

## Przeznaczenie

Do ilościowego oznaczania cholesterolu lipoprotein o dużej gęstości w ludzkiej surowicy lub osoczu za pomocą analizatorów Yumizen C230 i Yumizen C240. Wyłącznie do diagnostyki *in vitro*. **Rx Only**.

## Streszczenie

Lipoproteiny to cząstki o kulistym kształcie, które zawierają różne ilości cholesterolu, trójglicerydów, fosfolipidów i białek. Fosfolipidy i białka tworzą zewnętrzną powierzchnię cząsteczki lipoproteiny, podczas gdy rdzeń składa się głównie z cholesterolu w postaci estryfikowanej i trójglicerydów. Celem cząsteczek lipoprotein jest transport cholesterolu i trójglicerydów przez krwiobieg.

Względne ilości składników białkowych i lipidowych określają gęstość cząstek lipoprotein i stanowią podstawę ich klasyfikacji.<sup>1</sup> Te klasy to: chylomikrony, lipoproteiny o bardzo małej gęstości (VLDL), lipoproteiny o małej gęstości (LDL) i lipoproteiny o wysokiej -lipoproteiny gęstości (HDL). Przeprowadzono wiele badań klinicznych, które wykazały, że te cząsteczki lipoprotein mają bardzo wyraźny i zróżnicowany wpływ na ryzyko choroby niedokrwiennej serca.<sup>2</sup> Rola cząstek HDL w metabolizmie lipidów polega przede wszystkim na wychwytywaniu i transporcie cholesterolu z tkanek obwodowych do wątroby. Proces ten znany jest jako odwrotny transport cholesterolu i został zaproponowany jako mechanizm ochronny układu sercowo-naczyniowego.<sup>3</sup> Niski poziom HDL-C był wielokrotnie wiązany ze zwiększonym ryzykiem choroby niedokrwiennej serca i choroby niedokrwiennej serca.<sup>4-9</sup> Zatem oznaczanie stężenia Cholesterolu HDL został uznany za przydatne narzędzie w identyfikacji pacjentów wysokiego ryzyka. Panel Leczenia Dorosłych Narodowego Programu Edukacji Cholesterolowej (NCEP) zaleca, aby wszyscy dorośli w wieku 20 lat i starsi mieli mierzone poziomy cholesterolu całkowitego i cholesterolu HDL co najmniej raz na 5 lat w celu wykrycia ryzyka choroby niedokrwiennej serca.<sup>9</sup> Metoda referencyjna CDC dla cholesterolu HDL wykorzystuje ultrawiórowanie, a następnie precipytację chemiczną w celu oddzielenia HDL od innych lipoprotein, a następnie pomiar cholesterolu przy użyciu zmodyfikowanego testu Abell-Kendall.<sup>10</sup> Ta metoda jest uważana za zbyt czasochłonną i pracochłonną, aby można ją było stosować w rutynowych analizach.<sup>11</sup> W przeszłości większość laboratoriów stosowała jedną z kilku metod selektywnego wytrącania i usuwania LDL i VLDL, a następnie enzymatyczny pomiar HDL-C we frakcji supernatantu.<sup>10</sup> Ponieważ prawie wszystkie te metody wymagały ręcznego rozdzielania, oznaczanie cholesterolu HDL nie mógł być w pełni zautomatyzowany. Również rozcieńczenie próbki skutkowało oznaczeniem enzymatycznym cholesterolu z niską czułością. W rezultacie rutynowe oznaczanie cholesterolu HDL ucierpiało zarówno z powodu długiego czasu realizacji, jak i słabej powtarzalności.

## Zasada metody

Test Liquid autoHDL™ Cholesterol to jednorodna metoda bezpośredniego pomiaru poziomu HDL-C w surowicy bez konieczności wstępnej obróbki lub wirowania w trybie off-line. Metoda jest w formie dwóch odczynników. Pierwszy odczynnik zawiera -cyklodekstrynę i siarczan dekstranu do stabilizacji LDL, VLDL i chylomikronów. Drugi odczynnik zawiera enzymy modyfikowane PEG, które selektywnie reagują z cholesterolem obecnym w cząstkach HDL. W związku z tym pomiarowi podlega tylko cholesterol HDL.

## Odczynniki

R1: -cyklodekstryna 0,5 mM, siarczan dekstranu 0,5 g/l, chlorek magnezu 2,0 mM, HSDA 0,3 g/l, bufor, pH 7,0 ± 0,1, środek konserwujący.

R2: POD>15 000 U/L, PEG-CO>5000 U/L, PEG-CE>800 U/L, 4-aminoantypiren 0,5 g/L, bufor, pH 7,0 ± 0,1, środek powierzchniowo czynny, środek konserwujący.

