

^LApo B (Apolipoprotein B)

Diagnostická reagensie pro kvantitativní in vitro stanovení apolipoproteinu B (Apo B) v séru nebo plazmě fotometricky.

Katalogové číslo:

BV 30031

150 ml (5 x 25 ml + 1 x 25 ml)

Shrnutí^{1,2}:

Apolipoprotein B (Apo B) je hlavní proteinovou složkou lipoproteinu s nízkou hustotou (LDL), který transportuje cholesterol k buňkám, a tudíž přispívá k tvorbě aterosklerotického plátu v cévách. Zvýšené hladiny Apo B významně souvisí s koronárním srdečním onemocněním (CHD) vzhledem k úzkému vztahu mezi Apo B a stupněm aterosklerózy. Zatímco stanovení celkového cholesterolu a triacylglycerolů se používá pro screening rizika koronárního onemocnění, měření Apo B poskytuje kromě apolipoproteinu A-I a lipoproteinu (a) užitečné informace týkající se metabolismu lipoproteinů a může být alternativou stanovení LDL-cholesterolu. Měření Apo B jsou rovněž velmi užitečná při monitorování terapie snižování hladiny lipidů.

Metoda:

Imunoturbidimetrické stanovení.

Princip:

Stanovení koncentrace Apo B pomocí fotometrického měření je založeno na reakci antigen-protilátka mezi protilátkami proti lidskému apolipoproteinu B a apolipoproteinem B přítomným ve vzorku.

Reagensie:

Složení soupravy:

R1:

Tris pufr pH 7,5 100 mmol/l

R2:

Tris pufr pH 7,5 65 mmol/l

Protilátka (koží) proti lidskému Apo B < 1%

Skladování a stabilita:

Diagnostické použití in vitro.

Reagensie, skladované při 2-8°C, jsou stabilní do konce měsíce deklarovaného data na balení. Zabránit kontaminaci.

Reagensie nesmí zmrznout. Chránit před světlem.

Příprava reakčních roztoků:

Činidla R1 a R2 jsou připravena k přímému použití a skladované při 2-8°C, jsou stabilní do konce měsíce deklarovaného data na balení. Reagensie nezamrazujte!

Další potřebné materiály:

NaCl roztok 9 g/l

Obecné laboratorní vybavení.

Vzorek:

Sérum, plazma (heparinizovaná nebo EDTA).

Stabilita³: 1 den při 20–25°C

3 dny při 4–8°C

2 měsíce při –20°C

Toto neplatí v případě opakovaného zamrazování.

Nutno zabránit kontaminaci vzorku.

Pracovní postup:

Aplikace pro automatické analyzátory je dostupná na vyžádání.

Vlnová délka: 340 nm

Kyveta: 1 cm

Teplota: 37°C

Měření: proti reagenčnímu blanku

	Vzorek / µl	Standard / µl	Blank / µl
Vzorek	2,5	-	-
Dest. voda	-	-	2,5
Standard	-	2,5	-
R1	250	250	250

Promíchat a 3–5 minuty inkubovat (37°C), změřit absorbanci A₁ vzorku (A_s), standardu (A_{st}) a blanku (A_{bl}), potom přidat:

R2	50	50	50
----	----	----	----

Promíchat a 5 minut inkubovat (37°C), změřit absorbanci A₂ vzorku (A_s), standardu (A_{st}) a blanku (A_{bl}).

Výpočet:

Koncentrace Apo B v neznámém vzorku je odvozena z kalibrační křivky pomocí vhodného matematického modelu jako je logit/log. Kalibrační křivku sestojte pomocí sady 5 kalibrátorů s různými hodnotami koncentrace a pro stanovení nulové hodnoty použijte 0,9% NaCl.

