

Przeznaczenie

Do bezpośredniego ilościowego oznaczania cholesterolu lipoprotein o małej gęstości (LDL-C) w ludzkiej surowicy lub osoczu za pomocą analizatora Yumizen C230 i Yumizen C240. Wyłącznie do diagnostyki *in vitro*. **Rx Only**.

Streszczenie

Lipoproteiny osocza są kulistymi cząsteczkami, które zawierają różne ilości cholesterolu, trójglicerydów, fosfolipidów i białek. Fosfolipid, wolny cholesterol i białko stanowią zewnętrzną powierzchnię cząsteczki lipoproteiny, wewnętrzny rdzeń zawiera głównie zestyfikowany cholesterol i trójglicerydy. Cząsteczki te służą do rozpuszczania i transportu cholesterolu i trójglicerydów w krwiobiegu.

Względne proporcje białek i lipidów określają gęstość tych lipoprotein osocza i stanowią podstawę ich klasyfikacji.¹ Klasy te obejmują lipoproteiny o bardzo małej gęstości (VLDL), lipoproteiny o małej gęstości (LDL) i lipoproteiny o dużej gęstości (HDL). Liczne badania kliniczne wykazały, że różne klasy lipoprotein mają różny wpływ.²⁻⁴ Wszystkie badania wskazują na cholesterol LDL jako kluczowy czynnik w patogenezie miażdżycy tętnic i choroby wieńcowej (CAD)²⁻⁸, podczas gdy cholesterol HDL był często zaobserwowano działanie ochronne. Nawet w normalnym zakresie stężeń cholesterolu całkowitego może wystąpić wzrost stężenia cholesterolu LDL z towarzyszącym ryzykiem CAD.⁴

Przez lata stosowano różne metody oznaczania lub szacowania poziomu cholesterolu LDL. Do oceny stężenia cholesterolu LDL najczęściej stosowano równanie Friedewalda, w różnych postaciach. Jednak jego użyteczność jest ograniczona, a jego dokładność została zakwestionowana. Oznaczanie cholesterolu LDL metodą beta-kwantyfikacji jest uznawane za metodę referencyjną, ale procedura ta jest tak uciążliwa, że stosunkowo niewiele laboratoriów stosuje tę metodę. Ostatnio popularna stała się metoda wykorzystująca immunoseparację. Jednak ta metoda nadal wymaga wstępnej obróbki próbki przed oznaczeniem cholesterolu, co czyni ją nieodpowiednią do pełnej automatyzacji procedury. Przedstawiona tutaj metoda umożliwia bezpośrednie oznaczanie cholesterolu LDL w dwuskładnikowym, płynnym, stabilnym odczynniku, który można łatwo dostosować do większości automatycznych analizatorów chemicznych.

Skład odczynników

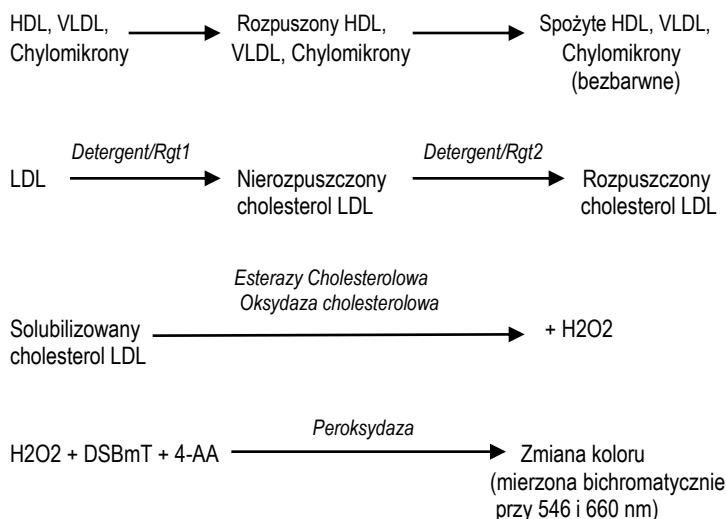
Komponent	Wygląd	Składniki
Odczynnik 1	Liquid	Bufor MES (pH 6,3)
		Detergent 1 Esteraza cholesterolowa Oksydaza cholesterolowa Peroksydaza 4-aminoantypiryna Oksydaza kwasu askorbinowego Konservant
Komponent	Wygląd	Składniki
Odczynnik 2	Liquid	MES Buffer (pH 6.3)
		Detergent 2 N,N-bis (4-sulfobutyl)- m-toluidyna-disodowa (DSBmT) Konservant

Oksydaza cholesterolowa z *Nocardia sp.*, esteraza cholesterolowa z *Pseudomonas sp.*, peroksydaza z chrzanu, oksydaza kwasu askorbinowego z *Cucurbita sp.*

Zasada metody

AutoLDL™ Cholesterol Reagent to dwuczęściowa, stabilna w płynie metoda bezpośredniego pomiaru poziomu LDL-C w surowicy lub osoczu. Metoda opiera się na właściwościach unikalnego detergentu, który eliminuje potrzebę jakichkolwiek etapów wstępnej obróbki lub wirowania poza linią. Ten detergent (Odczynnik 1) rozpuszcza tylko cząsteczki lipoprotein innych niż LDL. Uwolniony cholesterol jest zużywany przez esterazę cholesterolową i oksydazę cholesterolową w reakcji nie powodującej zabarwienia.

