

## LHDL - CHOLESTEROL přímo

**Diagnostická reagencie pro kvantitativní in vitro stanovení HDL cholesterolu (HDL-C) v séru nebo plazmě fotometricky.**

### Katalogové číslo:

**10 855 500 ml ( 5 x 80 ml + 1 x 100 ml )**

**10 856 100 ml ( 5 x 16 ml + 1 x 20 ml )**

### Shrnutí<sup>1,2</sup>:

Cholesterol je složkou buněčných membrán, předchůdce steroidních hormonů, žlučových kyselin syntetizovaných tělními buňkami, absorbovanými jídlem. Cholesterol je transportován v plazmě pomocí lipoproteinů, a to komplexy mezi lipidy a apolipoproteiny. 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 ateroskleróze. LDL-cholesterol (LDL-C) přispívá k vytváření aterosklerotického plátu ve vnitřní vrstvě stěn arterií 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.

### Metoda:

Předcházející stanovení HDL-Cholesterolu byly prováděny pomocí časově náročných precipitačních metod<sup>3</sup>.

Stanovení HDL – cholesterolu je homogenní metoda bez centrifugace. Protilátky proti lidským lipoproteinům tvoří komplexy s LDL, VLDL a chylomikrony. HDL – cholesterol je selektivně stanoven enzymatickou reakcí<sup>4</sup>.

### Princip:

Protilátky proti lidským β-lipoproteinům  
LDL, VLDL, chylomikrony →  
Komplexy antigen-protilátka + HDL

CHE a CHO  
HDL-cholesterol + H<sub>2</sub>O + O<sub>2</sub> → Cholesterol-3-on + mastná  
kyselina + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

POD

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + F-DAOS + 4-aminofenazon → modrý komplex + H<sub>2</sub>O

### Reagencie:

#### Složení a koncentrace:

**R1:**  
GOOD pufr pH 7,0 25 mmol/l  
4-aminofenazon 0,75 mmol/l  
Peroxidáza 33,3 μkat/l  
Askorbát oxidáza 37,5 μkat/l  
Protilátky (ovčí) proti lidskému β-lipoproteinu

**R2:**  
GOOD pufr pH 7,0 30 mmol/l  
Cholesterolesteráza 66,7 μkat/l  
Cholesteroxidáza 333,3 μkat/l  
N-Ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxy-  
4-fluoranilin, sodná sůl (F-DAOS) 0,8 mmol/l

### Skladování a stabilita:

Diagnostické použití in vitro.

Reagencie, skladované při 2–8°C, jsou stabilní do konce měsíce deklarovaného data na balení. Chraňte reagencie před světlem. Zabráňte kontaminaci. Reagencie nesmí zmrznout!

### Příprava reagenčních roztoků:

Činidla R1 a R2 jsou připravena k použití a jsou stabilní do konce měsíce deklarovaného data na balení. Stabilita činidel v analyzátoru při 2–8°C je 4 týdny.

**Poznámka:** Měření není ovlivněno občasnou barevnou změnou, pokud absorpance směsné reagencie (4R1 + 1R2) je < 0,03 při 600–700 nm.

### Další potřebné materiály:

NaCl roztok 9 g/l  
Obecné laboratorní vybavení.

### Vzorek:

Sérum, heparizovaná plazma<sup>5</sup>.  
Stabilita: 2 dny při 20 - 25 °C  
7 dnů při 4 - 8 °C  
3 měsíce při - 20 °C

Nutno zabránit kontaminaci vzorku. Vzorky lze zamrazit pouze jednou.

## Pracovní postup:

*Aplikace pro automatické analyzátory je dostupná na vyžádání.*

Vlnová délka: 600 / 700 nm (bichromatické měření)

Kyveta: 1 cm

Teplota: 37°C

Měření: proti reagenčnímu blanku

|            | Vzorek/ $\mu$ l | Standard/ $\mu$ l | Blank/ $\mu$ l |
|------------|-----------------|-------------------|----------------|
| Vzorek     | 2,4             | -                 | -              |
| Dest. voda | -               | -                 | 2,4            |
| Standard   | -               | 2,4               | -              |
| R1         | 240             | 240               | 240            |

Dobře promíchat a inkubovat při 37°C 5 minut. Změřit absorbanci  $A_1$  vzorku ( $A_s$ ), standardu ( $A_{st}$ ) a blanku ( $A_{bl}$ ).

