

## Przeznaczenie

Do bezpośredniego ilościowego oznaczania cholesterolu lipoprotein o małej gęstości (LDL-C) w ludzkiej surowicy lub osoczu za pomocą analizatora Yumizen C560. **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.<sup>1</sup> 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.<sup>2-4</sup> Wszystkie badania wskazują na cholesterol LDL jako kluczowy czynnik w patogenezie miażdżycy tętnic i choroby wieńcowej (CAD)<sup>2-8</sup>, 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.<sup>4</sup>

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 oferuje bezpośrednie oznaczanie cholesterolu LDL w dwuskładnikowym, płynnym, stabilnym odczynniku, który można łatwo dostosować do większości automatycznych analizatorów chemicznych.

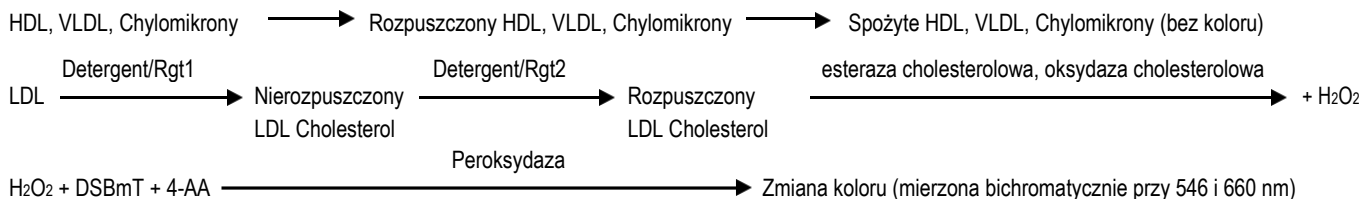
## Skład odczynnika

Odczynnik	Stan skupienia	Składniki
Reagent 1	Płynny	Bufor MES (pH 6,3)
		Detergent 1, esteraza cholesterolowa, oksydaza cholesterolowa, peroksydaza, 4-aminoantypiryna, oksydaza kwasu askorbinowego, konserwant
Odczynnik	Stan skupienia	Składniki
Reagent 2	Płynny	Bufor MES (pH 6,3)
		Detergent 2, N,N-bis(4-sulfobutylo)-m-toluidyno-disodowy, (DSBmT), Konserwant

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 chromogenny umożliwia tworzenie koloru. Reakcja enzymatyczna z LDL-C w obecności czynnika sprzęgającego daje kolor 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. Badania producenta wykazały, że odczynnik jest stabilny przez 30 dni po umieszczeniu w schłodzonej karuzeli z odczynnikiem (2-10°C), jednak stabilność odczynnika może się różnić w zależności od indywidualnych warunków laboratoryjnych.

## 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.

## Zagrożenia:

**R1 i R2: Klasyfikacja zagrożeń:** Nie jest substancją ani mieszaniną niebezpieczną.

**Piktogram i hasło ostrzegawcze:** Nie wymagane.

**Zwroty wskazujące rodzaj zagrożenia:** Nie jest substancją ani mieszaniną niebezpieczną.

# Pointe autoLDL™ Cholesterol Reagent Set

Zwroty wskazujące środki ostrożności: Nie jest substancją ani mieszaniną niebezpieczną.

Zapoznaj się z kartą charakterystyki tego produktu (SDS-L7574) dostępną pod numerem telefonu 1-734-487-8300.

## 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).<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 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.<sup>12</sup> Hemoglobina na poziomie do 400 mg/dl, bilirubina na poziomie do 20 mg/dl i triglicerydy do 1380 mg /dl wykazywały znikomą interferencję (<10%) w tej metodzie. Próbkę 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 poziomy cholesterolu LDL w surowicy patrz Young i in.<sup>13</sup>

## Materiały wymagane

autoLDL R1 Reagent, autoLDL R2 Reagent

## Materiały wymagane, niedostarczane

1. autoHDL/LDL™ Calibrator, nr kat.. H7545-CAL
2. Analizator Yumizen C560
3. Instrukcja obsługi do analizatora Yumizen C560
4. Lipid controls, numer katalogowy L7580-18

## Procedura

Wszystkie aplikacje analizatorów powinny być zatwierdzone zgodnie z zaleceniami NCEP i CLIA.10 Aby uzyskać pomoc dotyczącą aplikacji analizatorów automatycznych, prosimy o kontakt z działem obsługi technicznej firmy HORIBA pod numerem (800) 445-9853.

