ХОЛЕСТЕРИН ЛПВП (HDL-cholesterol direct) Прямой метод 1001096, 1001097, 1001098

Ферментативный колориметрический прямой метод для количественного определения холестерина липопротеинов высокой плотности (ЛПВП)

Код: 1001096 R1 1x60мл + R2 1x20мл Код: 1001097 R1 1x30мл + R2 1x10мл
Код: 1001098 R1 1x240мл + R2 1x80мл

ПРИНЦИП МЕТОДА

Прямое определение холестерина ЛПВП (HDLc, холестерина липопротеинов высокой плотности) без осаждения. Метод основан на способности детергента, который растворяет только ЛПВП, так что холестерин ЛПВП высвобождается для реакции с холестеринэстеразой, холестериноксидазой и хромогенами с развитием окраски. Не ЛПВП липопротеины ЛПНП (липопротеины низкой плотности), ЛПОНП (липопротеины очень низкой плотности) и хиломикроны блокируются для ферментативной реакции вследствие абсорбции на их поверхности детергента. Интенсивность формируемой окраски пропорционально концентрации холестерина ЛПВП (HDLc) в пробе.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Частицы ЛПВП обеспечивают транспорт липопротеинов в потоке крови. Холестерин ЛПВП также называют «хороший холестерин», потому что высокие уровни снижают риск сердечно-сосудистых заболеваний. Низкие уровни холестерина ЛПВП ведут к повышению риска сердечно-сосудистых заболеваний[1,5,6]. Клинический диагноз не должен ставиться по результатам одного теста, он должен основываться на совокупности клинических и других лабораторных данных.

СОСТАВ РЕАГЕНТОВ

Реагент 1 (R1)	GOOD pH 7.0	
	Холестериноксидаза (CHOD)	< 1000 Е/л
	Пероксидаза (POD)	< 1300 Е/л
	DSBmT	< 1 ммоль/л
Реагент 2 (R2)	GOOD pH 7.0	
	Холестеринэстераза	< 1500 Е/л
	4-аминоантипирин (4-AP)	< 1 ммоль/л
	Детергент	< 2 %
	Аскорбиноксидаза	< 3000 Е/л
Калибратор HDLc/LDLc CAL	Холестерин ЛПВП / Холестерин ЛПНП (лиофилизированная сыворотка человека)	

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

HDLc/LDLc CAL: Компоненты человеческого происхождения были протестированы и признаны отрицательными на присутствие HBsAg, вируса гепатита C (HCV) и антител к ВИЧ 1/2 (HIV 1/2). Однако с ними необходимо обращаться как с потенциально инфекционными.

ПОДГОТОВКА

- **R 1 и R 2**: готовы к использованию.
- **HDLc/LDLc CAL:** Разведите содержимое 1 мл дистиллированной воды. Закройте флакон крышкой и тщательно перемешайте до полного растворения содержимого.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Все компоненты набора стабильны до указанной на упаковке даты (expiration date) при хранении в плотно закрытых флаконах при 2-8°C и соблюдением мер по предупреждению контаминации при использовании. Не замораживайте реагенты.

R 1 и R 2: после открытия стабильны 8 недель при 2-8°C.

- **HDLc/LDLc CAL**: после разведения стабилен 1 неделю при 2-8°C или 5 недель при -20°C.

Не используйте реагенты после окончания срока хранения.

Признаки порчи реагентов:

присутствие частиц или мутности.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ

- Анализатор с фильтром 600 нм.
- Соответствующие кюветы с длиной оптического пути 1 см.
- Стандартное лабораторное оборудование.

ПРОБЫ

Сыворотка и гепаринизированная плазма без гемолиза[1]. Антикоагулянты, содержащие цитрат, не должны использоваться. Удалите из пробы сгустки насколько возможно. Следует избегать повторных заморозок, оттаиваний пробы. Стабильность в сыворотке: до 7 дней при 2-8°C или 1 месяц при -20°C.

