

LDL-c direct FS*

Katalogová čísla:

Kat.č.	Balení		
1 4131 99 10 021	R1 5 x 20 mL	+ R2	1 x 25 mL
1 4131 99 10 026	R1 5 x 80 mL	+ R2	1 x 100 mL
1 4131 99 10 930	R1 4 x 20 mL	+ R2	2 x 10 mL

Použití

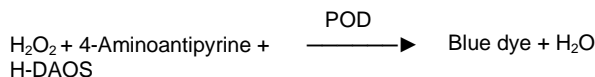
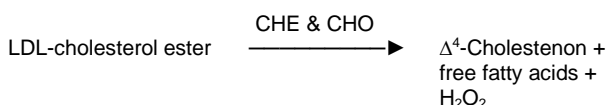
Diagnostická reagentie pro kvantitativní in vitro stanovení LDL cholesterolu (LDL-C) v séru nebo heparinové plazmě fotometricky

Shrnutí

Cholesterol se obvykle získává střevní absorpcí cholesterolu z potravy a žlučových cest, ale může být také syntetizován de novo v různých tkáních, převážně v játrech a střevech. Dospělý člověk na nízkocholesterolové dietě obvykle syntetizuje asi 800 mg cholesterolu denně. Cholesterol je nezbytný pro všechny buňky a je široce používán jako hlavní strukturální složka buněčných membrán a jako substrát pro syntézu žlučových kyselin, vitamínu D a pohlavních hormonů (estradiol, progesteron, androsteron a testosteron). Cholesterol je nerozpustný ve vodě, a proto musí být transportován vázaný na bílkoviny. Lipoproteiny jsou komplexní částice s centrálním jádrem obsahujícím estery cholesterolu a triglyceridy (TG) obklopené volným cholesterolem, fosfolipidy a apolipoproteiny, které usnadňují tvorbu a funkci lipoproteinů. Plazmatické lipoproteiny lze rozdělit do různých tříd na základě velikosti, složení lipidů a apolipoproteinů; čtyři hlavní třídy jsou: Chylomikrony, lipoproteiny s velmi nízkou hustotou (VLDL), lipoproteiny s nízkou hustotou (LDL) a lipoproteiny s vysokou hustotou (HDL). Nízkohustotní lipoproteiny jsou odvozeny od VLDL a IDL (Intermediate Density Lipoprotein) v plazmě a obsahují velké množství cholesterolu a esterů cholesterolu. Hlavní úlohou LDL je dodávat tyto dvě formy cholesterolu do periferních tkání. Nejméně dvě třetiny cirkulujícího cholesterolu jsou v LDL. Důkazy z epidemiologických, genetických a klinických intervenčních studií ukázaly, že LDL je kauzální příčinou v procesu rozvoje aterosklerotického kardiovaskulárního onemocnění (ASCVD). Vysoký LDL-C je jedním z hlavních rizikových faktorů, které přispívají k tvorbě aterosklerotických plátů v arteriální stěně a je silně spojen s ischemickou chorobou srdeční (IČHS) a související mortalitou. Výsledky nedávných klinických studií o snížení LDL-C naznačují pokračující přínosy při nízkých koncentracích. Přímý lineární vztah mezi farmakologickým snížením LDL-C a relativním snížením rizika kardiovaskulárních příhod byl pozorován u tří různých tříd léků: statiny, ezetimib a inhibitory proprotein konvertázy subtilisin/kexin typu 9 (PCSK9). Standardní lipidový panel představuje dobře zavedenou platformu pro hodnocení rizika, ale tento panel sám o sobě může být nedostatečný a/nebo zavádějící. V současné době většina screeningových doporučení doporučuje měření úplného lipidového profilu včetně celkového cholesterolu (TC), LDL-C, HDL-cholesterolu (HDL-C) a TG. [1-6]

Metoda

Pro stanovení LDL-C existují různé metody. Referenční metodou je ultracentrifugace, která je zdoluhavá a technicky náročná, proto není vhodná pro rutinu. Běžným přístupem ke stanovení LDL-C v klinické laboratoři je Friedewaldův výpočet, který odhaduje LDL-C z měření TC, triglyceridů (TG) a HDL-C, ale tato metoda se LDL-C pouze přibližuje a podléhá dobře zavedeným omezením. Koncem minulého století byly zavedeny homogenní metody LDL-C pro plně automatizované stanovení. Tyto metody umožňují přímé stanovení LDL-cholesterolu a vykazují další výhody oproti dříve používaným metodám. LDL-c direct FS je homogenní metoda bez centrifugačních kroků pro přímé měření LDL-cholesterolu. Blokované polymerní detergenty chrání HDL, VLDL a chylomikrony tak, že pouze LDL-cholesterol je selektivně stanoven enzymatickým měřením cholesterolu. [7]



Intenzita vzniklého barviva je přímo úměrná koncentraci cholesterolu a měří se fotometricky.