## Ograniczenia

1. Nie należy stosować antykoagulantów zawierających cytryniany.
2. Chronić odczynniki przed bezpośrednim działaniem promieni słonecznych.
3. Próbkę o wartościach większych niż 650 mg/dl w Yumizen C560 należy rozcieńczyć solą fizjologiczną w stosunku 1:1 i ponownie oznaczyć. Wynik pomnożyć 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, test może wymagać ponownej kalibracji. W typowych warunkach pracy badania stabilności kalibracji producenta wykazały, że krzywa kalibracji jest stabilna przez co najmniej 14 dni.

## Kontrola jakości

Wiarygodność wyników testów należy rutynowo monitorować za pomocą materiałów kontrolnych, które w rozsądny sposób naśladują działanie próbek pacjentów.<sup>10</sup> 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. Kontrola jakości powinna być przeprowadzana zgodnie z lokalnymi, stanowymi i/lub federalnymi przepisami lub wymaganiami akredytacyjnymi.

## Wyniki

Aby przeliczyć jednostki konwencjonalne na jednostki SI, pomnożyć 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:<sup>8</sup>

LDL Cholesterol	Klasyfikacja
<130mg/dl (3.36mmol/L)	Pożądana
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: 0-650 mg/dL.
- Korelacja: przeprowadzono badanie pomiędzy Yumizen C560 i podobnym analizatorem przy użyciu tej metody, w wyniku czego otrzymano następujące wyniki:

Metoda	LDL
N	80
Średni LDL (mg/dL)	105.4
Zakres (mg/dL)	8-238
Odchylenie standardowe	53.4
Regresja	$y = 1.086x - 5.8$
Współczynnik korelacji	0.9841

- Precyzja: Badania precyzji przeprowadzono po modyfikacji wytycznych zawartych w dokumencie NCCLS EP5-T2.<sup>12</sup>

Próbka	W ciągu dnia			Próbka	Całkowita		
	LOW	MID	HIGH		LOW	MID	HIGH
N	20	20	20	N	40	40	40
Średnia	183.0	251.7	538.6	Średnia	188.2	257.6	563.2
Odchylenie standardowe	1.4	1.6	9.6	Odchylenie standardowe	9.8	12.5	26.0
Współczynnik wariancji (%)	0.8%	0.6%	1.8%	Współczynnik wariancji (%)	5.2%	4.8%	4.6%

- Czułość: granica wykrywalności 2 SD (95% Conf) = 0 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.

# Pointe autoLDL™ Cholesterol Reagent Set

## PARAMETRY CHEMICZNE

Chem:	LDL	Nr.:	224	Typ próbki:	Surowica
Nazwa chem:	autoLDL cholesterol	Wydruk:		LDL	
Rodzaj reakcji:	Punktu końcowego	Kierunek reakcji:		Rosnąca	
I dł. fali:	546	II dł fali:		660	
Jednostka:	mg/dL	Miejsca dziesiętne:		0	
Cykl pomiaru próby ślepej:	47      48	Cykl pomiaru próbki:		80      82	
	Obj. próbki.	Aspiracja	Rozcieńczalnik	Obj. odczynnika.	Rozcieńczalnik
Podstawowa:	1.5    ul	---    ul	---    ul	R1:    120 ul	---    ul
Zmniejszona:	---    ul	---    ul	---    ul	R2:    40 ul	--    ul
Zwiększona:	---    ul	---    ul	---    ul	R3:    --- ul	--    ul
	<input type="checkbox"/> Próba ślepa	<input checked="" type="checkbox"/> Auto powt.		R4:    --- ul	---    ul

### Regulacja przesunięcia/nachylenia

Nachylenie: 1	Przesunięcie: 0	
Zakres liniowości (podstawowy)	0      650	Limit liniowości:
Zakres liniowości (Zwiększony)	___    ___	Zużycie substratu:
Zakres liniowości (Zmniejszony)	___    ___	Mieszana
Abs R1/próba ślepa:	___    ___	absorbancja próby
Pusta odpowiedź:	___    ___	ślepej:
Chemia bliźniacza:		Czas
<input checked="" type="checkbox"/> Efekt Prozone	<input type="checkbox"/> Ocena wskaźnika	odkorkowania:
		Limit alarmu
Q1:	Q2:	odczynnika:
		<input checked="" type="checkbox"/> Rozszerzalność liniowa dla
PC:	ABS:	enzymu
		<input type="checkbox"/> Dodanie antygenu
		Q3:
		Q4:

