

CHOLESTEROL HDL PŘÍMÝ

Imunoinhibice

(cz) český

Ref. č.	Obsah		
F03120B	1 x	1 L R1 +	1 x 0,25 L R2
F03100	4 x	100 mL R1 +	1 x 100 mL R2
F03115	4 x	50 mL R1 +	1 x 50 mL R2
F03116	4 x	25 mL R1 +	1 x 25 mL R2
F03117	4 x	10 mL R1 +	1 x 10 mL R2
F16911	4 x	50 mL R1 +	2 x 25 mL R2
F0416917	4 x	62,5 mL R1 +	1 x 62,5 mL R2
FA0815	5 x	40 mL R1 +	5 x 10 mL R2
FT1015	4 x	50 mL R1 +	4 x 12,5 mL R2
FK0715	4 x	50 mL R1 +	1 x 50 mL R2
FB1815	4 x	50 mL R1 +	4 x 12,5 mL R2
DB20310	4 x	50 mL R1 +	4 x 12,5 mL R2

Pouze pro profesionální in vitro diagnostické použití.

ÚČEL POUŽITÍ

Diagnostická reagenция pro kvantitativní in vitro stanovení cholesterolu v lipoproteinech o vysoké hustotě (HDL-C) v lidském séru nebo plazmě pomocí fotometrických systémů.

DIAGNOSTICKÝ VÝZNAM^{1,2}

Cholesterol je složkou buněčných membrán a prekurzorem steroidních hormonů a žlučových kyselin, je syntetizován buňkami těla a absorbován z jídla. Cholesterol je transportován v plazmě pomocí lipoproteinů, což jsou komplexy lipidů a apolipoproteinů. Jsou čtyři třídy lipoproteinů: lipoproteiny o vysoké hustotě (HDL), lipoproteiny o nízké hustotě (LDL), lipoproteiny o velmi nízké hustotě (VLDL) a chylomikrony. Zatímco LDL je zapojen do transportu cholesterolu do periferních buněk, HDL je zodpovědný za příjem cholesterolu z buněk. Čtyři různé třídy cholesterolu vykazují různý vztah ke koronární ateroskleróze. LDL cholesterolu přispívá k tvorbě aterosklerotických plaků uvnitř arterií a je silně spojen s koronární nemocí srdce a s ní související mortalitou. I s celkovou koncentrací cholesterolu v normálním rozsahu indikuje zvýšená koncentrace LDL cholesterolu vysoké riziko. HDL cholesterol má ochranný účinek, protože zabraňuje tvorbě plaků, a vykazuje nepřímo úměrný vztah s prevalence koronární nemocí srdce. Ve skutečnosti představují nízké hodnoty HDL cholesterolu nezávislý rizikový faktor. Samostatné stanovení hladiny celkového cholesterolu (TC) se využívá pro skrínigové účely, zatímco pro lepší zhodnocení rizika je nutné další měření HDL-cholesterolu a LDL-cholesterolu.

Během posledních pár let několik kontrolovaných studií s využitím stravy, změny životního stylu a různých léků (hlavně inhibitorů HMG CoA reduktázy [statinů]) prokázalo, že snižování hladin celkového cholesterolu a LDL cholesterolu výrazně snižuje riziko koronární nemocí srdce.

PRINCIP TESTU

Dřívější stanovení HDL cholesterolu byly vykonávány pomocí zdoluhavých precipitačních metod³. Dialab cholesterol HDL přímý je homogenní metoda pro měření HDL-cholesterolu bez centrifugačních kroků. Protilátky proti lidským lipoproteinům vytváří komplexy antigenů s LDL, VLDL a chylomikrony a tím je pouze HDL-cholesterol selektivně stanoven pomocí enzymatického měření cholesterolu⁴.

LDL, VLDL, Chylomikrony $\xrightarrow{\text{protilátky proti lidským } \beta\text{-lipoproteinům}}$ komplexy antigenů s protilátkou + HDL

HDL-cholesterol + H₂O + O₂ $\xrightarrow{\text{CHE \& CHO}}$ Cholesten-3-on + mastná kyselina + H₂O₂

H₂O₂ + F-DAOS+4-Aminoantipyrin $\xrightarrow{\text{POD}}$ komplex modré barvy + H₂O

SLOŽENÍ REAGENCIE

SLOŽKY

	KONCENTRACE
Goodův pufr, pH 7.0	25 mmol/L
4-aminoantipyrin	0,75 mmol/L
Peroxidáza (POD)	2000 U/L
Askorbát oxidáza	2250 U/L

Protilátky proti lidským β -lipoproteinům (ovčí)

Reagenция 2:

Goodův pufr, pH 7.0	30 mmol/L
Cholesterol esteráza (CHE)	4000 U/L
Cholesterol oxidáza (CHO)	20000 U/L
N-etyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimetoxy-4-fluoroanilin, sodná sůl (F-DAOS)	0,8 mmol/L

