

Order information:

Catalog-No.	Contents
H0901 Hit 1 / 917 (Ilab* / AU*)	R1 6 x 20 ml R2 6 x 4.5 ml

(*) Kit contains only reagent barcode for Hitachi system.

System information:

Hitachi 911/917: ACN 151
For application on the Hitachi 912, please use an open system or contact the Analyticon Customer Support.

Intended use:

Immunoturbidimetric assay for the in vitro quantitative determination of Apolipoprotein B in human serum and plasma.

Summary:

Apolipoprotein B is the main component of the LDL and IDL, and it is also an important component of VLDL and chylomicrons. It occurs in two forms: apo B-100 in the VLDL/LDL and apo B-48 in the chylomicrons.

Apo B-100 originates in the liver, whereas apo B-48 (the N-terminal half of apo B-100) is mainly formed in the small intestine. Apolipoprotein B is important for the transport of cholesterol and triglycerides as well as for their receptor-mediated cellular uptake.

As published in the scientific literature, Apolipoprotein determinations are primarily used in the early detection and assessment of the individual coronary risk and for the diagnosis of the relatively rare (but very serious) apolipoproteinopathy, which is generally inherited. The determination of apolipoprotein B is used in the detection of hyperapobetalipoproteinemia (apoB elevated, LDL-cholesterol normal), which is found in almost half of patients with coronary diseases. A positive angiography finding, i.e. the demonstration of stenosis, is associated with pathological apo A-1/apo B findings. The Apolipoprotein determinations supplement modern HDL, LDL and Lp(a) diagnostics.

The determination of apolipoprotein B is made by immunoassay (RIA; ELISA), electroimmunodiffusion (EID), radial immunodiffusion, nephelometry or turbidimetry.

Test principle:

Immunoturbidimetric assay.
• Sample and addition of R1 (buffer)
• Addition of R2 (anti-apolipoprotein B-antibody/buffer) and start of reaction.

Anti-apolipoprotein B-antibodies react with the antigen in the sample to form antigen/antibody complexes which following agglutination, can be measured turbidimetrically.

Reagent concentration:

R1:	
Tris* buffer pH 7.8	100 mmol/l
PEG	4.5 %
NaCl	150 mmol/l
Preservative; Detergent	

R2:	
Polyclonal anti-human apolipoprotein B	dependent on titer
Antibody (goat)	
Tris* buffer pH 7.8	80 mmol/l
NaCl	150 mmol/l
Preservative	

*TRIS= Tris (hydroxymethyl)-aminomethane

Preparation and stability

R1: Ready for use.
R2: Ready for use.

Unopened kit components: Up to the expiration date at +2°C to +8°C
Onboard stability at +2°C to + 8°C: R1: 42 days
R2: 42 days

Specimen

Collect serum using standard sampling tubes

Na-heparin, or Na-EDTA plasma

Stability:	1 day	at +20°C to +25°C
	3 days	at + 4°C to + 8°C
	2 months	at - 20°C (only freeze once!)

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.
For analyzers with automatic sample predilution, the samples are prediluted with 0.9% NaCl solution by the instrument.
For analyzers without automatic sample predilution, manual predilution of the samples 1 + 20 with 0.9% NaCl is necessary.

Notes:

For in vitro diagnostic use.
The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>.
Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within ±10% of initial value.
Icterus: No significant interference up to 80 mg/dl).
Hemolysis: No significant interference up to an index H of 1000 (approximate haemoglobin concentration: 1000 mg/dl).
Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 600 (approximate triglycerides concentration: 1200 mg/dl). There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.
No high-dose hook-effect up to an apolipoprotein B concentration of 1000 mg/dl.
The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

Testing procedure:

Applications for automated systems are available on request.

Materials provided

• Working solutions and calibrators as described above

Additional materials required

- Controls as indicated below
- 0.9% NaCl
- General laboratory equipment

Manual procedure:		
Wavelength:	340 nm	
Temperature:	+37°C	
Cuvette:	1cm	
Zero adjustment:	against reagent blank	
	Blank	Sample/ Calibrator
R1	1000 µl	1000 µl
R2	200 µl	200 µl
Mix, incubate 2 min. and read A ₁ reagent blank. Then add:		
Sample/calibrator	---	20 µl
Mix, incubate 5 min. and read A ₂ .		
Calculation:		
$\Delta A = [(A_2) \text{ sample/calibrator}] - [(A_1) \text{ blank}]$		
The concentration of Apo B in patient sera can be read from a graph using values of 6 levels of standards in the concentration range of 0 to 460 mg/dl APO B. For zero value is recommended to use saline solution (0.9%).		