Drugi detergent (Odczynnik 2) rozpuszcza pozostałe cząsteczki LDL, a sprzęgacz chromogeny umożliwia tworzenie koloru. Reakcja enzymatyczna z LDL-C w obecności czynnika sprzęgającego daje kolor, który jest proporcjonalny do ilości cholesterolu LDL obecnego w próbce.



Przygotowanie odczynnika

Odczynnik 1: Odczynnik 1 jest gotowy do użycia.

Odczynnik 2: Odczynnik 2 jest gotowy do użycia.

Przechowywanie i stabilność odczynnika

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

Środki ostrożności

- Odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.
- Nie pipetować ustami.
- 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.
- Nie używać odczynników po upływie daty ważności wydrukowanej na etykiecie zestawu.

Pobieranie i przechowywanie próbek

Zalecanymi próbkami są surowica, osocze potraktowane EDTA lub heparynizowane. Pacjenci nie muszą być na czczo przed pobraniem krwi.

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

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

W przypadku braku szybkiej analizy próbki można przechowywać w temperaturze 2–8°C przez maksymalnie 5 dni. Jeżeli próbki muszą być przechowywane dłużej niż 5 dni, można je zamrozić w temperaturze – 80°C.

Interferencje

Wszystkie badania interferencji przeprowadzono zgodnie z procedurami zalecanymi w wytycznych NCCLS nr EP7-P dotyczących badań interferencji w chemii klinicznej.¹² Hemoglobina na poziomach do 400 mg/dl, bilirubina na poziomach do 20 mg/dl i triglicerydy do 1500 mg/dl wykazywały znikomą interferencję (<5%) w tej metodzie. Próbki z poziomami substancji przeszkadzających wyższymi niż górne limity należy przed oznaczeniem rozcieńczyć roztworem soli fizjologicznej. Wynik uzyskany z ręcznego rozcieńczenia pomnożyć przez odpowiedni współczynnik rozcieńczenia. Obszerny przegląd wpływu leków na poziom cholesterolu LDL w surowicy znajduje się w artykule Young i wsp.¹³

Pointe autoLDL™ Cholesterol Reagent Set

Materiały zapewnione

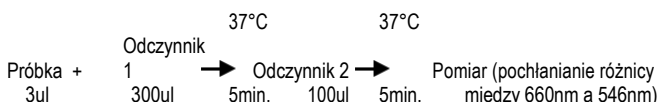
Zestaw odczynników do pomiaru cholesterolu autoLDL™	
Nr katalogowy	12-L7574-162
Odczynnik 1	3 x 40mL
Odczynnik 2	3 x 14mL

Materiały wymagane ale niedostarczane

1. Analizator Yumizen C230 / Yumizen C240
2. Instrukcja obsługi Yumizen C230 / Yumizen C240
3. Kalibrator Pointe autoHDL/LDL™, nr kat. Nr H7545-CAL
4. Kontrole Pointe Lipid, numer katalogowy L7580-18

Procedura

Poniżej znajduje się ogólny przykład procedury testowej autoLDL™ dla analizatora automatycznego. Wszystkie aplikacje analizatorów powinny być zatwierdzone zgodnie z zaleceniami NCEP i CLIA.¹⁰ Aby uzyskać pomoc dotyczącą aplikacji analizatorów automatycznych, należy skontaktować się z Działem Obsługi Technicznej firmy HORIBA Medical pod numerem (800)445-9853.



↓
Wynik LDL-C

Parametry testu

Test:	LDL	Nazwa chem.: auto LDL Cholesterol
Numer:	224	Wydruk: LDL Cholesterol
Reaction Type:	Endpoint	Kierunek reakcji: Rosnący
Dł. Fali I:	546 nm	Dł. Fali II: 670 nm
Miejsca dziesiętne:	0	Typ próbki: Surowica
Próba ślepa:		Cykl reakcji: 16 18
Jednostka:	mg/dL	Cykl inkubacji: 18

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

Zakres liniowości (Prawidłowy): 0-370	Limit liniowości:
Zakres liniowości (Zmniejszony):	Zużycie substratu: Mieszana abs. próby ślepej.: -40000 40000
Zakres liniowości (Zwiększony):	Stabilność na pokładzie: 30
Abs. R1/próba ślepa: -40000 40000	Limit alarmu odczynnika: 5
Próba ślepa -40000 40000	
Chemia bliźniacza:	

Efekt Check:

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

Użyj wyniku jakościowego

Zakres: Flagi:

Przesunięcie i nachylenie

Przesunięcie	1	Nachylenie	0	Jednostka	g/dL
--------------	---	------------	---	-----------	------

Przygotowanie:

Objętość próbki: uL Objętość odczynnika: uL

Zakres referencyjny:

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

Parametry kalibracji

Chem:	LDL			
Ustawienia kalibracji				
Model mat: Dwupunktowa liniowa				
Factor: Powtórzenia: 2				
Akceptowalne limity				
Ważność kalibracji: 336 godz.				
Różnica nachylenia: SD:				
Czułość: Powatarzalność: Zdefiniowane przez użytkownika				
Współczynnik determinacji:				
Automatyczna kalibracja				
<input type="checkbox"/> Po upływie ważności kalib.				

