ХОЛЕСТЕРИН ЛПВП (HDL) 1001095

Осаждающий реагент для количественного определения липопротеинов высокой плотности (ЛПВП)

IVD (для диагностики in vitro) Хранить при 2–8°C.

Код	1001095	4 x 5 мл

ПРИНЦИП МЕТОДА

Липопротеины низкой плотности и очень низкой плотности (ЛПНП и ЛПОНП) сыворотки осаждаются при взаимодействии с фосфовольфрамовой кислотой в присутствии ионов магния. ЛПНП и ЛПОНП удаляются центрифугированием, а в супернатанте остается фракция ЛПВП, в которой количественно определяется холестерин с использованием набора на холестерин фирмы Spinreact.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Частицы ЛПВП переносят холестерин от клеток назад в печень. 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 [1,6,7]. Клинический диагноз не должен ставиться по результатам одного теста, он должен основываться на совокупности клинических и других лабораторных данных.

РЕАГЕНТЫ

Реагент Осаждающий реагент	Фосфовольфрамовая кислота pH 1,3 Хлорид магния	14 ммоль/л 2 ммоль/л
Дополнительно (не входит в набор)	Реагент для определения холестерина	код 1001092 - 1001093

ПОДГОТОВКА

Реагент готов к использованию.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

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

Не используйте реагенты после окончания срока хранения.

Стандарт холестерина после открытия стабилен 1 месяц при 2-8°C при хранении в темном месте в плотно закрытых флаконах с предупреждением контаминации при использовании.

Признаки порчи реагентов:

- присутствие частиц или мутности.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ

- Анализатор с фильтром 505 нм (500-550).
- Соответствующие кюветы с длиной оптического пути 1 см.
- Стандартное лабораторное оборудование.

ПРОБЫ

Сыворотка и плазма без гемолиза[1]. Отделить сыворотку/плазму от крови как можно раньше.

Холестерин в сыворотке стабилен до 7 дней при 4°C и несколько месяцев при –20°C. Следует избегать повторных заморозок, оттаиваний пробы.

ПРОЦЕДУРА

Осаждение

1. Закапать в центрифужные пробирки:

Проба	1 мл	0,5 мл
Реагент (осаждающий реагент)	100 мкл	50 мкл

2. Тщательно перемешать, инкубировать 10 мин при комнатной температуре.
3. Центрифугировать 20 мин при 4000 об./мин или 2 мин 12000 об./мин.
4. После центрифугирования отделить надосадочную жидкость от осадка.

Определение концентрации холестерина (набор на холестерин фирмы SPINREACT).

1. Условия теста:
   Длина волны: 505 (500-550)
   Кювета: оптический путь 1 см
   Температура: 15–25°C или 37°C.
   Метод: по конечной точке по фактору или по стандарту
   Холостая проба: по реагенту. Нужна только одна холостая проба (бланк) на серию измерений.
2. Обнулить прибор по дистиллированной воде.
3. Закапать в кювету:

4. Закапать в реакционные пробирки:

	Полумикротест		Микротест	
	Бланк	Проба	Бланк	Проба
надосадочная жидкость	--	20 мкл	--	10 мкл
рабочий реагент	1 мл	1 мл	0,5 мл	0,5 мл

5. Тщательно перемешать, инкубировать 5 мин при 37°C или 10 мин при 15–25°C.
6. Измерить оптическую плотность (A пробы) при 505 нм (500–550) против бланка по реагенту. Окраска стабильна минимум 60 мин.

ВЫЧИСЛЕНИЕ

По калибратору:

$$C = C\ стандарта \times \frac{A\ пробы}{A\ стандарта}$$

По фактору:

При 505 нм C (мг/дл) = A пробы x **320** или C (ммоль/л)= A пробы x **8,256**
При 546 нм C (мг/дл) = A пробы x **475** или C (ммоль/л)= A пробы x **12,255**

Коэффициент пересчета: мг/дл x 0,0258 = ммоль/л

Для всех методик по конечной точке по фактору необходимо определять коэффициент (фактор) для конкретного прибора по стандарту (калибратору), так как возможно различие в фильтрах, длине оптического пути и т.д.

Коэффициент пересчета: мг/дл x 0,0258 = 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 [4]):

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

Примечание: Формула действительна для уровня триглицеридов <4,5 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[3]

Холестерин ЛПВП:

	Мужчины		Женщины	
Низкий риск	**1,42 ммоль/л**	(> 55 мг/дл)	**1,68 ммоль/л**	(> 65 мг/дл)
Стандартный риск:	**0,91–1,42 ммоль/л**	(35–55 мг/дл)	**1,16–1,68 ммоль/л**	(45–65 мг/дл)
Повышенный риск:	**0,91 ммоль/л**	(< 35 мг/дл)	**< 1,16 ммоль/л**	(< 45 мг/дл)

Холестерин ЛПНП:

Подозрительный уровень:	3,87 ммоль/л	(> 150 мг/дл)
Повышенный уровень:	4,90 ммоль/л	(> 190 мг/дл)

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

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

Диапазон измерения: От *определяемого уровня* в 0,041 ммоль/л (1,57 мг/дл) до предела линейности 7,1 ммоль/л (275 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 (n=20)		Между сериями (n=20)	
Среднее (мг/дл)	75.8	33.9	95.2	182
SD	0.89	0.85	2.59	3.04
CV	1.18	2.51	2.72	1.68

Чувствительность: 1 мг/дл = 0.0015A

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): 0.99. Уравнение регрессии: y= 0.9944x – 1.2346.

Результаты характеристик теста зависят от используемого анализатора.

ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

Не наблюдается интерференций с триглицеридами до 4 г/л[1]. 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. High-density lipoprotein (HDL) cholesterol. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1207-1213 and 437.
2. Grove T H. Effect of reagent pH on Determination of HDL Cholesterol by precipitation with Sodium Phosphotungstate-magnesium Clin Chem 25:560, 1979.
3. US National Cholesterol Education Program of the National Institutesof Health.
4. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
5. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
6. Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC 1999.
7. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995
8. Friedewald, WT. Clin. Chem., 18, 499 (1972).