АПОЛИПОПРОТЕИН B (apolipoprotein B (APO-B)) 93011

Иммунотурбидиметрический метод для определения аполипопротеина B в сыворотке.

IVD (для диагностики in vitro) Хранить при 2–8°C.

Код: 93011 1x45 мл буфер, 1x15 мл антисыворотка

ПРИНЦИП МЕТОДА

Тест на аполипопротеин B – это количественный иммунотурбидиметрический тест для определения аполипопротеина B (Апо B) в сыворотке и плазме человека. Антитела к Апо B при добавлении к пробам, содержащим Апо B, образуют нерастворимые комплексы. Эти комплексы вызывают изменение абсорбции пропорционально концентрации Апо B в пробе пациента. Концентрация в пробе Апо B определяется при сравнении с калибратором с известными значениями.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ[1]

Апо B – это основной структурный аполипопротеин в ЛПОНП (липопротеинах очень низкой плотности), ЛПНП ((липопротеинах низкой плотности)) и хиломикронах. Наиболее важная его функция – транспорт богатых триглицеридами липопротеинов из печени и кишечника в другие ткани. Апо B существует в двух формах: Апо B-100 и Апо B-48. Апо B-100 наиболее важный компонент ЛПНП, он синтезируется в печени и выделяется в плазму как часть ЛПОНП. Апо B-48 наиболее важный компонент хиломикронов, он синтезируется в кишечнике. Некоторые исследования демонстрируют, что люди с заболеваниями коронарных сосудов сердца (ЗКСС) имеют изменения в сывороточных концентрациях Апо A1 и АпоB аналогично изменениям в ЛПВП и ЛПНП соответственно и поэтому отчасти являются лучшими дискриминаторами для пациентов с ЗКСС, чем концентрации холестерина ЛПВП и ЛПНП. Гипербеталипопротеинемия характеризуется повышенными концентрациями ЛПНП Апо B-100 с нормальным или слегка повышенными концентрациями холестерина ЛПНП. Отношение хсЛПНП к Апо B-100 поэтому у таких пациентов снижается. Дефекты в структуре Апо B или липопротеинов, содержащих Апо B, препятствует секреции кишечных или печеночных липопротеинов, богатых триглицеридами. Это расстройство развивается при абеталипопротеинемии или гомозиготной гипобеталипопротеинемии.

РЕАГЕНТЫ

R1 дилюент	ТРИС-буфер 100 ммоль/л, ПЭГ 4000, pH 7,2. Азид натрия 0,95 г/л.
R2 антитела	Козья сыворотка, Антитела к человеческому аполипопротеину A1, pH 7.2. Азид натрия 0,95 г/л.
Дополнительно: не входит в набор	Калибратор аполипопротеинов (APO CAL), кат.№ 93005.

КАЛИБРОВКА

Тест и значение калибратора были стандартизованы по Certified Reference Material WHO/IFCC SP3-07 (CDC, USA). Для калибровки рекомендуется использовать Калибратор APO CAL, кат.№ 93005.

ПОДГОТОВКА

Реагенты: готовы к использованию.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Все компоненты набора стабильны вплоть до указанной на этикетке даты (Expiration Date) при хранении в плотно закрытом флаконе при 2-8°C с предотвращением контаминации при использовании. Не используйте реагенты после окончания срока годности.

Признаки порчи реагентов: присутствие частиц или мутности.

Не замораживайте, замороженные антитела или дилюент могут изменять функциональную активность.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Термостат с 37°C.

Спектрофотометр или термостатируемый анализатор (37°C) с фильтром 340нм.

ПРОБЫ

Свежие сыворотка или плазма. В качестве антикоагулянтов должны быть использованы гепарин или ЭДТА. Стабильность 2 недели при 2-8°C или 3 месяца при –20°C. Пробы с фибрином должны быть центрифугированы перед тестированием. Не используйте гемолизированные или липемические пробы.