Measuring/reportable range:

Roche/Hitachi systems automatically calculate the apolipoprotein B concentration of each sample.

Conversion factors: mg/dl x 0.01 = g/l
g/l x 100 = mg/dl

• Roche/Hitachi 911/917 analyzer:
20 - 400 mg/dl (0.20-4.00 g/l)*
Extended measuring with rerun: 10 - 400 mg/dl (0.10 - 4.0 g/l)**

* Maximum reportable range is dependent on the highest standard concentration.
**Maximum extended reportable range is an approximate value on the calculated value of the highest standard.

Expected values:

Men: 66 - 133 mg/dl (0.66 - 1.33 g/l)
Women: 60 - 117 mg/dl (0.60 - 1.17 g/l)

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patients' population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes the APO B results should always be assayed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

Analytical sensitivity (lower detection limit)

10.0 mg/dl (0.10 g/l)

The lower detection limit represents the lowest measurable apolipoprotein B concentration that can be distinguished from zero.

Imprecision:

Reproducibility was determined within run using controls in an internal protocol (n = 20). The following results were obtained:

Within run			
Sample	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Sample 1	61.0	0.47	0.77
Sample 2	104	0.78	0.75
Sample 3	185	1.68	0.91

Reproducibility was determined using human samples and controls in an internal protocol (n = 18). The following results were obtained:

Between day			
Sample	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Sample 1	74.7	3.20	4.28
Sample 2	180	5.87	3.27

Method comparison:

A comparison of the Analyticon TurbiteX APO B (y) with a commercial obtainable assay (x) gave with 45 samples the following result (mg/dl):

$$y = 1.08 x + 3.358 \quad r = 0.984$$

Quality Control:

ControPath® L	5 x 2 ml	#1303
Contronorm® L	5 x 2 ml	#1302

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Calibration:

Standardization: The apolipoprotein B method was standardized using the WHO/IFCC SP3-07 reference standard.

S1: 0.9% NaCl		
S2 - S5: Bio Cal® L	1 x 2 ml	#1401
	5 x 2 ml	#1402

Preparation of calibrator for multi-point calibration:

• Manual testing procedure:

Prepare a fresh dilution of Bio Cal® L with 0.9 % NaCl solution:

S1: 0.9% NaCl
S2: 1:20 e.g. 10 µl Bio Cal® L + 190 µl 0.9% NaCl
S3: 1:10 e.g. 20 µl Bio Cal® L + 180 µl 0.9% NaCl
S4: 1:5 e.g. 40 µl Bio Cal® L + 160 µl 0.9% NaCl
S5: 1:2 e.g. 100 µl Bio Cal® L + 100 µl 0.9% NaCl
S5: Bio Cal® L undiluted

Calculate calibration values from the package insert of the calibrator (e.g. for 1:20 dilution, divide the given value by 20.)

• Hitachi 911 analyzers:

Multiply the lot-specific Bio Cal L values by the factors given below to determine the standard concentrations for the 6-point calibration curve.

S2: 0.252	S5: 2.084
S3: 0.496	S6: 3.504
S4: 1.527	

• Hitachi 917 analyzers:

Multiply the lot-specific Bio Cal L values by the factors given below to determine the standard concentrations for the 6-point calibration curve.

S2: 0.318	S5: 2.100
S3: 0.600	S6: 3.500
S4: 1.615	

Calibration frequency:

Full calibration is recommended:

- after lot change
- as required following quality control procedures

Disposal:

Please note the legal regulations.

Text passages with grey background were changed in the latest revision of this package insert.

Literature:

1. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.
2. Council Directive (90/679/EEG) Official Journal of the European Communities No. L374 form Dec. 31 1990
3. Department of Labour, Occupational Safety and Health Administration, 29 CFR 1910 1030. Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; Final Rule. Federal Register 1991; 56:64 175-182
4. Greiling H, Gressner AM. (Hrsg. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995:325-326.
5. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preanalytical Variables. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag, 1996.
6. Karl J, Engel WD. Determination of Apolipoprotein A I and B without sample dilution. Poster presented at the 57th Meeting of the European Atherosclerosis Society, Lisbon and the IX European Congress of Clinical Chemistry, Cracow, 1991
7. Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709-720.

Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Inhalt
H0901	Hit 1 / 917 (ILab* / AU*)
	R1 6 x 20 ml R2 6 x 4,5 ml

(*) Kit enthält nur Reagenzien-Barcodes für Hitachi Systeme.

