

Cholesterol FS*

Diagnostická reagencie pro kvantitativní in vitro stanovení cholesterolu v séru nebo plazmě fotometricky

Katalogová čísla

Kat.č.	Balení
1 1300 99 10 021	R 6 x 25 mL
1 1300 99 10 026	R 6 x 100 mL
1 1300 99 10 023	R 1 x 1000 mL
1 1300 99 10 704	R 8 x 50 mL
1 1300 99 10 717	R 6 x 100 mL
1 1300 99 10 917	R 10 x 60 mL
1 1300 99 90 314	R 12 x 25 mL

Shrnutí [1,2]

Cholesterol je složkou buněčných membrán, předchůdce steroidních hormonů, žlučových kyselin syntetizovaných tělními buňkami, absorbovanými jídlem¹. Cholesterol je transportován v plazmě pomocí lipoproteinů, a to komplexy mezi lipidy a apolipoproteiny¹. Existují čtyři třídy lipoproteinů: lipoproteiny s vysokou hustotou (HDL), lipoproteiny s nízkou hustotou (LDL), lipoproteiny s velmi nízkou hustotou (VLDL) a chylomikrony. Zatímco LDL se podílí na transportu cholesterolu k periferním buňkám, HDL zodpovídá za vychytávání cholesterolu z buněk. Zmíněné čtyři různé třídy lipoproteinů projevují odlišný vztah ke koronární ateroskleróze¹. LDL-cholesterol (LDL-C) přispívá k vytváření aterosklerotického plátu ve vnitřní vrstvě stěn artérií a úzce souvisí s koronárním srdečním onemocněním (CHD), vedoucím k úmrtí. I tehdy, je-li celkový cholesterol v normálním rozmezí, znamená zvýšená koncentrace LDL-C vysoké riziko. HDL-C má ochranný účinek tím, že potlačuje tvorbu plátu a jeví obrácený vztah k výskytu koronárního srdečního onemocnění. Nízké hodnoty HDL-C ve skutečnosti vytvářejí nezávislý rizikový faktor. Stanovení hladiny celkového cholesterolu (TC) u jednotlivce se používá za účelem monitorování stavu, zatímco za účelem lepšího posouzení rizika je nutné změřit navíc HDL-C a LDL-C.

V posledních letech ukázalo několik řízených klinických pokusů, v nichž se u testovaných jedinců použily dieta, změna způsobu života a různé léky (zejména HMG CoA inhibitory reduktázy [statiny]), že snížení hladin celkového cholesterolu a LDL-C výrazně snižují riziko CHD [2].

Metoda

"CHOD-PAP": Enzymatické fotometrické stanovení

Princip

Stanovení cholesterolu po enzymatické hydrolyze a oxidaci [3,4]. Barevným indikátorem je chinonimin, který vzniká z 4-aminofenazonu, fenolu a peroxidu vodíku za katalytického působení peroxidázy (Trinderova reakce) [3].

Cholesterol ester + H₂O $\xrightarrow{\text{CHE}}$ Cholesterol + mastná kyselina

Cholesterol + O₂ $\xrightarrow{\text{CHO}}$ Cholesterol-3-one + H₂O₂

2 H₂O₂ + 4-Aminoantipyrine + Phenol $\xrightarrow{\text{POD}}$ Quinoneimine + 4 H₂O

Reagencie

Komponenty a koncentrace

Reagencie:		
Good pufr	pH 6.7	50 mmol/L
Fenol		5 mmol/L
4-aminoantipyrin		0.3 mmol/L
Cholesterolesteráza	(CHE)	≥ 200 U/L
Cholesteroloxidáza	(CHO)	≥ 50 U/L
Peroxidáza	(POD)	≥ 3 kU/L

Pokyny pro skladování a stabilita reaglií

Reagencie je stabilní až do konce uvedeného měsíce expirace, pokud je skladována při teplotě 2-8 °C, chráněna před světlem a je zabráněno kontaminaci. Reagencie nezmrazujte!

Poznámka: Je třeba uvést, že měření není ovlivněno občasnými barevnými změnami, pokud je absorbance činidla < 0,3 při 546 nm.

Upozornění a bezpečnostní opatření

1. Reagencie obsahuje azid sodný (0,95 g/l) jako konzervační látku. Nepožívat! Zabraňte kontaktu s kůží a sliznicemi.
2. Ve velmi vzácných případech mohou vzorky pacientů s gamapatií poskytnout zkeresené výsledky [8].
3. Léky obsahující N-acetylcystein (NAC), paracetamol a metamizol vedou u vzorků pacientů k falešně nízkým výsledkům.
4. Seznamte se s bezpečnostními listy a dodržujte nezbytná opatření při používání laboratorních činidel. Pro diagnostické účely je třeba výsledky vždy posuzovat s anamnézou pacienta, klinickými vyšetřeními a dalšími nálezy.
5. Pouze pro profesionální použití!

Nakládání s odpady

Řiďte se místními právními předpisy.

Příprava reaglií

Reagencie je připraveno k použití.