ПРОЦЕДУРА

1. Доведите реагенты и анализатор (держатель кюветы) до 37°C.
2. Условия теста:

Длина волны:	340 нм
Температура:	37°C.
Оптический путь:	1см
Бланк:	по рабочему реагенту
Метод:	кинетика по фиксир. Времени по стандарту, задержка – 3с, реакция – 300с.

3. Установите прибор на ноль по дистиллированной воде.

4. Отдозируйте в кюветы:

	Обычный метод		Микрометод	
	Проба	Стандарт	Проба	Стандарт
Дилюент (R1)	750 мкл	750 мкл	375 мкл	375 мкл
Проба или калибратор	8 мкл	8 мкл	4 мкл	4 мкл

5. Перемешать и измерить абсорбцию (A_1) при 340 нм против бланка по дистиллированной воде.
6. Сразу отдозируйте в кюветы:

Антитела (R2)	250 мкл	250 мкл	125 мкл	125 мкл

7. Перемешать и измерить абсорбцию (A_2) при 340 нм против бланка по реагенту точно через 5 минут после добавления реагента R2.

У Spinreact есть адаптации к различным автоматическим анализаторам, которые доступны по запросу.

РАСЧЕТ

Рассчитайте изменение абсорбции ΔA (A_2–A_1) для каждой пробы и стандарта.

$$\text{Концентрация Апо B (мг/дл)} = \frac{\Delta A \text{ пробы}}{\Delta A \text{ калибратора}} \times C \text{ калибратора.}$$

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля характеристик ручных и автоматических процедур рекомендуется использовать контроль аполипопротеинов Spinreact (кат.№: 93006). Каждая лаборатория должна представить свою собственную схему контроля качества и действия по исправлению, если контроли вне приемлемых диапазонов.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ[4]

69 – 105 мг/дл. Каждая лаборатория должна представить свой референсный диапазон.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

1. ***Линейность***: до 200 мг/дл (Примечание 1), при описанных выше условиях. Пробы с большими концентрациями должны быть разведены 1/5 физраствором (NaCl 9г/л) и тестированы повторно, результат умножить на 5. Предел линейности зависит от соотношения проба/реагент. Он будет повышаться при снижения объема сыворотки, при этом также будет пропорционально снижаться чувствительность.
2. ***Определяемый уровень***: Значения ниже 2 мг/дл дают невоспроизводимые результаты.
3. ***Эффект прозоны***: нет эффекта прозоны до 280 мг/дл.
4. ***Чувствительность***: Δ 4.48 mA / мг/дл (107 мг/дл).
5. ***Воспроизводимость***:

	Внутри серии тестов (n=10)		
Среднее (мг/дл)	54.5	86.4	116.7
SD	0.45	0.60	1.40
CV %	0.82	0.76	1.21

Между сериями тестов (n=5)	
382.9	170.6
0.65	1.10
0.79	0.64

6. ***Правильность***: результаты, полученные с помощью этого теста (y) при сравнении с другими, полученными с использованием коммерческих реагентов (x) с похожими характеристиками, не давали систематических различий. Результаты обследования 50 пациентов в диапазоне Апо B 40–160 мг/дл были следующими: Коэффициент корреляции: (r) 0,980. Уравнение регрессии: y=0,927x + 5,96.

Результаты характеристик теста зависят от используемого анализатора.

ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

Не наблюдается интерференции с гемоглобином (до 0,5 г/л), билирубином (до 40 мг/дл) и липидами (до 20 г/л). Другие вещества могут оказывать влияние[6,7].

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Линейность зависит от концентрации калибратора.
2. Клинический диагноз не должен ставиться по результатам одиночного теста; он должен быть основан на совокупности клинических и других лабораторных данных.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Phipladelphia, 483, 1983.
2. Mahley RW et al. J Lipids Res 1984; 25: 1277-1294.
3. Rifai N Arch Pathol Lab Med 1986: 110: 694-701.
4. Freedman DS et al. N Eng J Med 1986; 315: 721-726.
5. Sakurabayashi I et al. Clinica Chimica Acta 2001; 312: 87-95.
6. Young DS.Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.
7. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3tn ed. AACC Pres, 1997.