Stabilita kalibrace: 4 týdny

Jednotlivé body kalibrační křivky určíme podle vztahu:

$$C_{\text{Apo B}} = C_{\text{st}} \cdot (\Delta A_s - \Delta A_{\text{bl}}) / (\Delta A_{\text{st}} - \Delta A_{\text{bl}}) \quad [\text{g/l}]$$

C_{st}koncentrace Apo B v jednotlivých standardech uvedená v atestu [g/l]

A_s absorbance vzorku

A_{st} absorbance standardu

A_{bl} absorbance blanku

Výsledek se vydá v g/l, na 2 platná desetinná místa.

Konverzní faktor:

$$\text{Apo B (g/l)} \cdot 1,82 = \text{Apo B (}\mu\text{mol/l)}$$

Kalibrace:

Ke kalibraci je doporučen ^DKalibrátor Apo A-I/B (k.č. BV 50035). Přímá návaznost tohoto kalibrátoru je na referenční

standard SP3-07. Koncentrace byla stanovena s celkovou nejistotou $U_{cal} = 10,5 \%$.

Řízení kvality:

Pro vnitřní kontrolu kvality platí doporučení ČSKB SIKK, které je dostupné na webové stránce <http://www.cskb.cz> a pro externí hodnocení kvality je třeba využít některý komerčně dostupný systém, jehož výsledky jsou v ČR akceptovány. Bližší informace na <http://www.sekk.cz>

Pro vnitřní kontrolu kvality použijte kontrolní séra s deklarovanou hodnotou koncentrace Apo B:

^D BV Lipid – Level 1 kat.č. BV 30029 3 ml

^D BV Lipid – Level 2 kat.č. BV 30039 3 ml

Referenční hodnoty:

Ženy 0,75 – 1,50 g/l (1,37 – 2,73 $\mu\text{mol/l}$)

Muži 0,80 – 1,55 g/l (1,46 – 2,82 $\mu\text{mol/l}$)

Střední hodnoty jsou v souladu s hodnotami uváděnými v ⁴. Každá laboratoř by si měla ověřit, jestli jsou tyto referenční hodnoty vhodné i pro jejich populaci pacientů a stanovit svoje vlastní referenční hodnoty pokud je to nutné.

Klinická interpretace²: Několik studií ukazuje, že rostoucí koncentrace Apo B ($> 1,50 \text{ g/l}$ u žen a $> 1,55 \text{ g/l}$ u mužů) a klesající koncentrace Apo A-I ($< 1,20 \text{ g/l}$ u žen a $< 1,10 \text{ g/l}$ u mužů) mohou být ukazateli rizika vzniku CHD.

Měřicí rozsah:

0,003 - 2,5 g/l

Funkční senzitivita/mez stanovitelnosti:

0,003 g/l

Analytická senzitivita/citlivost:

0,0015 g/l

Bias:

5,9% (pro 0,96 g/l)

Nejistota:

Byla stanovena z nejistoty kalibračního materiálu a nejistoty měření jako rozšířená standardní nejistota ($k=2$)

$$U_s = 2\sqrt{(U_{cal}^2 + U_{method}^2)} = 2\sqrt{(21^2 + 2,59^2)} = 42,32\%$$

Analytická selektivita:

Protilátky použité v tomto stanovení jsou specifické proti lidskému Apo B. Stanovení není ovlivňováno kyselinou askorbovou do 1,4 mmol/l, bilirubinem do 599 $\mu\text{mol/l}$, hemoglobinem do 5 g/l a lipémií do 22 mmol/l triacylglycerolů.

Nebyla pozorována zkřížená reakce s Apo A-I a Apo A-II za normálních testovacích podmínek. Pro více informací o interferujících látkách viz Young DS⁵.

