ХОЛЕСТЕРИН ЛПНП (LDL-cholesterol direct) Прямой метод 41023

Ферментативный колориметрический прямой метод для количественного определения холестерина липопротеинов низкой плотности (ЛПНП)

Код: 41023 R1 1x30мл, R2 1x10мл, калибратор 1x1 мл

ПРИНЦИП МЕТОДА

Прямое определение в сыворотке холестерина ЛПНП (холестерина липопротеинов низкой плотности) без необходимости какой-либо обработки или центрифугирования. Тест выполняется в два этапа:

1. Элиминирование липопротеинов не-ЛПНП

$$\text{Эфиры холестерина} \xrightarrow{\text{Холестеринэстераза}} \text{холестерин + жирные кислоты}$$

$$\text{холестерин} + O_2 \xrightarrow{\text{Холестериноксидаза}} \text{4-холестенон} + H_2O_2$$

$$2\,H_2O_2 \xrightarrow{\text{Каталаза}} 2H_2O + O_2$$

2. Измерение холестерина ЛПНП

$$\text{Эфиры холестерина} \xrightarrow{\text{Холестеринэстераза}} \text{холестерин + жирные кислоты}$$

$$\text{холестерин} + O_2 \xrightarrow{\text{Холестериноксидаза}} \text{4-холестенон} + H_2O_2$$

$$2\,H_2O_2 + \text{TODS} + \text{4-AA} \xrightarrow{\text{Пероксидаза}} \text{кинонимин} + 4H_2O$$

Интенсивность формируемой окраски пропорционально концентрации холестерина ЛПНП (LDLc) в пробе.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Холестерин ЛПНП часто называется «плохой холестерин», потому что высокие уровни являются фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний и ассоциируются с ожирением, диабетом и нефрозом[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 (20.C)	50 ммоль/л
ферменты	Холестеринэстераза (CHE)	380 Е/Л
	Холестериноксидаза (CHOD)	380 Е/Л
	Каталаза	400 Е/мл
	N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyaniline (TODS)	0.45 ммоль/л
Реагент 2 (R2)	GOOD pH 7.0	50 ммоль/л
ферменты	4-аминоантипирин (4-AA)	1.00 ммоль/л
	Пероксидаза (POD)	1000 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.

- **R 1 и R 2**: после открытия стабильны 4 недели при 2-8°C.
- **HDLc/LDLc CAL**: после разведения стабилен 1 неделю при 2-8°C или 5 недель при -20°C.

После открытия срок хранения – 2 месяца при 2-8°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[1] и гепаринизированная плазма без гемолиза. После сбора пробы тест должен выполняться как можно скорее. Следует избегать повторных заморозок, оттаиваний пробы.
Стабильность в сыворотке: до 7 дней при 2-8°C.

ПРОЦЕДУРА

1. Условия теста:
   Длина волны: 600 (590-700) нм
   Кювета: оптический путь 1 см
   Температура: 37°C
   Метод: кинетика по фиксир. времени по стандарту, задержка 3с, реакциz 300с
   Бланк: по дистиллированной воде или реагенту.
2. Установите анализатор на ноль по дистиллированной воде.
3. Отдозировать в пробирки:

	Бланк	Стандарт	Проба
Калибратор	-	4 мкл	-
Проба	-	-	4 мкл
Реагент 1	300 мкл	300 мкл	300 мкл

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

Реагент 2	100 мкл	100 мкл	100 мкл

6. Перемешать, инкубировать 5 мин при 37°C.
7. Измерить оптическую плотность (A2) пробы и стандарта при 600 нм.

ВЫЧИСЛЕНИЕ

Рассчитать изменение оптической плотности пробы и стандарта: ΔA = A1 – A2.

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

Коэффициент пересчета: мг/дл x 0,02586 = 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[1,5,6]

Уровни для определения риска:

Рекомендуемый:	<2,59 ммоль/л	(<100 мг/дл)
Средний:	3,36 – 4,14 ммоль/л	(130-160 мг/дл)
Высокий:	>4,14 ммоль/л	(>160 мг/дл)

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

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

Диапазон измерения: От *определяемого уровня* в 0,096 ммоль/л (3,7 мг/дл) до предела линейности 25,86 ммоль/л (1000 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)	63.2	107	49.0	65.2	112	253
SD	0.64	1.89	0.79	0.3	0.7	1.7
CV	1.01	1.76	1.61	0.45	0.60	0.65

Чувствительность: 1 мг/дл = 0.0012A

Правильность: Результаты, полученные с использованием реагентов SPINREACT (y) не показывают систематических различий при сравнении с другими коммерческими реагентами (x).
Результаты, полученные при обследовании 92 проб, были следующими:
Корреляционный коэффициент (r): 0.998. Уравнение регрессии: y= 4.6 + 0.940 x.
Результаты характеристик теста зависят от используемого анализатора.

ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

Не наблюдается интерференций с аскорбиновой кислотой до 50 мг/дл, гемоглобином до 500 мг/дл или билирубином до 30 мг/дл. Список лекарств и других веществ, влияющих на определение холестерина ЛПНП, представлен Young et. al [3,4].

ПРИМЕЧАНИЯ

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Kaplan A et al. Lipoprotein. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis.
2. Okada M. et al. Low-density lipoprotein cholesterol can be chemically measured J. Lab. Clin. Mad., 1998; 132, 195-201.
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.