ПРОЦЕДУРА

1. Условия теста:
   Длина волны: 600-700 нм
   Кювета: оптический путь 1 см
   Температура: 37°C
   Метод: кинетика по фиксир. времени по стандарту, задержка 3с, реакция 300с
   Бланк: по дистиллированной воде или реагенту.
2. Установите анализатор на ноль по дистиллированной воде.
3. Отдозировать в пробирки:

	Бланк	Стандарт	Проба
Калибратор	-	3 мкл	-
Проба	-	-	3 мкл
Реагент 1	300 мкл	300 мкл	300 мкл

4. Перемешать, инкубировать 5 мин при 37°C.
5. Измерить оптическую плотность (A1) пробы и стандарта при 600 нм.
6. Добавить:

Реагент 2	100 мкл	100 мкл	100 мкл

7. Перемешать, инкубировать 5 мин при 37°C.
8. Измерить оптическую плотность (A2) пробы и стандарта при 600 нм.
9. Рассчитать изменение оптической плотности пробы и стандарта: ΔA = A1 – A2.

ВЫЧИСЛЕНИЕ

$$\text{С хол.ЛПВП} = \frac{\Delta A\ \text{пробы}}{\Delta A\ \text{стандарта}} \times \text{С стандарта}$$

Коэффициент пересчета: мг/дл x 0,02586 = ммоль/л

ВЫЧИСЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ХОЛЕСТЕРИНА ЛПНП

Концентрация холестерина липопротеинов низкой плотности (хол. ЛПНП) вычисляется по общей концентрацией холестерина (ОХ), холестерину ЛПВП (хол.ЛПВП) и концентрации триглицеридов (ТГ) по следующей формуле (Friedewald [7]):

$$\text{хол.ЛПНП} = \text{ОХ} - \text{хол.ЛПВП} - \frac{\text{ТГ}}{5}\ [\text{мг/дл}] \quad \text{или} \quad \text{хол.ЛПНП} = \text{ОХ} - \text{Х*ЛПВП} - \frac{\text{ТГ}}{2{,}2}\ [\text{ммоль/л}]$$

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуемые контрольные сыворотки для мониторирования характеристик процедуры теста: SPINTROL H Normal и Pathologic (Кат.№ 1002120 и 1002210). Если значения контролей вне определенного диапазона, проверьте прибор, реагенты и калибратор на отсутствие проблем. Каждая лаборатория должна разработать свою собственную систему контроля качества и корректирующие действия, если контроли не дают приемлемые результаты.

РЕФЕРЕНСНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ[2]

Уровни для определения риска:

	Мужчины		Женщины	
Низкий риск	1,29 ммоль/л	> 50 мг/дл	1,55 ммоль/л	> 60 мг/дл
Стандартный риск:	0,91–1,29 ммоль/л	35–50 мг/дл	1,16–1,55 ммоль/л	45–60 мг/дл
Повышенный риск:	0,91 ммоль/л	< 35 мг/дл	< 1,16 ммоль/л	< 45 мг/дл

Эти значения приведены для ориентационных целей; каждая лаборатория должна определить собственный референтный диапазон.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

Диапазон измерения: От *определяемого уровня* в 0,065 ммоль/л (2,5 мг/дл) до предела линейности 5,17 ммоль/л (200 мг/дл). Если полученный результат превышает предел линейности, разведите пробу 1:2 с NaCl 9 г/л и умножьте результат на 2.

Воспроизводимость:

	Внутри серии			Между сериями		
Среднее (мг/дл)	32.9	50.6	101.4	32.8	50.0	100.1
SD	0.3	0.2	0.7	0.4	0.7	1.1
CV	0.8	0.5	0.7	1.3	1.5	1.1

Чувствительность: 1 мг/дл = 0.0016A

Правильность: Результаты, полученные с использованием реагентов SPINREACT (y) не показывают систематических различий при сравнении с другими коммерческими реагентами (x).

Результаты, полученные при обследовании 50 проб, были следующими:

Корреляционный коэффициент (r): 0.996. Уравнение регрессии: y= 0.980 + 3.42.

Результаты характеристик теста зависят от используемого анализатора.

ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

Не наблюдается интерференций с прямым и общим билирубином до 60 мг/дл, гемоглобином до 1000 мг/дл или липемией до 1800 мг/дл. Список лекарств и других веществ, влияющих на определение холестерина ЛПВП, представлен Young et. al [3,4].

ПРИМЕЧАНИЯ

У SPINREACT есть адаптации инструкций для многих автоматических анализаторов. Инструкции для них доступны по запросу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Naito H K HDL Cholesterol. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1207-1213 and 437.
2. US National Cholesterol Education Program of the National Institutesof Health.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.
7. Friedewald, WT. Clin. Chem., 18, 499 (1972).