

АПОЛИПОПРОТЕИН В

(IT-Apo B DIL 1x15)

Набор жидких реагентов готовых к употреблению

Кат. No. 10006910

Хранить при (+2 – +8) °C

Набор реагентов для определения аполипопротеина В в сыворотке и плазме иммунотурбидиметрическим методом

Принцип метода

Определение аполипопротеина В иммунотурбидиметрическим методом основано на взаимодействии этого белка со специфическими антителами с образованием иммунокомплексов, преципитация которых приводит к увеличению мутности раствора при 340 нм пропорционально концентрации аполипопротеина В в образце.

Состав реагентов

R1 Буфер	(1x125 мл)
ТРИС буфер pH 8	200 ммоль/л
Полиэтиленгликоль	56 г/л
Натрия хлорид	50 ммоль/л
Азид натрия	0,9 г/л
R2 Антисыворотка	(1x15 мл)
Стерильная очищенная от липидов козья сыворотка против человеческого Apo В	Титр +/- 3 г/л
ХЕПЕС буфер pH 7,4	50 ммоль/л
ЭДТА	9 ммоль/л
Азид натрия	0,9 г/л

Состав реакционной смеси

ТРИС буфер pH 8	165,66 ммоль/л
ХЕПЕС буфер pH 7,4	8,28 ммоль/л
Полиэтиленгликоль	46,35 г/л
Натрия хлорид	41,4 ммоль/л
ЭДТА	1,49 ммоль/л
Азид натрия	0,89 г/л

Приготовление и стабильность рабочих реагентов

Реагенты стабильны до достижения указанного срока годности, если хранятся при (+2 – +8) °C.

Реагенты R1 и R2 жидкие готовые к использованию.

После вскрытия, реагент R1 стабильна кривая по пяти стандартам различной концентрации, получаемым из АРО стандарта постепенным разведением его физиологическим раствором в соотношении 1:1. Например, если концентрация АРО стандарта равна 3,0 г/л, готовятся стандарты с концентрацией: 0,19-0,38-0,75-1,5-3 г/л (используемое разведение 1:16, 1:8, 1: 4, 1:2 и не разведенный стандарт). Постройте калибровочную кривую.

Образцы

Сыворотка или плазма (гепарин, фтористый натрий, ЭДТА, цитрат натрия). Образцы должны быть свежими и без гемолиза

Перед анализом сыворотку можно хранить неделю при (+2 – +8) °C или три месяца при –20 °C.

Недопустимо повторное замораживание и размораживание образца

Калибровка

Для калибровки используется АРО стандарт (Кат. № 10003240).

Для фотометрического определения концентрации АРО стандарта в исследуемом образце строится калибровочная кривая по пяти стандартам различной концентрации, получаемым из АРО стандарта постепенным разведением его физиологическим раствором в соотношении 1:1.

Например, если концентрация АРО стандарта равна 3,0 г/л, готовятся стандарты с концентрацией: 0,19-0,38-0,75-1,5-3 г/л (используемое разведение 1:16, 1:8, 1: 4, 1:2 и не разведенный стандарт).

Постройте калибровочную кривую.

Образец с концентрацией аполипопротеина В, превышающей максимальное значение стандарта, необходимо развести физиологическим раствором в 10 раз и повторить анализ. Результат умножить на фактор разведения.

Контроль качества

Для проведения контроля качества рекомендуется ЛИОНОРМ ЛИПИДНЫЙ КОНТРОЛЬ ГУМ Н, (Кат. № 10003286), ЛИОНОРМ ЛИПИДНЫЙ КОНТРОЛЬ ГУМ П, (Кат. № 10003287), контрольная сыворотка Bio-Rad LiquiCHECK™ Immunology Control или любые контрольные сыворотки со значениями аполипопротеина В, определенными иммунотурбидиметрическим методом.

Проведение анализа

Длина волны	340 нм
Оптический путь	1 см
Температура	37 °C
Образец/реакционная смесь	1/151
Объемы образца и реагентов могут быть изменены при сохранении соотношения реагент/образец	

	Образец	Стандарт	Реагент бланк
Стандарт	-	0,003 мл	-
Образец	0,003 мл	-	-
Дистил. вода	-	-	0,003 мл
Реагент 1	0,250 мл	0,250 мл	0,250 мл
Перемешать, инкубировать 5 мин при 37 °C. Измерить поглощение А1			
Реагент 2	0,05 мл	0,05 мл	0,05 мл
Перемешать, инкубировать 5 мин при 37 °C. Измерить поглощение А2			

Протоколы для использования на автоматических анализаторах могут быть получены по запросу.