Prozone limit:

10,00 g/l

Přesnost:

Přesnost v sérii: ($n=20$)

Vzorek	Průměr g/l	SD g/l	CV %
vzorek 1	0,24	0,006	2,63
vzorek 2	0,95	0,023	2,45
vzorek 3	1,56	0,034	2,18

Přesnost ze dne na den: ($n=20$), denní kalibrace

Vzorek	Průměr g/l	SD g/l	CV %
vzorek 1	0,31	0,007	2,38
vzorek 2	0,64	0,012	1,84
vzorek 3	1,49	0,052	3,46

Přesnost ze dne na den: ($n=20$), jednorázová kalibrace

Vzorek	Průměr g/l	SD g/l	CV %
vzorek 1	0,25	0,007	2,89
vzorek 2	0,91	0,023	2,55
vzorek 3	1,58	0,038	2,38

Srovnání metod:

Srovnání stanovení mezi diagnostickou soupravou BioVendor ^LApo B (y) a komerčně dostupnou imunoturbidimetrickou soupravou (x) bylo provedeno na 63 vzorcích. Rovnice regresní přímky má tvar: $y = 1,08 x - 0,0512 \text{ g/l}$; $r = 0,990$.

Upozornění:

1. Při koncentraci Apo B nad 2,50 g/l je nutné vzorek ředit fyziologickým roztokem 1 + 1 a výsledek násobit 2 x.

2. Kalibrátory nejsou součástí setu. Na přání je možné je objednat. Jsou lyofilizované, koncentrace Apo B v g/l je uvedena v příbalovém letáku. Skladování: oteřené i uzavřené lahvičky při 2–8°C. Stabilita: lyofilizované až do deklarovaného data na lahvičce, rekonstituované 30 dní při 2–8°C. Kalibrace s těmito kalibrátory je vhodná pro sestrojení kalibrační křivky, stabilita kalibrace je 4 týdny.

3. Kontroly nejsou součástí setu. Na přání je možné je objednat. Kontroly (lyofilizáty) jsou založeny na lidské matrici. Koncentrace Apo B v g/l je uvedena v příbalovém letáku.

Stabilita: lyofilizované až do deklarovaného data na lahvičce, rekonstituované 1 měsíc při -20°C a 5 dní při 2–8°C.

4. Kalibrátory a kontroly byly připraveny z lidského séra od dárců, kteří byli testováni na ne-přítomnost HIV protilátek, HBsAg a HCV pomocí FDA schválených testů, ovšem riziko infekce nemůže být úplně vyloučeno. S kalibrátory a kontrolou by tedy mělo být zacházeno opatrně, jako se vzorky pacientů.

5. Reagencie jsou konzervovány azidem sodným (0,095%), zabraňte styku s pokožkou a sliznicemi.

6. Reagencie 2 obsahuje biologický materiál **zvířecího původu**. Pracujte s produktem jako s potencionálně infekčním podle všeobecných opatření a zásad dobré laboratorní praxe.

7. Ve vzácných případech, vzorky pacientů s gamapathii mohou dávat falešné výsledky. [6]

8. Při práci s touto reagencí dodržujte nutná bezpečnostní opatření v souladu s bezpečnostním listem. Určeno pro diagnostické účely, výsledky by měly být vždy hodnoceny

s ohledem na zdravotní historii pacienta, klinické zkoušky a další závěry.

9. Pouze pro odborně vyškolený personál!

10. Likvidujte v souladu s platnými předpisy.

Literatura:

1. Bhatnagar D, Durrington PN. Measurement and clinical significance of apolipoproteins A-I and B. In: Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, eds. Handbook of lipoprotein testing. Washington: AACC Press, 1997:p.177-98.
2. Rifai N, Bachorik PS, Albers JJ. Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 809-61.
3. Guder WG, Zatwa B et al. The quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: Git Verlag, 2001: 18-9
4. Jungner I, Marcovina SM, Walldius G, Holme I, Kolar W, Steiner E. Apolipoprotein B and A-I values in 147576 Swedish males and females, standardized according to the World Health Organization-International Federation of Clinical Chemistry First International Reference Materials. Clin Chem 1998;44:1641-9.
5. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
6. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.

Vyrobeno:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Karásek 1767/1, 621 00 Brno, Česká republika