

HDL DIRECT

	(PL)	HC-	OS-	BS-
Nazwa zestawu	Nr kat.	HDL DIRECT	HDL DIRECT	HDL DIRECT
CORMAY HDL DIRECT	2-179	1-REAGENT 2 x 37 ml	2 x 48 ml	2 x 41,5 ml
CORMAY HDL DIRECT 30	2-181	2-REAGENT 2 x 12 ml	2 x 18 ml	2 x 16 ml
CORMAY HDL DIRECT 60	2-182			
CORMAY HDL DIRECT 120	2-183			
HC-HDL DIRECT	4-579			
OS-HDL DIRECT	9-411			
B50-HDL DIRECT	5-508			

ZASTOSOWANIE

Zestaw diagnostyczny do oznaczania stężenia frakcji HDL cholesterolu (metoda bezpośrednia), przeznaczony do wykonywania oznaczeń manualnie (metody: Sample Start i Reagent Start) oraz na analizatorach automatycznych. Odczynniki powinny być stosowane do badań diagnostycznych *in vitro*, przez odpowiednio przeszkolony personel, tylko zgodnie z ich przeznaczeniem, w odpowiednich warunkach laboratoryjnych.

WPROWADZENIE

Lipoproteiny osocza są sferycznymi cząsteczkami zawierającymi cholesterol, triglicerydy, fosfolipidy i białka. Proporcja ilości białek do ilości lipidów decyduje o gęstości lipoprotein, która jest podstawą ich klasyfikacji. Wyróżnia się następujące klasy lipoprotein: chylomikrony, lipoproteiny o bardzo niskiej gęstości (VLDL), lipoproteiny o niskiej gęstości (LDL) i lipoproteiny o wysokiej gęstości (HDL). Rolą HDL jest transport cholesterolu z tkanek obwodowych do wątroby. Niski poziom HDL wiąże się ze zwiększonym ryzykiem choroby wieńcowej. Oznaczenie stężenia frakcji HDL cholesterolu wykorzystuje się do identyfikacji pacjentów wysokiego ryzyka.

ZASADA METODY

Zestaw służy do bezpośredniego oznaczania HDL cholesterolu w surowicy i osoczu metodą homogenną, bez uprzedniego przygotowania i odwirowywania próbki. Metoda z selektywnym detergentem i akceleratorem. Podczas pierwszej fazy, cząsteczki LDL, VLDL i chylomikronów uwalniają wolny, nie pochodzący z frakcji HDL cholesterol, który poddany enzymatycznej reakcji produkuje nadtlenuk wodoru, który jest następnie rozkładany z udziałem peroksydazy i DSBmT. Na tym etapie nie dochodzi do utworzenia żadnego barwnego związku. Podczas drugiego etapu, swoisty detergent rozpuszcza HDL-cholesterol. W połączeniu z działaniem oksydazy cholesterolu (CO) i esterazy cholesterolu (CE) oraz peroksydazy i 4-AAP rozwija się barwna reakcja, która jest proporcjonalna do stężenia HDL-cholesterolu.

LDL, VLDL, Chylomikrony $\xrightarrow{\text{Akcelerator} + \text{CO}}$ Niereaktywne LDL, VLDL, Chylomikrony
 $\xrightarrow{\text{DSBmT} + \text{Peroksydaza}}$

HDL-C + Selektywny Detergent $\xrightarrow{\text{Esteraza cholesterolu}}$ cholesterolon + H₂O
 $\xrightarrow{\text{Oksydaza cholesterolu}}$

H₂O₂ + 4-AAP + DSBmT $\xrightarrow{\text{Peroksydaza}}$ barwny produkt

ODCZYNNIKI

Skład zestawu

	CORMAY HDL DIRECT	CORMAY HDL DIRECT 30	CORMAY HDL DIRECT 60	CORMAY HDL DIRECT 120
1-REAGENT	4 x 30 ml	3 x 30 ml	3 x 50 ml	3 x 100 ml
2-REAGENT	4 x 10 ml	1 x 30 ml	1 x 50 ml	1 x 100 ml

Odczynniki przechowywane w temp. 2-8°C zachowują trwałość do daty ważności podanej na opakowaniu. Odczynniki przechowywane na pokładzie aparatu w 2-10°C są stabilne przez 12 tygodni (Biolis 30i).

