

^LLp(a) (Lipoprotein (a)) 21

Diagnostická reagentie pro kvantitativní in vitro stanovení lipoproteinu (a) v séru nebo plazmě fotometricky.

Katalogové číslo:

BV 31001

150 ml (4 x 25 ml + 2 x 25 ml)

Shrnutí^{1,2}:

Lipoprotein (a) [Lp(a)] je částice, která se skládá z molekuly LDL (LDL: lipoprotein s nízkou hustotou) vázané na apolipoprotein (a), která může mít různé velikosti v závislosti na izoformách. Zdá se, že apolipoprotein (a) může inhibovat fibrinolýzu, která vzhledem ke značné strukturální homologii soupeří s plazminogenem, což je efekt, který není možno pozorovat u LDL bez apolipoproteinu (a). Lp(a) je považován za aterogenní rizikový faktor, který je nezávislý na dalších lipidových parametrech a na exogenních faktorech, jako je např. dieta. Zvýšené hladiny Lp(a) mají vysokou prediktivní hodnotu pro koronární srdeční onemocnění, zejména v kombinaci se zvýšenými hladinami LDL cholesterolu. Zatímco stanovení celkového cholesterolu a triacylglycerolů se používá pro účely screeningu, měření Lp(a) je, kromě LDL cholesterolu, HDL cholesterolu, apolipoproteinu A I a apolipoproteinu B, cenným nástrojem pro diferenciální diagnózu koronárních srdečních onemocnění.

Metoda:

Imunoturbidimetrické stanovení pomocí obohacených částic.

Princip:

Stanovení koncentrace Lp(a) je založeno na reakci antigen-protilátka mezi protilátkami proti Lp(a) navázanými na částicích a Lp(a) přítomným ve vzorku.

Reagentie:

Latexové částice potažené protilátkou lipoprotein (a) (králíčí)

Diagnostické použití in vitro.

Reagentie, skladované při 2-8°C, jsou stabilní do konce měsíce uvedeného na balení. Zabránit kontaminaci. Reagentie nesmí zmraznout.

Složení soupravy:

Poznámka: Uvedené koncentrace jsou ve směsi ve výsledném testu

R1:

Glycinový pufr pH 8,3 < 1,5%

R2:

Glycinový pufr pH 8,2 < 1,5%

Latexové částice potažené protilátkami Lp(a) protilátkami (králíčími)

Příprava reakčních roztoků:

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

Vzorek:

Sérum, plazma (heparinizovaná nebo EDTA).

Stabilita³: 2 dny při 20-25°C

2 týdny při 4-8°C

3 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: 700 nm

Kyveta: 1 cm

Teplota: 37°C

Měření: proti reagenčnímu blanku

	Vzorek / μ l	Standard / μ l	Blank / μ l
Vzorek	15	-	-
Dest. voda	-	-	15
Standard	-	15	-
R1	600	600	600

Promíchat a 3-5 minut inkubovat (37°C), potom přidat:

R2	300	300	300
----	-----	-----	-----

Promíchat, v průběhu 30 sec., změřit absorbanci A_1 vzorku (A_s), standardu (A_{st}) a blanku (A_{bl}). Inkubovat 5 min (37°C) a změřit absorbanci A_2 vzorku (A_s), standardu (A_{st}) a blanku (A_{bl}).

Výpočet:

Koncentrace Lp(a) 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:

$$C_{Lp(a)} = C_{st} \cdot (\Delta A_s - \Delta A_{bl}) / (\Delta A_{st} - \Delta A_{bl}) \quad [\text{mg/l}]$$

C_{st} koncentrace Lp(a) v jednotlivých standardech uvedená v atestu

[mg/l]

A_s absorbance vzorku

A_{st} absorbance standardu

A_{bl} absorbance blanku

Výsledek se vydá v mg/l, bez desetinných míst.

Kalibrace:

Ke kalibraci je doporučen kalibrátor ^LLp(a) – kalibrační set (k.č. BV 51080). Přímá návaznost tohoto kalibrátoru pro hodnoty uvedené v mg/l je na referenční přípravu. Pro hodnoty uvedené v nmol/l je přímá návaznost na WHO/IFCC referenční materiál SRM 2B (PRM IFCC Standard). Koncentrace byla stanovena s rozšířenou nejistotou ($k=2$) $U_{cal} < 10\%$.

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 Lp(a):

^L Lp(a) – kontrola Level 1 kat.č. BV 31005 1 ml

^L Lp(a) – kontrola Level 2 kat.č. BV 31006 1 ml

Referenční hodnoty:

$< 75 \text{ nmol/l}^6$ pro bělochy

$< 300 \text{ mg/l}^5$

Každá laboratoř by si měla ověřit, zda může použít referenční rozmezí pro svoje pacienty a pokud je to nutné, měla by si vytvořit svoje vlastní.