Reagentie


Složení a koncentrace

R1:	Pufr	pH 6.65	20 mmol/L
	Peroxidáza (POD)		≥ 2000 U/L
	N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyaniline sodium salt (H-DAOS)		≥ 0.7 mmol/L
R2:	Pufr	pH 8.15	20 mmol/L
	Cholesterol esteráza (CHE)		≥ 2000 U/L
	Cholesterol oxidáza (CHO)		≥ 2000 U/L
	peroxidáza (POD)		≥ 15000 U/L
	4-Aminoantipyrin (4-AA)		≥ 1.5 mmol/L

Skladování a stabilita

Reagentie jsou stabilní do data expirace uvedeného na soupravě, pokud jsou skladovány při teplotě 2 – 8 °C a je zabráněno kontaminaci. Činidla nezmrazujte a chraňte je před světlem.

Upozornění a bezpečnostní opatření

1.  Reagentie 1: Varování. Obsahuje: Směs 5-chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on a 2-methylen-2H-isothiazol-3-on (3:1). H317 Může vyvolat alergickou kožní reakci. P280 Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle. P302+P352 Při styku s kůží: Omyjte velkým množstvím vody/mýdla.
2. Reagentie 2 obsahuje azid sodný (0,95 g/l) jako konzervační látku. Nepolykat! Zabraňte kontaktu s kůží a sliznicemi.
3. Reagentie 1 obsahuje živočišný materiál. Zacházejte s produktem jako s potenciálně infekčním v souladu s univerzálními opatřeními a správnými klinickými laboratorními postupy.
4. Umělé směsi lipidů (např. Intralipid®) mohou test ovlivnit. Vzorky séra od pacientů léčených tímto přípravkem by se neměly používat.
5. Stanovení vzorků od pacientů se vzácným typem hyperlipoproteinémie (hyperlipoproteinémie typu III) může vést k falešným výsledkům.
6. Ve velmi vzácných případech mohou vzorky pacientů s gamapatií poskytnout zkrácené výsledky [8].
7. Léčba paracetamolem a metamizolem vede k falešně nízkým výsledkům ve vzorcích pacientů.
8. Přečtěte si prosím bezpečnostní listy a učiňte nezbytná opatření pro použití laboratorních činidel. Pro diagnostické účely by měly být výsledky vždy posuzovány s anamnézou pacienta, klinickými vyšetřeními a dalšími nálezy..
9. Pouze pro použití odborně vyškoleným personálem.

Nakládání s odpady

Viz místní zákonné požadavky.

Příprava reagentií

Reagentie jsou připraveny k použití.

Požadovaný materiál

Obecné laboratorní vybavení

Vzorek

Lidské sérum nebo heparinová plazma

Stabilita [9,10,11]:

1 den	při	20 – 25°C
7 dnů	při	4 – 8°C
3 měsíce	při	-20°C

Zmrazit pouze jednou. Zlikvidujte kontaminované

Pracovní postup

Základní nastavení pro BioMajesty JCA-BM6010/C

Vlnová délka	596/694 nm (bichromatická)
Teplota	37°C
Měření	Endpoint
Vzorek/kalibrátor	1.0 µL
Reagencie 1	80 µL
Reagencie 2	20 µL
Přidání reagencie 2	Cyklus 19 (286 s)
Absorbance 1	Cyklus 17/18 (231 s/244 s)
Absorbance 2	Cyklus 41/42 (586 s/600 s)
Kalibrace	Lineární

Výpočet

S kalibrátorem

$$\text{LDL-C [mg/dL]} = \frac{\Delta A \text{ Vzorku}}{\Delta A \text{ Kalibr.}} \times \text{Konc. Kal [mg/dL]}$$

Kalibrátory a kontroly

Pro kalibraci se doporučuje DiaSys TruCal Lipid. Hodnoty TruCal Lipid kalibrátoru byly návazné na NIST-SRM®-1951 Level 2. Pro interní kontrolu kvality použijte DiaSys TruLab L Level 1 a Level 2. Každá laboratoř by měla mít nastavena korektivní opatření pro případ, že by kontroly vyšly mimo povolené rozsahy

	Kat. č.	Balení
TruCal Lipid	1 3570 99 10 045	3 x 2 mL
TruLab L Level 1	5 9020 99 10 065	3 x 3 mL
TruLab L Level 2	5 9030 99 10 065	3 x 3 mL

Charakteristiky metody

Data byla vyhodnocena na analyzátoru BioMajesty JCA-BM6010/C.

Níže uvedené vzorové údaje se mohou mírně lišit v případě odchýlných podmínek měření conditions.