HSDA = N-(2-hydroksy-3-sulfopropylo)-3,5-dimetoksyanilina sodu.

PEG-CO = oksydaza cholesterolowa z *Nocardia* sp.

PEG-CE = esteraza cholesterolu z *Pseudomonas*

POD = peroksydaza z chrzanu

## Przygotowanie odczynnika

Odczynnik 1: Odczynnik 1 jest gotowy do użycia.

Odczynnik 2: Odczynnik 2 jest gotowy do użycia.

## Przechowywanie oraz stabilność odczynnika

Wszystkie odczynniki zachowują stabilność do daty ważności podanej na etykiecie zestawu, jeśli są przechowywane w temperaturze 2–8°C.

## Środki ostrożności

1. Do użytku diagnostycznego *in vitro*.
2. Nie pipetować ustami.
3. Wszystkie próbki użyte w tym teście należy uznać za potencjalnie zakaźne. Podczas obchodzenia się z materiałami i ich usuwania w trakcie i po badaniu należy stosować uniwersalne środki ostrożności, jakie mają zastosowanie w danej placówce.
4. Nie używać odczynnika po upływie daty ważności wydrukowanej na zestawie.

## Pobieranie i przechowywanie próbek

Zalecanymi próbkami są surowica, osocze potraktowane EDTA lub heparynizowane.

Surowica: Pobrać pełną krew przez nakłucie żyły i pozostawić do skrzepnięcia. Odwirować i usunąć surowicę jak najszybciej po pobraniu. (w ciągu 3 godzin).<sup>10</sup>

Osocze: Próbkę można pobierać na EDTA lub heparynę. Odwirować i usunąć osocze jak najszybciej po pobraniu (w ciągu 3 godzin).<sup>10</sup>

W przypadku braku szybkiej analizy próbki można przechowywać w temperaturze 2–8°C przez okres do 1 tygodnia. Jeśli próbki muszą być przechowywane dłużej niż 1 tydzień, można je przechowywać w temperaturze niższej niż -20°C przez okres do 1 miesiąca. W przypadku przechowywania od 1 miesiąca do 2 lat próbki należy przechowywać w temperaturze -70°C.<sup>10</sup>

## Interferences

Wszystkie badania interferencji przeprowadzono zgodnie z procedurami zalecanymi w wytycznych NCCLS NO. EP7-P do badania interferencji w chemii klinicznej.<sup>12</sup> Stwierdzono, że poziomy hemoglobiny do 100 mg/dl i bilirubiny do 20 mg/dl wykazują znikomą interferencję (<5%) w tej metodzie. Próbkę z poziomami substancji przeszkadzających wyższymi niż górne limity należy przed oznaczeniem rozcieńczyć roztworem soli fizjologicznej. Zapoznaj się z pracą Younga, aby zapoznać się z przeglądem wpływu leków na poziomy cholesterolu HDL w surowicy.<sup>13</sup>

## Materiały zapewnione

Płynny zestaw odczynników cholesterolu autoHDL™

**Nr katalogowy 12-H7545-162**

Odczynnik 1 3 x 40 ml

Odczynnik 2 3 x 14 ml

## Materiały wymagane ale niedostarczane

1. Kalibrator cholesterolu Pointe autoHDL/LDL, numer katalogowy H7545-CAL
2. Kontrola cholesterolu Pointe HDL
3. Analizator Yumizen C230 / Yumizen C240
4. Instrukcja obsługi Yumizen C230 / Yumizen C240

## Procedura

Poniżej znajduje się ogólny przykład procedury testowej autoHDL™ dla zautomatyzowanego analizatora. Wszystkie aplikacje analizatorów powinny być walidowane zgodnie z zaleceniami NCEP i CLIA.<sup>10</sup> Aby uzyskać pomoc dotyczącą aplikacji na analizatorach automatycznych, prosimy o kontakt z Działem Obsługi Technicznej.

		37°C		37°C	
Próbka +	Odcz. 1	---	Odcz. 2	---	Pomiar (różnica absorbancji między
4ul	300ul	5min.	100ul	5min.	700nm & 600nm)
					V
					Wynik HDL-C

# Pointe autoHDL™ Cholesterol Reagent Set

## Parametry testu

Test:	HDL	Nazwa chem: Auto HDL
Numer:	218	Cholesterol Wydruk: HDL
Typ reakcji:	Punktu końcowego	Cholesterol Kierunek reakcji:
Dł. Fali I:	546 nm	Rosnąca
Miejsca dziesiętne:	0.1	Dł. Fali II: 670 nm
Próba ślepa:		Cykl inkubacji: 18
Jednostka	mg/dL	