Potom přidat:

| R2 | 60 | 60 | 60 |
|----|----|----|----|
|    |    |    |    |

Dobře promíchat a inkubovat 5 minut při 37°C. Změřit absorbanci  $A_2$  vzorku ( $A_s$ ), standardu ( $A_{st}$ ) a blanku ( $A_{bl}$ ).

## Výpočet:

$$C_{HDL-C} = C_{st} \cdot (\Delta A_s - \Delta A_{bl}) / (\Delta A_{st} - \Delta A_{bl}) \quad [\text{mmol/l}]$$

$C_{st}$  .....koncentrace standardu uvedená v atestu [mmol/l]

$A_s$  ..... absorbance vzorku

$A_{st}$  ..... absorbance standardu

$A_{bl}$  ..... absorbance blanku

Výsledek se vydá v mmol/l na 2 platná desetinná místa.

## Kalibrace:

Ke kalibraci je doporučen <sup>9</sup>LDL/HDL kalibrátor (k.č. BV 50095). Přímá návaznost tohoto kalibrátoru je na NIST 1951, koncentrace byla stanovena s celkovou nejistotou  $U_{cal} = 7,3\%$ .

## Řízení kvality:

Pro vnitřní kontrolu kvality platí doporučení ČSKB SIKK, které je dostupné na webové stránce <http://www.cskb.cz> a pro externí hodnocení kvality je třeba využít některý komerčně dostupný systém, jehož výsledky jsou v ČR akceptovány. Bližší informace na <http://www.sekk.cz>.

Pro vnitřní kontrolu kvality použijte kontrolní sérum s deklarovanou hodnotou koncentrace HDL – C:

<sup>D</sup> BV Lipid – Level 1 kat.č. BV 30029 3 ml

<sup>D</sup> BV Lipid – Level 2 kat.č. BV 30039 3 ml

## Referenční hodnoty<sup>7</sup>:

Doporučení Národního cholesterolového vzdělávacího programu (National Cholesterol Education Program, NCEP):

Nízký HDL-cholesterol (vysoce rizikový faktor pro CHD)  
< 1,04 mmol/l

Vysoký HDL-cholesterol („negativní“ rizikový faktor pro CHD)  
≥ 1,55 mmol/l

Řada dalších faktorů přispívá k nízké hladině HDL-cholesterolu: nadváha a obezita, kouření, bez pohybové aktivity, léky jako jsou beta-blokátory a progesteronové látky, genetické faktory.

Každá laboratoř by si měla ověřit, jestli jsou tyto referenční hodnoty vhodné i pro jejich populaci pacientů a stanovit svoje vlastní referenční hodnoty pokud je to nutné.

## Klinická interpretace:

Epidemiologické studie ukazují, že koncentrace HDL-C < 0,9 mmol/l u mužů a < 1,0 mmol/l u žen, obzvláště v kombinaci s koncentrací triglyceridů na lačno > 2 mmol/l, předpovídá vysoké riziko kardiovaskulárních onemocnění<sup>2</sup>.

## Měřicí rozsah/linearita:

0,03 – 4,7 mmol/l

## Funkční senzitivita/mez stanovitelnosti:

0,03 mmol/l

## Analytická senzitivita/citlivost:

0,015 mmol/l

## Bias:

2,2% ( pro 1,703 mmol/l )

## Nejistota:

Byla stanovena z nejistoty kalibračního materiálu a nejistoty měření jako rozšířená standardní nejistota ( $k=2$ )

$$U_{st} = 2\sqrt{(U_{cal}^2 + U_{method}^2)} = 2\sqrt{(7,3^2 + 1,88^2)} = 15,08\%$$

## Analytická selektivita:

Stanovení není ovlivňováno kyselinou askorbovou do 2,84 mmol/l, hemoglobinem do 5 g/l, bilirubinem do 684  $\mu$ mol/l a lipemii do 13,2 mmol/l triacylglycerolů. Více informací o interferujících látkách naleznete v Young DS<sup>5</sup>.