Měřicí rozsah:

6 – 260 nmol/l nebo 30 – 1100 mg/l, nejméně do koncentrace nejvyššího kalibrátoru

Funkční senzitivita/mez stanovitelnosti:

6 nmol/l nebo 30 mg/l

Analytická senzitivita/citlivost:

3 nmol/l nebo 15 mg/l

Bias:

7,2% (pro 235 mg/l)

Nejistota:

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

$$U_{st} = 2\sqrt{(U_{cal}^2 + U_{method}^2)} = 2\sqrt{(10^2 + 3,43^2)} = 21,14\%$$

Analytická selektivita:

Protilátky použité v tomto stanovení jsou specifické proti lidskému Lp(a). Stanovení není ovlivňováno bilirubinem do 684 $\mu\text{mol/l}$, hemoglobinem do 5 g/l, lipémií do 22 mmol/l triacylglycerolů a RF do 500 IU/ml.

Při těchto podmínkách nebyla pozorována žádná zkřížená reaktivita s plazminogenem a Apo B. Pro více informací o interferujících látkách viz Young DS⁴.

Prozone limit:

800 nmol/l nebo 4000 mg/l

Přesnost:

Přesnost v sérii: ($n=20$)

Vzorek	Průměr mg/l	SD mg/l	CV %
vzorek 1	269	5,40	2,00
vzorek 2	329	5,57	1,69
vzorek 3	523	5,28	1,01

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

Vzorek	Průměr mg/l	SD mg/l	CV %
vzorek 1	262	8,03	3,06
vzorek 2	322	7,20	2,24
vzorek 3	522	10,8	2,06

Srovnání metod:

Srovnání stanovení mezi diagnostickou soupravou BioVendor ^LLp(a) 21 (x) a komerčně dostupnou reagentií (y) bylo provedeno na 36 vzorcích. Rovnice regresní přímky má tvar: $y = 0,952x - 25,8 \text{ mg/l}$; $r = 0,990$.

Srovnání stanovení mezi diagnostickou soupravou BioVendor ^LLp(a) 21 (x) a komerčně dostupnou reagentií (y) bylo provedeno na 36 vzorcích. Rovnice regresní přímky má tvar: $y = 1,01x + 18,9 \text{ mg/l}$; $r = 0,980$.

Srovnání stanovení mezi diagnostickou soupravou BioVendor ^LLp(a) 21 (y) a NWLRL* systémem stanovení⁵ bylo provedeno na 20 vzorcích. Rovnice regresní přímky má tvar: $y = 0,94x + 5,50 \text{ nmol/l}$; $r = 0,997$. * Northwest Lipid Research Laboratories

Upozornění:

1. Při koncentraci Lp(a) nad 260 nmol/l (1100 mg/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 Lp(a) je uvedena v příbalovém letáku. Skladování: oteřené i uzavřené lahvičky při 2–8°C. Stabilita: lyofilizované až do deklarovaného data na lahvičce, rekonstituované 14 dní při 2–8°C. Kalibrace s těmito kalibrátory je vhodná pro sestavení 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 Lp(a) je uvedena v příbalovém letáku. Stabilita: lyofilizované až do deklarovaného data na lahvičce, rekonstituované 14 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 obsahují biologický materiál. Manipulujte s produktem jako s potenciálně infekčním podle všeobecných pravidel a dobré laboratorní praxe.

7. Ve vzácných případech, vzorky pacientů s gamapathii mohou dávat falešné výsledky. [8]

8. Při práci s touto reagicí 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 použití odborně vyškoleným personálem!

10. Likvidujte v souladu s platnými předpisy.

Literatura:

1. Rifai, N., Bachorik, P.S., Albers, J.J. Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. In: Burtis, C.A., Ashwood, E.R., editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1999: p. 809 – 61.

2. Marcovina, S.M., Koschinsky, M.L. Lipoprotein (a): Structure, measurement and clinical significance. In: Rifai, N., Warnick, G.R., Dominiczak, M.H., eds. Handbook of lipoprotein testing. Washington: AACC Press, 1997: p. 283 – 313.

3. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001. p. 36-37.

4. 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.

5. Riesen, W.F. Lipid metabolism. In: Thomas, L., editor. Clinical laboratory diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH – Books Verlagsgesellschaft, 1998. p. 71 – 80.

6. Marcovina SM, Koschinsky ML et al. Report of the national heart, lung, and blood institute workshop of Lipoprotein(a) and cardiovascular disease: recent advances and future directions. Clin Chem 2003; 49(11): 1785-96.

7. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Ginsberg HN. Lipoprotein (a): EAS Recommendations for Screening, Desirable Levels and Management. The European Atherosclerosis Society (EAS) Consensus Panel 2012.

8. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: Mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007; 45(9): 1240–1243.

Vyrobeno:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.,
Karásek 1767/1, 621 00 Brno, Česká republika