Stężenia składników w zestawie

1-REAGENT	
Bufor	
Oksydaza cholesterolu (<i>E.coli</i>)	< 1000 U/l
Peroksydaza (chrzanowa)	< 1300 ppG U/l
Sól dwusodowa N,N-bis (4-sulfobutyl)-m-toluidyny (DSBmT)	< 1 mM
Akcelerator	< 1 mM
Konserwant	< 0,06 %
Oksydaza askorbinianowa (<i>Curcubita</i> spp.)	< 3000 U/l
2-REAGENT	
Bufor	
Esteraza cholesterolu (<i>Pseudomonas</i> spp.)	< 1500 U/l
4-aminoantypiryna (4-AAP)	< 1 mM
Detergent	< 2 %
Konserwant	< 0,06 %

Ostrzeżenia i uwagi

- Chronić przed bezpośrednim światłem słonecznym i zanieczyszczeniem!
- Należy zapoznać się z Kartą charakterystyki (MSDS), która zawiera szczegółowe informacje dotyczące zasad bezpiecznego przechowywania i stosowania wyrobów.
- 1-REAGENT i 2-REAGENT spełniają kryteria klasyfikacji zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 1272/2008.

Składniki:

1-REAGENT oraz 2-REAGENT zawierają mieszaninę poreakcyjną 5-chloro-2-metylo-2H-izotiazol-3-onu i 2-metylo-2H-izotiazol-3-onu (3:1)

Uwaga

H317 Może powodować reakcję alergiczną skóry. P280 Stosować rękawice ochronne, odzież ochronną, ochronę oczu lub ochronę twarzy. P302-P352 W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Umyć dużą ilością wody z mydłem

MATERIAŁ BIOLOGICZNY

Surowica lub osocze krwi pobrane na heparynę lub EDTA. Antykoagulanty zawierające cytrynian nie powinny być stosowane. Przed pobraniem krwi pacjent powinien zachować ścisłą dietę (12-14 godzin).

Surowica: Należy pobrać krew żylną i pozostawić do wykrzepiania. Odwirować i oddzielić surowicę od krwinek czerwonych tak szybko jak to jest możliwe (w ciągu 3 godzin). Osocze: Próbkę należy pobrać na EDTA lub heparynę litową bądź sodową. Odwirować i oddzielić osocze od krwinek czerwonych tak szybko jak to jest możliwe (w ciągu 3 godzin).

Surowica i osocze nie powinny pozostawać w temp. 15-30°C dłużej niż 14 godzin. Jeśli test nie zostanie wykonany w ciągu 14 godzin, surowica lub osocze powinny być przechowywane w temp. 2-8°C do 1 tygodnia. Próbkę przechowywaną w temp. -20°C są stabilne przez 3 miesiące. Próbki mogą być mrożone tylko raz. Niemniej zaleca się wykonanie badań na świeżo pobranym materiale biologicznym!

WYPOSAŻENIE DODATKOWE

- analizator automatyczny lub fotometr umożliwiający odczyt przy długości fali 630 nm;
- termostat na 37°C;
- ogólne wyposażenie laboratoryjne;

WYKONANIE OZNACZENIA

Odczynniki są gotowe do użycia. Programy do analizatorów dostarczamy na życzenie.

Oznaczenie manualne

długość fali	630 nm
temperatura	37°C
kuweta	1 cm
typ reakcji	Endpoint

Do kuwety napipetować:

	próbna badana (PB)	próbna wzorcowa (PW)
1-REAGENT	1200 µl	1200 µl

Ogrzać do temperatury oznaczenia (37°C). Następnie dodać:

kalibrator	-	10 µl
materiał badany	10 µl	-

Dokładnie wymieszać, inkubować 5 min. w temp. 37°C. Następnie dodać:

2-REAGENT	400 µl	400 µl
-----------	--------	--------

Dokładnie wymieszać, inkubować w temperaturze oznaczenia. Po 7 minutach odczytać absorbancję próby wzorcowej A(PW) i próby badanej A(PB) wobec powietrza lub wody.