	Obj. próbki	Aspiracja	Rozcieńczalnik	Obj. odczynnika	Rozcieńczalnik
Prawidłowa:	3	uL	uL	180	uL
Zmniejszona:		uL	uL	60	uL
Zwiększona:		uL	uL		

Zakres liniowości (Prawidłowy):	2-150	Limit liniowości:	
Zakres liniowości (Zmniejszony):		Zużycie substratu:	
Zakres liniowości (Zwiększony):		Mieszana abs. próby ślepej	- 40000 40000
Abs. R1/próba ślepa:	- 40000 40000	Stabilność na pokładzie:	30 Dni
Próba ślepa	- 40000 40000	Limit alarmu odczynnika:	5

Chemia bliźniacza:

Efekt Prozone:

Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Użyj wyniku jakościowego:

Zakres:                      Flagi:

Przesunięcie i nachylenie

Przesunięcie	Nachylenie	Jednostka
1	0	mg/dL

Przygotowanie:

Objętość próbek:                      uL                      Objętość odczynnika:                      uL

Zakres referencyjny:

Typ próbki: Płec:                      Zakres dla wieku:                      Zakres ref.:                      Wartości krytyczne:                      Jednostka:

## Parametry kalibracji

Chem: HDL  
 Ustawienia kalibracji  
 Model mat: Dwupunktowa liniowa  
 Factor: Powtórzenia:  
 2 Akceptowalne limity 336  
 Ważność kalibracji: godz.  
 Różnica nachylenia: SD:  
 Czulość:                      Powtarzalność:  
 Współczynnik determinacji:  
 Automatyczna kalibracja  
 Po upływie ważności kalib.

Kalibrator	Stężenie	Poz	Nr serii
Woda	0.0	W	
HDL/LDL Cal	*	*	

\* Zdefiniowane przez użytkownika

## Ograniczenia

- Nie należy stosować antykoagulantów zawierających cytrynian.
- Chronić odczynnik przed bezpośrednim działaniem promieni słonecznych.
- Przechowywać odczynnik zgodnie z instrukcją.
- Próbki o wartościach powyżej 150 mg/dl należy rozcieńczyć solą fizjologiczną w stosunku 1:1 i ponownie oznaczyć. Wynik pomnoż przez dwa.

## Kalibracja

Kalibrator autoHDL/LDL™ Cholesterol Calibrator jest wymagany do kalibracji. Wartość kalibratora autoHDL/LDL™ została wyznaczona za pomocą procedur zgodnych z Krajowym Systemem Referencyjnym Cholesterolu (NRS/CHOL). Instrukcje znajdują się w ulotce dołączonej do zestawu autoHDL/LDL™ Cholesterol Calibrator. Jeśli wyniki kontroli okażą się poza zakresem, procedurę należy ponownie skalibrować.

## Kontrola jakości

Wiarygodność wyników testów należy rutynowo monitorować za pomocą materiałów kontrolnych, które w rozsądny sposób imitują działanie próbek pacjentów.<sup>10</sup> Materiały do kontroli jakości są przeznaczone wyłącznie do użytku jako monitory dokładności i precyzji. Krajowy Program Edukacji Cholesterolowej (NCEP) Panel Standaryzacji Lipidów (LSP) zaleca dwa poziomy kontroli, jeden w normalnym zakresie (35-65 mg/dl) i jeden w pobliżu stężeń do podejmowania decyzji (<35 mg/dl). Dopuszczalny zakres wartości cholesterolu HDL powinien zostać ustalony dla kontroli poprzez powtórny analizę. Odzyskiwanie wartości kontrolnych w odpowiednim zakresie powinno być kryterium stosowanym do oceny przyszłych wyników testu. Materiały do kontroli jakości są przeznaczone do użytku wyłącznie jako monitory dokładności i precyzji. Kontrole należy przeprowadzać z każdą zmianą roboczą, na której wykonywane są oznaczenia HDL-C. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własną częstotliwość oznaczania kontroli. Kontrolę jakości należy przeprowadzać zgodnie z lokalnymi, stanowymi i/lub federalnymi przepisami lub wymaganiami dotyczącymi akredytacji.

## Wyniki

Aby przeliczyć jednostki konwencjonalne na jednostki SI, pomnóż jednostki konwencjonalne przez 0,02586. mg/dl x 0,02586 = mmol/l cholesterolu HDL

## Wartości oczekiwane

Oczekiwane wartości stężenia cholesterolu HDL w surowicy są następujące<sup>14</sup>:

Mężczyźni:                      30-70 mg/dl  
 Kobiety:                      30-85 mg/dl

Każde laboratorium musi ustalić swój własny zakres oczekiwanych wartości.