POTŘEBNÉ, ALE NEDODÁVANÉ MATERIÁLY

- Kalibrátory, např.:

Ref. č.			
F03710SV	Kalibrátor HDL-cholesterolu	1 x	3 mL
D13585SV	Diacal lipids	1 x	2 mL

- Kontroly, např.:

Ref. č.			
D99486	Lipidová kontrola normální	3 x 3 mL	Diacon Lipids
D99486SV	Lipidová kontrola normální	1 x 3 mL	Diacon Lipids
D11487	Lipidová kontrola abnormální	3 x 3 mL	Diacon Lipids High
D11487SV	Lipidová kontrola abnormální	1 x 3 mL	Diacon Lipids High
D98481	Kontrola normální	12 x 5 mL	Diacon N
D14481	Kontrola normální	5 x 5 mL	Diacon N
D98481SV	Kontrola normální	1 x 5 mL	Diacon N
D98482	Kontrola abnormální	12 x 5 mL	Diacon P
D14482	Kontrola abnormální	5 x 5 mL	Diacon P
D98482SV	Kontrola abnormální	1 x 5 mL	Diacon P

- Roztok NaCl (9 g/l)

- Fotometrický přístroj s filtrem 600 - 700 nm.
- Obecné laboratorní vybavení

PŘÍPRAVA REAGENCIE


Reagenция jsou určeny k přímému použití.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Podmínky:	Skladujte při 2 - 8 °C. Chraňte před přímým světlem. Po použití okamžitě uzavřete. Zabraňte kontaminaci. Reagenция nezmrazujte!
Stabilita:	12 měsíců od prvního otevření primární nádoby.
Stabilita (v přístroji)	4 týdny při 2-8 °C

POZNÁMKA: Je třeba zmínit, že měření není ovlivněno občas se objevujícími změny barvy, dokud je absorbance před-míchané reagenция (4 díly R1 + 1 díl R2) < 0.03 při 600 - 700 nm.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Reagenция 1: Varování

 H317: Může způsobit alergickou kožní reakci.
 H412: Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky.
 P273: Zabraňte uvolnění do prostředí.
 P280: Noste ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranu očí.
 P302+P352: PO STYKU S POKOŽKOU: Umyjte velkým množstvím vody/s mýdlem
 P333+P313: V případě výskytu podráždění kůže nebo vyrážek: Vyhledejte lékařskou pomoc.
 Zvláštní označení: Obsahuje: Směs 5-chloro-2-metyl-2H-isothiazol-3-onu a 2-metylen-2H-isothiazol-3-onu (3:1).
- Reagenция obsahují zvířecí materiál. S produktem zacházejte jako s potenciálně infekčním podle všeobecných bezpečnostních opatření a správné klinické laboratorní praxe.
- Ve velice výjimečných případech mohou vzorky od pacientů s gamapati dávat falešné výsledky⁵.
- Léčba N-acetylcysteinem (NAC), acetaminofenem a metamizolem vede k falešně nízkým výsledkům v pacientských sérech.
- Při použití enzymatických metod pro stanovení esterů cholesterolu není v principu možné vyloučit kontaminaci a interferenci jiných chemických analyz měřených na stejném přístroji. V případě výskytu takových problémů se obraťte prosím na manuál k přístroji pro nastavení kanálu a možnosti promývacích procedur.
- Viz prosím bezpečnostní list a dodržujte nutná opatření pro práci s laboratorními reagenциями.
- Pro diagnostické účely musí být výsledky vždy hodnoceny spolu se zdravotní historií pacienta, klinickými vyšetřeními a jinými zjištěními.
- Pouze pro profesionální použití!

ODBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKU

Používejte sérum nebo heparinovou plazmu.

Stabilita ⁵	Při 20 - 25 °C	1 den
	Při 4 - 8 °C	7 dnů
	Při -20 °C	3 měsíce

Kontaminované vzorky zlikvidujte. Zamrazujte pouze jednou!

MANUÁLNÍ POSTUP TESTU

Reagenция a vzorky nechte dosáhnout pokojové teploty.

	Blank	Vzorek/Kal.
Vzorek nebo kalibrátor	-	10 μ L
Reagenция 1	1000 μ L	1000 μ L
Zamíchejte, inkubujte 5 min. při 37 °C, změřte absorbanci (A1). Potom přidejte:		
Reagenция 2	250 μ L	250 μ L
Zamíchejte, inkubujte 5 min. při 37 °C, změřte absorbanci (A2). $\Delta A = [(A2-A1) \text{ vzorku nebo kalibrátoru}] - [(A2-A1) \text{ blanku}]$		

AUTOMATIZACE

Speciální adaptace pro automatické analyzátoři mohou být vytvořeny na požádání.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Výpočet

S kalibrátorem:

$$\text{HDL [mg/dL]} = \frac{\Delta A \text{ vzorku}}{\Delta A \text{ kalibrátoru}} \times \text{Koncentrace kalibrátoru [mg/dL]}$$

Převod jednotek

$$\text{HDL [mg/dL]} \times 0.02586 = \text{HDL [mmol/L]}$$

KONTROLA KVALITY A KALIBRACE

Je možné použít všechna kontrolní séra s hodnotami HDL cholesterolu stanovenými touto metodou.