Rozsah měření až 500 mg/dl. Když hodnoty překročí tento rozsah, vzorky by se měly zředit 1 + 1 roztokem NaCl (9 g/l) a výsledek vynásobit 2.	
Limit detekce**	4 mg/dL

Interferující látky	Interference ≤ 9%
Kyselina askorbová	500 mg/dL
Bilirubin (kongovaný)	60 mg/dL
Bilirubin (nekonjugovaný)	60 mg/dL
Hemoglobin	1000 mg/dL
Lipémia (triglyceridy)	1500 mg/dL
N-acetylcysteine(NAC)	1600 mg/L
Další informace o interferujících látkách viz Young DS [12,13].	

Přesnost			
V sérii (n=20)	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3
Průměr [U/L]	90.8	149	433
CV [%]	0.912	0.909	0.582
Den ze dne (n=20)	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3
Průměr [mg/dL]	89.1	143	419
CV [%]	1.68	0.971	1.17

Srovnání metody (n=118)	
Test x	Konkurent LDL-C Cobas c 501
Test y	DiaSys LDL-c direct FS BioMajesty® JCA-BM6010C
Sklon křivky	0.997
Průsečík	-1.17
Koeficient korelace	0.997

** podle CLSI dokumentu EP17-A2, sv. 32, č. 8

Konverzní faktor

LDL-C [mg/dL] x 0.02586 = LDL-C [mmol/L]

Referenční rozmezí [14]

Žádoucí	< 100 mg/dL	2.59 mmol/L
Nad optimál	100 – 129 mg/dL	2.59 – 3.34 mmol/L
Hraničně vysoké	130 – 159 mg/dL	3.37 – 4.12 mmol/L
Vysoké riziko	160 – 189 mg/dL	4.14 – 4.89 mmol/L
Velmi vysoké riziko	> 190 mg/dL	> 4.92 mmol/L

Klasifikace rizik pro pacienty, management a léčebné terapie jsou popsány v AHA/ACC Guideline on the Management of Blood Cholesterol z roku 2018 [15].

Každá laboratoř by měla zkontrolovat, zda jsou referenční rozmezí přenosná na její vlastní populaci pacientů, a v případě potřeby stanovit vlastní referenční rozmezí

Klinická interpretace

Lipidové směrnice Evropské kardiologické společnosti (ESC)/Evropské společnosti pro aterosklerózu (EAS) 2019 stanovily cíle pro redukci lipoproteinů s nízkou hustotou (LDL) takto:

Velmi riziková pacient:

≥ 50% snížení LDL-C oproti výchozí hodnotě a absolutní cíl léčby LDL-C < 1,4 mmol/l (< 55 mg/dl)

Vysoce riziková pacient:

≥ 50% snížení LDL-C a cílový LDL-C < 1,8 mmol/l (< 70 mg/dl)

Literatura

1. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. New York: W H Freeman; 2015. Biochemistry. 8th edition. Section 26.3 The Complex Regulation of Cholesterol Biosynthesis Takes Place at Several Levels, Page 779 – 788.
2. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. New York: W H Freeman; 2015. Biochemistry. 8th edition. S Section 26.4 Important Derivatives of Cholesterol Include Bile Salts and Steroid Hormones, page 788 – 795.
3. Feingold KR, Grunfeld C. Introduction to Lipids and Lipoproteins. [Updated 2018 Feb 2]. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, et al., editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305896/>
4. Huff, T.; Jialal, I.I. Physiology, Cholesterol; StatPearls Publishing: Orlando, FL, USA, 2017.
5. Ference BA, Ginsberg HN et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. Eur Heart J 2017;38: 2459–2472.
6. Pirillo A., Norata G.D., Catapano A.L. (2020) LDL-Cholesterol-Lowering Therapy. In: Handbook of Experimental Pharmacology. Springer, Berlin, Heidelberg.
7. Nauck M, Warnick GR, Rifai N. Methods for measurement of LDL-cholesterol: a critical assessment of direct measurement by homogeneous assays versus calculation. Clin Chem 2002;48:236-54.
8. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.

9. WHO Publication: Use of anticoagulants in diagnostic laboratory. investigations, WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2:Jan 2002.
10. Jansen EHLM, Beekhof PK, Schenk E. Long Term Stability of Lipid Metabolism in Frozen Human Serum: Triglycerides, Free Fatty Acids, Total-, HDL- and LDL-cholesterol, Apolipoprotein-A1 and B. J Mol Biomark Diagn 2014;5:4.
11. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 22-3.
12. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
13. Young DS. Effects on Clinical Laboratory Tests - Drugs Disease, Herbs & Natural Products, <https://clinfo.wiley.com/aaccweb/aacc/>, accessed in February 2021. Published by AACC Press and John Wiley and Sons, Inc.
14. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of the 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). JAMA. 2001; 285(19): 2486-2497.
15. Grundy SM, Stone NJ, Bailey AL, Beam C, Birtcher KK, Blumenthal RS, et al. 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. J Am Coll Cardiol. 2018;73(24):e285-e350.

Vyrobeno:



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Germany
www.diasys-diagnostics.com