-Antigen unter Verwendung einer FDA-geprüften Methode getestet

ABFALLENTSORGUNG

Die lokalen Bestimmungen sind zu beachten.

BIBLIOGRAPHIE

- Naito, H.K., J. Clin. Immunoassay, 9, 155 (1986)
- Kottke, B.A., et al., Mayo Clin. Proc., 61, 313 (1986)
- Dati, F. et al., Lab. Med. 13, 87 (1989)