Ograniczenia

1. Nie należy stosować antykoagulantów zawierających cytrynian.
2. Chronić odczynniki przed bezpośrednim działaniem promieni słonecznych.
3. Próbkę o wartościach większych niż 370 mg/dl w analizatorach serii Yumizen 200 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. Wartości kalibratora zostały przypisane zgodnie z procedurami zgodnymi z Krajowym Systemem Referencyjnym Cholesterolu (NRS/CHOL). Instrukcje znajdują się w ulotce dołączonej do kalibratora 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 naśladują działanie próbek pacjentów.¹⁰ Materiały do kontroli jakości są przeznaczone do użytku wyłącznie jako monitory dokładności i precyzji. Odzyskiwanie wartości kontrolnych w odpowiednim zakresie powinno być kryterium stosowanym do oceny przyszłych wyników testu. Kontrole należy przeprowadzać z każdą zmianą roboczą, na której wykonywane są oznaczenia LDL-C. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własną częstotliwość oznaczania kontroli. Wymagania kontroli jakości powinny być określone zgodnie z lokalnymi, stanowymi i/lub federalnymi przepisami lub wymaganiami akredytacyjnymi.

Wyniki

Aby przeliczyć jednostki konwencjonalne na jednostki SI, pomnóż jednostki konwencjonalne przez 0,02586.

Przykład: mg/dL x 0,02586 = mmol/L LDL-C

Wartości oczekiwane

Sugeruje się następujące zalecenia NCEP dotyczące klasyfikacji pacjentów w profilaktyce i leczeniu choroby niedokrwiennej serca:⁸

Cholesterol LDL	Klasyfikacje
<130mg/dl (3.36mmol/L)	Pożądany
130-159mg/dl (3.36-4.11mmol/L)	Granica wysokiego ryzyka
160mg/dl (4.14mmol/L)	Wysokie ryzyko

Zdecydowanie zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło swój własny zakres oczekiwanych wartości.

Charakterystyka

Zakres testu: 0-370 mg/dl

Dokładność: Badania porównujące metodę Liquid autoLDL™ Cholesterol Reagent stosowaną w analizatorach serii Yumizen 200 i podobnym analizatorze dały następujące wyniki:

Metoda	autoLDL™ Cholesterol
N	30
Średni poziom cholesterolu LDL	106
Zakres (mg/dl)	50-159
Odchylenie standardowe (mg/dl)	28
Analiza regresji	$Y=1.017x + 1.7$
Współczynnik korelacji	$R=0.990$

Precyzja:

Precyzję w ciągu dnia dla odczynnika autoLDL™ Cholesterol Reagent określono po modyfikacji dokumentu NCCLS EP5-T217 przy użyciu analizatorów serii Yumizen 200. Badania precyzji w ciągu dnia dały następujące wyniki:

Próbka	NISKA	WYSOKA
N	20	20
Średni poziom cholesterolu LDL (mg/dl)	28	146
Odchylenie standardowe (mg/dl)	0.5	2.5
Współczynnik zmienności (%)	1.7	1.7

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

Próbka	NISKA	WYSOKA
N	20	20
Średni poziom cholesterolu LDL (mg/dl)	26	147
Odchylenie standardowe (mg/dl)	0.9	2.9
Współczynnik zmienności (%)	3.3	2.0

Czułość: granica wykrywalności 2 SD (95% Conf) = 0,627 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, 85:1234-41 (1990).
- Castelli, W.P., et al., Cholesterol and other Lipids in coronary heart disease, Circulation, 55:767 (1977).
- Barr, D.P., Russ, E.M., Elder, 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).
- William, 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 Artherosclerotic Disease; New Perspectives Based on the Framingham Study, Am. Intern. Med., 90:85 (1979).
- National Institutes 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, 3rd ed., AACC Press, Washington, D.C., 1990, 3-104 thru 3-106.
- Tietz, N.W., Clinical Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1986, p. 256.
- Carey, R., Gerber, C.C., Evaluation of Methods. In Kaplan LA, Pesce, A.J., eds. Clinical Chemistry: theory, analysis and correlation. Third Edition. St. Louis: The CV Mosby Company.
- Westgard, J.O., Carey, R.N., Wold, S., Criteria for judging precision and accuracy in method development and evaluation. Clinical Chemistry 1974;20:825-833.
- NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices" 2nd Ed. 1992.

Symbole

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

12-L7574-162 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.