Požadované, ale nedodávané materiály

Roztok NaCl 9 g/l

Obecné laboratorní vybavení

Vzorek

Sérum, heparinová plazma nebo EDTA plazma

Stabilita [6]:	7 dní	při	20 – 25°C
	7 dní	při	4 – 8°C
	3 měsíce	při	-20°C

Kontaminované vzorky zlikvidujte! Zmrazte pouze jednou!

Pracovní postup

Aplikační listy pro automatizované systémy jsou k dispozici na vyžádání.

Vlnová délka	500 nm, Hg 546 nm
Kyveta	1 cm
Teplota	20 – 25°C/37°C
Měření	Proti reagenčnímu blanku

Vzorek/Kalibrátor	Blank	Vzorek/kalibrátor
Dest. voda	-	10 µL
Reagent	1000 µL	1000 µL

Promíchejte, inkubujte 20 minut při 20-25 °C nebo 10 minut při 37 °C. Odečtěte absorbanci do 60 min proti reag.blanku

Výpočet

S kalibrátorem

$$\text{Cholesterol [mg/dL]} = \frac{A \text{ Vzorku}}{A \text{ Kal.}} \times \text{konc. kal. [mg/dL]}$$

Konverzní faktor

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

Kalibrátory a kontroly

Pro kalibraci na automatických fotometrických systémech se doporučuje kalibrátor DiaSys TruCal U. Přidělené hodnoty kalibrátoru jsou navázány na referenční metodu plynové chromatografie s izotopovým ředěním (GC-IDMS). Ke kalibraci lze alternativně použít soupravu Cholesterol Standard FS. Pro interní kontrolu kvality by měly být použity kontroly DiaSys TruLab N a P nebo TruLab L. Každá laboratoř by měla stanovit nápravná opatření v případě, že kontroly vyjdou mimo povolené rozsahy.

	Kat.č.	Balení
TruCal U	5 9100 99 10 063	20 x 3 mL
	5 9100 99 10 064	6 x 3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 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
Cholesterol Standard FS	1 1100 99 10 030	6 x 3 mL

Charakteristika metody

Měřicí rozsah

Test byl vyvinut pro stanovení koncentrace cholesterolu v rozmezí 3 - 750 mg/dl (0,08 - 19,4 mmol/l). Pokud hodnoty překročí toto rozmezí, je třeba vzorky zředit 1 + 4 roztokem NaCl (9 g/l) a výsledek vynásobit 5.

Specificita/interference

Kyselina askorbová do 5 mg/dl, bilirubin do 20 mg/dl, hemoglobin do 200 mg/dl a lipémie do 2 000 mg/dl triglyceridů neinterferovaly.

Další informace o interferujících látkách jsou uvedeny v Young DS [7].

Citlivost/meze detekce

Dolní mez detekce je 3 mg/dl (0,08 mmol/l).

Přesnost (při 37 °C)

Přesnost v rámci testu n = 20	Průměr [mg/dL]	SD [mg/dL]	CV [%]
Vzorek 1	108	1.76	1.62
Vzorek 2	236	1.45	0.61
Vzorek 3	254	1.57	0.62

Přesnost mezi testy n = 20	Průměr [mg/dL]	SD [mg/dL]	CV [%]
Vzorek 1	104	1.19	1.14
Vzorek 2	211	2.57	1.22
Vzorek 3	245	2.28	0.93

Srovnání metody

Srovnání testu DiaSys Cholesterol FS (y) s komerčně dostupným testem (x) na 78 vzorcích poskytlo následující výsledky:

$$y = 1,00 x - 2,50 \text{ mg/dl}; r = 0,995$$

Referenční rozsah [5]

Normální	≤ 200 mg/dl (5,2 mmol/l)
Rizikové	200 - 240 mg/dl (5,2 - 6,2 mmol/l)
Vysoce rizikové	> 240 mg/dl (> 6,2 mmol/l)

Každá laboratoř by měla ověřit, zda jsou referenční rozsahy přenositelné na její vlastní populaci pacientů, a v případě potřeby stanovit vlastní referenční rozsahy.

Klinická interpretace

Evropská pracovní skupina pro koronární prevenci doporučuje snížit koncentraci TC na méně než 190 mg/dl (5,0 mmol/l) a LDL-cholesterolu na méně než 115 mg/dl (3,0 mmol/l) [2].

Literatura

1. 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.
2. Recommendation of the Second Joint Task Force of European and other Societies on Coronary Prevention. Prevention of coronary heart disease in clinical practice. Eur Heart J 1998; 19: 1434-503.
3. Artiss JD, Zak B. Measurement of cholesterol concentration. In: Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, eds. Handbook of lipoprotein testing. Washington: AACC Press, 1997: p. 99-114.
4. Deeg R, Ziegenhorn J. Kinetic enzymatic method for automated determination of total cholesterol in serum. Clin Chem 1983; 29: 1798-802.
5. Schaefer EJ, McNamara J. Overview of the diagnosis and treatment of lipid disorders. In: Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, eds. Handbook of lipoprotein testing. Washington: AACC press, 1997: p. 25-48.
6. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001. p. 22-3.
7. 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.
8. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.

Výrobce



DiaSys Diagnostic Systems GmbH

Alte Strasse 9 65558 Holzheim Germany