Według NCEP wartości HDL większe lub równe 35 mg/dl są uważane za pożądane, a wartości większe lub równe 60 mg/dl uważa się za zapewniające pewną ochronę przed chorobą niedokrwienną serca. Wartości poniżej 35 mg/dl są uważane za istotny niezależny czynnik ryzyka choroby niedokrwiennej serca.<sup>9</sup>

## Charakterystyka

**Zakres oznaczenia:** 2-150 mg/dl

**Dokładność:** Badania porównujące metodę autoHDL™ Cholesterol stosowaną w analizatorach serii Yumizen 200 i podobnym analizatorze dały następujące wyniki:

Metoda	autoHDL™ Cholesterol
N	36
Średni poziom cholesterolu HDL	61
Zakres (mg/dl)	30-124
Odchylenie standardowe (mg/dl)	22
Analiza regresji	Y=0.958x +2.6
Współczynnik korelacji	R=0.982

**Precyzja:**

Dokładność w ciągu dnia dla odczynnika Liquid autoHDL™ Cholesterol Reagent została określona po modyfikacji dokumentu NCCLS EP5-T2.<sup>15</sup> przy użyciu analizatorów serii Yumizen 200. Badania precyzji ciągu dnia dały następujące wyniki:

Próbka	NISKA	WYSOKA
N	20	20
Sredni poziom cholesterolu HDL (mg/dl)	28	108
Odchylenie standardowe (mg/dl)	0.5	0.7
Współczynnik zmienności (%)	1.8	0.7

Precyzja z dnia na dzień została również określona po modyfikacji dokumentu NCCLS EP5-T2.<sup>17</sup> Badania precyzji z dnia na dzień przeprowadzone na analizatorach serii Yumizen 200 dały następujące wyniki:

Próbka	NISKA	WYSOKA
N	20	20
Sredni poziom cholesterolu HDL (mg/dl)	25	44
Odchylenie standardowe (mg/dl)	1.0	2.1
Współczynnik zmienności (%)	3.9	3.9

**Czułość:** granica wykrywalności 2 SD (95% konf.) = 0,365 mg/dl.

**Piśmiennictwo**

- Gotto A.M., Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia, Hospital practice, 23:Suppl.1,4 (1988).
- Crouse J.R. et al, Studies of low density lipoprotein molecular weight in human beings with coronary artery disease, J. Lipid Res., 26:566 (1985).
- Badimon J.J., Badimon L., Fuester V., Regression of Atherosclerotic Lesions by High-Density Lipoprotein Plasma Fraction in the Cholesterol-Fed Rabbit, Journal of Clinical Investigation, 1990; 85:1234-41.
- Castelli, W.P., et al, Cholesterol and other lipids in coronary heart disease, Circulation, 55:767 (1977).
- Barr, D.P., Russ E.M., Eder H.A., Protein-lipid relationships in human plasma, Am. J. Med. 11:480 (1951).
- Gordon, T., et al, High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease, Am. J. Med., 62:707 (1977).
- Williams, P., Robinson D., Baily A., High density lipoprotein and coronary risk factor, Lancet, 1:72 (1979).
- Kannel W.B., Castelli W.P, Gordon, T., Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease; New perspectives based on the Framingham study, Am. Intern. Med., 90:85 (1979).
- National Institute on Health publication No. 93-3095, September 1993.
- Warnick G. Russell, Wood Peter D., National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol; Executive Summary Clinical Chemistry, Vol.41, No. 10 (1995).
- Grundy, S.M., et al, Summary of the Second Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel II), JAMA 1993, 269: 23, 3015-3023.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation Protocol Number 7, Vol.4, No. 8, June 1984.
- Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 3<sup>rd</sup>. Ed., AACC Press, Washington DC, 1990, 3-104 thru 3-106.
- Tietz, N.W., Clinical Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1986, p.256.

- NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices" 2<sup>nd</sup> Ed. 1992.

**Symbole**

Data przydatności (RRRR-MM-DD)	<b>LOT</b>
katalogowy Numer	Producent
Wyłącznie do diagnostyki <i>in vitro</i>	Zakres temperatur
Zapoznaj się z instrukcją użytkownika	<b>Rx Only:</b> Wyłącznie do profesjonalnego użytku
Znak CE	Autoryzowany przedstawiciel na Europę

12-H7545-162

 Wyprodukowano przez  
 HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand  
 5449 Research Drive Canton, MI 48188


Manufactured by HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand 5449 Research Drive, Canton, MI 48188



European Authorized Representative:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Brussels, BELGIUM

Tel: (32)2.732.59.54 Fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net

**Certyfikacja**

Odczynniki Pointe są certyfikowane zgodnie z określonymi parametrami. Każdy odczynnik Pointe, który nie spełnia specyfikacji w podanym terminie ważności, zostanie natychmiast i bezpłatnie wymieniony.

Rev. 11/23 P803-H7545-MIN-PL