Doporučujeme Dialab kontrolní lipidové sérum **Diacon Lipids** a **Diacon Lipids High** a Dialab multi-kontrolní sérum **Diacon N** (s hodnotami v normálním rozsahu) a **Diacon P** (s hodnotami v patologickém rozsahu).

Každá laboratoř by měla zavést opravná opatření v případě odchylek při měření kontrol.

Kalibrace

Metoda vyžaduje použití kalibrátoru HDL cholesterolu.

Doporučujeme Dialab kalibrátor HDL-cholesterolu nebo lipidovou kalibrační plazmu **Diacal Lipids**.

CHARAKTERISTIKY ČINNOSTI

Přesnost a preciznost

CV \leq 2 % pro preciznost v rámci analyzy a mezi analyzami.

Analytická citlivost

Limit detekce je 1 mg/dL (0.03 mmol/L).



Linearita a rozsah měření

Test byl vyvinut pro stanovení koncentrací HDL cholesterolu v rámci rozsahu měření od 1 – 180 mg/dL (0.03 – 4.66 mmol/L). Když koncentrace přesahují tento rozsah, je třeba vzorky zředit v poměru 1 + 2 roztokem NaCl (9 g/L) a výsledky vynásobit 3.

Analytická specifická

Nebyla pozorována žádná interference pro:

Kyselina askorbová	≤ 50 mg/dL
Bilirubin	≤ 40 mg/dL
Hemoglobin	≤ 500 mg/dL
Triglyceridy	≤ 1200 mg/dL

Pro další informace o interferujících látkách viz Young DS⁶.

Klinická účinnost

Porovnání metod na schváleném systému za použití 100 patientských vzorků poskytlo následující výsledky: $y = 1.05x + 0.571$ mg/dL; $r = 0.995$.

Testy byly vykonány na následujících přístrojích: Hitachi 911/917 nebo Advia 1650.

NÁVAZNOST

Hodnota přiřazená kalibrátoru HDL-cholesterolu je návazná k NIST SRM[®] 1951b a hodnoty v Dialcal Lipids k NIST SRM[®] 1951 hladiny 2.

OČEKÁVANÉ HODNOTY⁷

Směrnice národního vzdělávacího programu o cholesterolu (NCEP):

Nízký HDL-Cholesterol (hlavní rizikový faktor pro koronární nemoc srdce):

< 40 mg/dL (< 1.04 mmol/L)

Vysoký HDL-Cholesterol („negativní“ rizikový faktor pro koronární nemoc srdce):

≥ 60 mg/dL (≥ 1.55 mmol/L)

Množství faktorů přispívá k nízkým hladinám HDL-Cholesterolu: např. nadváha a obezita, kouření, fyzická nečinnost, léky jako beta-blokátory a progestační agens, genetické faktory.

Každá laboratoř by si měla zkontrolovat, zda jsou referenční rozsahy přenositelné na její populaci pacientů a v případě potřeby určit vlastní referenční rozsah.

OMEZENÍ

- Možný přenos reagentie Cholesterol HDL přímý (Imunoinhibice) do reagentie Kreatinin (enzymatická, PAP), Lipáza (enzymatická, kolorimetrická), Kyselina močová (AOX), Kyselina močová (TBHA), Celkový protein v moči/CSF (Pyrogalolová červec) a triglyceridy (GPO-PAP). Aktuální přenos (carry-over) závisí na analyzátoru.

NAKLÁDÁNÍ S ODPADEM

Postupujte prosím podle místních právních požadavků.

LITERATURA

- Rifai N, Bachorik PS, Albers JJ. Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1999. P. 809-61.
- Recommendation of the Second Joint Task Force of European and other Societies on Coronary Prevention. Prevention of coronary heart disease in clinical practice. Eur. Hearer J 1998; 19: 1434-503.
- Wiebe DA, Warnick GR. Measurement of high-density lipoprotein cholesterol. In: Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, eds. Handbook of lipoprotein testing. Washington. AACC Press, 1997. p. 127-44.
- Nauck M., Maerz W, Wieland H. New immunoseparation-based homogenous assay for HDL-cholesterol compared with three homogenous and two heterogenous methods for HDL-cholesterol. ClinChem 1998; 44, 1443-51.
- Guder WG, Zawta B et al. The quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p 22-3.
- Young DS. Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
- Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). NIH Publication No. 02-5215; September 2002.
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: Mechanism, detection and prevention. Clin Chem lab Med 2007; 45(9); 1240-1243.