## Přesnost:

Přesnost v sérii: (n=20)

| Vzorek   | Průměr<br>mmol/l | SD<br>mmol/l        | CV<br>% |
|----------|------------------|---------------------|---------|
| vzorek 1 | 0,53             | $4,4 \cdot 10^{-4}$ | 0,81    |
| vzorek 2 | 1,45             | 0,01                | 0,73    |
| vzorek 3 | 3,23             | 0,03                | 0,82    |

Přesnost ze dne na den: (n=20)

| Vzorek   | Průměr<br>mmol/l | SD<br>mmol/l | CV<br>% |
|----------|------------------|--------------|---------|
| vzorek 1 | 1,14             | 0,02         | 1,88    |

## Srovnání metod:

Srovnání stanovení mezi diagnostickou soupravou BioVendor <sup>L</sup>HDL-Cholesterol přímo (y) a komerčně dostupnou soupravou (x) bylo provedeno na 100 vzorcích. Rovnice regresní přímky má tvar  $y = 1,05x + 0,015$ ;  $r = 0,995$ .

## Upozornění:

1. Vzorky s koncentrací HDL-C vyšší než 4,7 mmol/l nutno ředit 1 + 2 0,9% roztokem NaCl a výsledek násobit 3x.

2. Kalibrátor není součástí setu. Je možné ho na přání objednat. LDL/HDL–kalibrátor (BV 50095) 3 ml. Lyofilizovaný produkt obsahuje HDL–C a LDL–C založený na lidské matici. Koncentrace každé sloučeniny v mmol/l je označena na štítku každé lahvičky.

**Příprava:** Rozpusťte obsah každé lahvičky kalibrátoru s 3,0 ml destilované vody.

**Stabilita:** Kalibrátor, uložený při 2–8°C a chráněný před světlem v uzavřené lahvičce, je stabilní dle data expirace uvedeného na štítku lahvičky. Po rozpuštění je stabilní 5 dní při 2–8°C nebo jeden měsíc při –20°C. Rozpuštěný kalibrátor může být

v alikvótech zamrazen. Nepoužívejte rozpuštěný kalibrátor, pokud se zakalí, nebo pokud jeví známky mikrobiální kontaminace.

3. Reagencie 1: Upozornění: H317 Může vyvolat alergickou reakci při styku s kůží. P280 Používejte ochranné rukavice/ ochranný oblek/ ochranu očí/ ochranu obličeje. P302+P352 Při zasažení kůže: Omyje dostatečným množstvím vody/mýdla. P333+P313 při podráždění kůže nebo pokud se vyskytne vyrážka: Vyhledejte lékařskou pomoc.

4. Reagencie obsahují biologický materiál zvířecího původu. Zacházejte s nimi jako s potenciálně infekčním materiálem, dodržujte základní bezpečnostní opatření a pracujte s nimi podle správné laboratorní praxe.

5. Při práci s touto reagentií dodržujte nutná bezpečnostní opatření. Více informací naleznete v Bezpečnostním listu.

6. Likvidujte v souladu s platnými předpisy.

7. Pro diagnostické použití, výsledky by měly být posuzovány v kontextu historie léčby pacienta, klinickými zkouškami a dalšími nálezy.

8. Ve vzácných případech u pacientů s gamapathií se mohou vyskytnout falešné výsledky (8).

9. Pouze pro použití odborně vyškoleným personálem.

10. Léky obsahující N-acetylcystein (NAC), acetaminofen a metamizol způsobují falešně nízké výsledky.

### 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. 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.
4. Nauck M, Maerz W, Wieland H. New immunoseparation-based homogenous assay for HDLcholesterol compared with three homogenous and two heterogeneous methods for HDL-cholesterol. Clin Chem 1998; 44: 1443-51.
5. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 22-3.
6. 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.
7. 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.
8. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assay: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243

### Vyrobeno:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.  
Karásek 1767/1, 621 00 Brno, Česká republika