Расчеты

Расчитать разницу А2-А1 для бланка, стандарта и образца.

$$\text{ApoB}(г/л) = C_{(\text{станд.})} \times \frac{(A_2 - A_1)_{\text{образец}} - (A_2 - A_1)_{\text{бланк}}}{(A_2 - A_1)_{\text{стандарт}} - (A_2 - A_1)_{\text{бланк}}}$$

$C_{(\text{станд.})}$ - концентрация стандарта

Нормальные величины

Apo B (г/л)

Мужчины 0,63 – 1,33

Женщины 0,60 – 1,26

Приведенные величины следует рассматривать как ориентировочные. Каждой лаборатории необходимо определять свои диапазоны.

Рабочие характеристики

Чувствительность/ Пределы определения

Нижний предел определения 0,01 г/л

Ноок эффект: Не наблюдается при концентрации Apo В до 8,0 г/л

Специфичность: антисыворотка против человеческого Apo В при иммуноэлектрофорезе и пассивной иммунодиффузии проявляется одной полосой.

Воспроизводимость (при 37 °C)

Внутрисерийная (число измерений n =10)	Среднеарифметическое значение (г/л)	SD (г/л)	CV (%)
Образец 1	0,49	0,007	1,4
Образец 2	0,99	0,028	2,8
Межсерийная (число измерений n =10)	Среднеарифметическое значение (г/л)	SD (г/л)	CV (%)
Образец 1	0,50	0,014	2,8
Образец 2	1,11	0,041	3,7

Сравнение методов

Сравнение было проведено на 35 образцах с использованием реагентов Pliva-Lachema аполипопротеин В (y) и имеющихся в продаже реагентов с коммерчески доступной методикой (метод иммунотурбидиметрии) (x).

Результаты: $y = 0,92x + 0,03$ г/л; $r = 0,951$

Специфичность/Влияющие вещества:

Триглицериды < 11,3 ммоль/л, гемоглобин < 200 мкмоль/л, билирубин < 500 мкмоль/л не влияют на результаты анализа (<10% или 2SD)

Стабильность калибровки зависит от анализатора. При работе на автоматических анализаторах > 4 недель

Меры предосторожности

Набор реагентов предназначен для in vitro диагностики профессионально обученным лаборантом.

Реагенты входящие в набор не содержат опасные вещества.

Биологический материал, используемый в производстве набора, проверен на отсутствие поверхностного антигена вируса гепатита В (HbsAg), антител к вирусу иммунодефицита человека (HIV) и антител к вирусу гепатита С (HCV). Так как риск заражения нельзя полностью исключить, поэтому работать с набором необходимо, как с потенциально инфицированным материалом.

В состав набора входит азид натрия. При работе необходимо соблюдать осторожность. Исключить прием внутрь, попадание на кожу и слизистые.

Первая помощь

При приеме внутрь следует прополоскать рот водой, выпить 0,5 л воды и вызвать рвоту. При попадании в глаза быстро промыть их проточной водой. При попадании на кожу необходимо промыть теплой водой с мылом. Во всех серьезных случаях обратиться к врачу.

Утилизация использованных материалов

Все образцы теста должны рассматриваться как потенциально инфицированные и вместе с остальными реагентами должны быть уничтожены в соответствии с существующими в каждой стране правилами для данного вида материалов.

Бумажная упаковка и другое (бумага, стекло, пластик) должны быть рассортированы для выброса с мусором или отправления на переработку.

Литература

1. Marcovina, S. M., Albers, International Federation of Clinical Chemistry: Standardization Project for Measurements of Apolipoproteins A1 and B. Clin. Chem. 37/10, (1991) 1676-1682
2. Marcovina, S. M., Albers, International Federation of Clinical Chemistry: Standardization Project for Measurements of Apolipoproteins A1 and B.III. Comparability of apolipoproteins A1 values by use of international reference material Clin. Chem. 39, (1993) 773-781
3. Tietz, N. W. Fundamentals of Clinical Chemistry. Saunders, Philadelphia 1987.
4. Zima, T.: Laboratorní diagnostika, Galén 2002

Дата проведения последнего контроля: 25.10.2013