Systeminformation:

Hitachi 911/917: ACN 151
Für die Benutzung am Hitachi 912 verwenden Sie bitte ein offenes System oder wenden Sie sich an den Analyticon Kundensupport.

Anwendungszweck:

Immunologischer Trübungstest zur quantitativen in vitro Bestimmung von Apolipoprotein B in Humanserum und -plasma.

Zusammenfassung:

Apolipoprotein B ist der Hauptbestandteil der LDL und der IDL, aber auch ein wichtiger Bestandteil in VLDL und Chylomikronen. Es kommt in zwei Formen vor: Apo B-100 in den VLDL/LDL und Apo B-48 in den Chylomikronen. Apo B-100 entstammt der Leber, während Apo B-48 als N-terminale Hälfte von Apo B-100 überwiegend im Dünndarm gebildet wird. Apolipoprotein B ist wichtig für den Transport des Cholesterins und der Triglyceride und für ihre rezeptorvermittelte zelluläre Aufnahme. Wie in der wissenschaftlichen Literatur beschrieben, dienen Apolipoproteinbestimmungen in erster Linie der frühzeitigen Erkennung und Beurteilung des individuellen koronaren Risikos und für die Diagnose der relativ seltenen, aber sehr schwerwiegenden und meist erblich bedingten Apolipoproteinopathien. Die Bestimmung von Apolipoprotein B dient zur Erkennung der Hyperapobetalipoproteinämie (Apo B erhöht, LDL-Cholesterin normal) bei fast der Hälfte aller Koronarerkrankungen. Ein positiver Angiographiebefund, das heißt der Nachweis von Stenosen geht mit pathologischen Apo A1/Apo B-Befunden einher. Die Apolipoproteinbestimmungen ergänzen die moderne HDL-, LDL- und LP (a)-Diagnostik. Die Bestimmung von Apolipoprotein B erfolgt durch Immunoassays (RIA, ELISA), Elektroimmundiffusion (EID), radialer Immundiffusion, Nephelometrie oder Turbidimetrie.

Testprinzip:

Immunologischer Trübungstest
• Probe und Zugabe von R1 (Puffer)
• Zugabe von R2 (Apolipoprotein B-Antikörper/Puffer) und Start der Reaktion:

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:
Tris* Puffer* pH 7,8 100 mmol/l
PEG 4,5 %
NaCl 150 mmol/l
Konservierungsmittel; Detergenz

R2:
Polyklonaler Anti-Human-Apolipoprotein-B
Antikörper (Ziege) abhängig vom Titer
Tris Puffer pH 7,8 80 mmol/l
NaCl 150 mmol/l
Konservierungsmittel

*TRIS= Tris (hydroxymethyl)-aminomethan-hydrochlorid

Herstellung und Haltbarkeit:

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig
R2: Inhalt ist gebrauchsfertig
Bei +2°C bis +8°C sind die Reagenzien bis zum aufgedruckten Verfallsdatum haltbar.
Onboard Stabilität bei +2°C bis +8°C: R1: 42 Tage
R2: 42 Tage

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen
Na-Heparinat-, oder Na-EDTA-Plasma
Haltbarkeit: 1 Tag bei +20°C bis +25°C
3 Tage bei + 4°C bis + 8°C
2 Monate (Nur einmal einfrieren) bei - 20°C

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.
Bei Geräten mit automatischer Probenverdünnung werden die Proben mit 0,9% NaCl-Lösung im Gerät vorverdünnt.
Bei Geräten ohne automatische Probenverdünnung müssen die Proben manuell 1 + 20 mit 0,9% NaCl vorverdünnt werden.

Hinweis:

In vitro Diagnostikum.
Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.
Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung $\pm 10\%$ vom Ausgangswert.
Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zu 80 mg/dl Bilirubin.
Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 1000 (ca. 1000 mg/d Hämoglobin).
Lipämie: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 600 (ca. 1200 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.
Es wurde kein High-Dose-Hook-Effekt bis zu einer APO B Konzentration von 1000 mg/dl beobachtet
Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Testverfahren:

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Gelieferte Materialien

- Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben
- Zusätzlich benötigte Materialien*
- Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben
- Natriumchlorid-Lösung (0,9%)
- Allgemein übliche Laborausrüstung

Manuelle Testdurchführung:		
Wellenlänge:	340 nm	
Temperatur:	+37°C	
Schichtdicke:	1cm	
Messung:	gegen Reagenzienleerwert (RLW)	
	RLW	Probe/ Kalibrator
R1	1000 µl	1000 µl
R2	200 µl	200 µl
Mischen, 2 min. inkubieren und E ₁ RLW ablesen. Dann zugeben:		
Probe/ Kalibrator	---	20 µl
Mischen, 5 min. inkubieren und E ₂ ablesen.		
Berechnung:		
$\Delta E = [(E_2) \text{ Probe oder Kalibrator}] - [(E_1) \text{ RLW}]$		
Die Konzentration von Apo B in Patientenseren sollte aus einer Kalibrationskurve abgelesen werden, beruhend auf den Mess-ergebnissen von 6 Standards für einen Kalibrationsbereich von 0 bis 460 mg/dl APO B. Für den Nullpunkt wird die Verwendung einer NaCl-Lösung (0,9%) empfohlen.		

Messbereich:

Die Roche/Hitachi-Geräte berechnen automatisch die Apolipoprotein B-Konzentration jeder Probe.
Umrechnung: $\text{mg/dl} \times 0,01 = \text{g/l}$
 $\text{g/l} \times 100 = \text{mg/dl}$

- Roche/Hitachi 911/917 Geräte:
20 - 400 mg/dl (0,20 - 4,00 g/l)*
Erweiterter Messbereich mit Rerun: 10 - 400 mg/dl (0,10 - 4,0 g/l)**

* Abhängig von der höchsten Standardkonzentration
** Ungefährer Wert, abhängig vom berechneten Wert der höchsten Standardkonzentration.

Referenzbereich:

Männer: 66-133 mg/dl bzw. 0,66-1,33 g/l
Frauen: 60-117 mg/dl bzw. 0,60-1,17 g/l

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die Apolipoprotein B-Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

10 mg/dl bzw. 0,10 g/l
Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren Apolipoprotein B-Konzentration, die von Null unterschieden werden kann.

Turbitex® APO B

APOLIPOPROTEIN B



Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollen gemäß einem internen Protokoll (n = 20) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Probe	In der Serie		
	MW mg/dl	SD mg/dl	VK %
Probe 1	61,0	0,47	0,77
Probe 2	104	0,78	0,75
Probe 3	185	1,68	0,91

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Humanproben und Kontrollen gemäß einem internen Protokoll (von Tag zu Tag, n = 18) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Probe	Tag / Tag		
	MW mg/dl	SD mg/dl	VK %
Probe 1	74,7	3,20	4,28
Probe 2	180	5,87	3,27

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon® APO B (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit 45 Proben folgende Ergebnisse erhalten (mg/dl):

$$y = 1.08 x + 3.358 \quad r = 0.984$$

Qualitätskontrolle:

Controptath® L 5 x 2 ml #1303
Contronorm® L 5 x 2 ml #1302

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

Kalibration:

Standardisierung: Die Apolipoprotein B-Methode wurde am WHO/IFCC-Referenzstandard SP3-07 abgeglichen.

S1: 0,9% NaCl
S2 - S5: Bio Cal® L 1 x 2 ml #1401
5 x 2 ml #1402

• Hitachi 911 Geräte:

Zur Bestimmung der Standardkonzentrationen für die 6-Punkt-Kalibration sind die chargenspezifischen Bio Cal L Werte mit folgenden Faktoren zu multiplizieren.

S2: 0.252 S5: 2.084
S3: 0.496 S6: 3.504
S4: 1.527

• Hitachi 917 Geräte:

Zur Bestimmung der Standardkonzentrationen für die 6-Punkt-Kalibration sind die chargenspezifischen Bio Cal L Werte mit folgenden Faktoren zu multiplizieren.

S2: 0.318 S5: 2.100
S3: 0.600 S6: 3.500
S4: 1.615

Kalibrationshäufigkeit:

Eine Vollkalibration wird empfohlen:

- Bei Chargenwechsel
- Wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Grau hinterlegte Textpassagen wurden in der letzten Überarbeitung dieser Gebrauchsanweisung geändert.

Literatur:

1. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.
2. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29 CFR 1910.1030. Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; Final Rule. Federal Register 1991; 56:64 175-182
3. Greiling H, Gressner AM (Hrsg. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3. Auflage. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995:325-326.
4. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preenalytical Variables. Broschüre in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag, 1996.
5. Karl J, Engel WD. Determination of Apolipoprotein A I and B without sample dilution. Poster presented at the 57th Meeting of the European Atherosclerosis Society, Lisbon and the IX European Congress of Clinical Chemistry, Cracow, 1991
6. Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709-720.
7. Richtlinie des Rates (90/679/EWG). Amtsblatt d. Europ. Gem. Nr. L374 vom 31.12.1990:1-12.