Obliczanie wyników

stężenie frakcji cholesterolu HDL = $\frac{A(PB)}{A(PW)}$ x stężenie kalibratora

WARTOŚCI PRAWIDŁOWE ⁴

surowica / osocze	40 – 60 mg/dl 1,04 – 1,55 mmol/l
-------------------	-------------------------------------

Ponieważ na stężenie cholesterolu HDL mają wpływ takie czynniki jak palenie, wysiłek fizyczny, hormony, wiek i płeć zalecane jest opracowanie przez każde laboratorium własnych zakresów wartości prawidłowych charakterystycznych dla lokalnej populacji.

KONTROLA JAKOŚCI

W celu wewnętrznej kontroli jakości, do każdej serii oznaczeń należy dołączyć surowice kontrolne CORMAY LIPID CONTROL 1 (Nr kat. 5-179) i CORMAY LIPID CONTROL 2 (Nr kat. 5-180) lub CORMAY SERUM HN (Nr kat. 5-172) i CORMAY SERUM HP (Nr kat. 5-173).

Do kalibracji polecane jest stosowanie zestawu CORMAY HDL/LDL CALIBRATOR (Nr kat. 5-178). Stabilność krzywej kalibracyjnej zależy od używanego analizatora. Krzywa kalibracyjna powinna być sporządzana co 12 tygodni (Biolis 30i), przy każdej zmianie serii odczynnika lub w razie potrzeby np. jeśli wartości oznaczenia surowic kontrolnych nie mieszczą się w wyznaczonym zakresie.

CHARAKTERYSTYKA OZNACZENIA

Podane niżej rezultaty uzyskano używając aparatów Epol 20 i Multi+ do oznaczeń manualnych oraz analizatora automatycznego Biolis 24i Premium. W przypadku przeprowadzenia oznaczenia na innym aparacie otrzymane wyniki mogą różnić się od podanych.

- Czułość:**
11,5 mg/dl (0,298 mmol/l) – Epol 20
1,1 mg/dl (0,028 mmol/l) – Biolis 24i Premium
- Liniość:**
do 282 mg/dl (7,30 mmol/l) – Epol 20
do 200 mg/dl (5,18 mmol/l) – Biolis 24i Premium

Dla wyższych stężeń próbkę należy rozcieńczyć 0,9% roztworem NaCl, oznaczenie powtórzyć, a wynik pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

Specyficzność / Interferencje

Bilirubina bezpośrednia (sprężona) do 60 mg/dl, bilirubina całkowita do 60 mg/dl, hemoglobina do 1 g/dl, kwas askorbinowy do 100 mg/dl, Intralipid do 1800 mg/dl, triglicerydy do 2000 mg/dl i gamma-globuliny do 5000 mg/dl nie wpływają na wyniki oznaczenia.

N-Acetylo-p-benzochinonoinamina (NAPQI), metabolit paracetamolu (acetaminofenu), może powodować fałszywie niskie wyniki oznaczeń u pacjentów z toksycznie wysokim stężeniem paracetamolu.

Precyzja (Multi+)

Powtarzalność (run to run) n = 10	Średnia [mg/dl]	SD [mg/dl]	CV [%]
poziom 1	39,51	1,24	3,13
poziom 2	69,63	0,75	1,08

Precyzja (Biolis 24i Premium)

Powtarzalność (run to run) n = 10	Średnia [mg/dl]	SD [mg/dl]	CV [%]
poziom 1	43,30	0,61	1,42
poziom 2	58,20	0,88	1,51
Odtwarzalność (day to day) n = 20	Średnia [mg/dl]	SD [mg/dl]	CV [%]
poziom 1	43,91	1,68	3,84
poziom 2	58,02	1,06	1,83

Porównanie metody

Porównanie wyników oznaczeń HDL cholesterolu wykonanych na **Epol 20** (y) i na **Biolis 50i** (x), z użyciem 24 próbek, dało następujące wyniki:
y = 1,0578 x - 4,4324 mg/dl;
R = 0,958 (R – współczynnik korelacji)

Porównanie wyników oznaczeń HDL cholesterolu wykonanych na **Biolis 24i Premium** (y) i na **ADVIA 1650** (x), z użyciem 58 próbek, dało następujące wyniki:
y = 0,8436 x + 3,2579 mg/dl;
R = 0,984 (R – współczynnik korelacji)

UTYLIZACJA ODPADÓW

Postępować zgodnie z lokalnie obowiązującymi przepisami.

LITERATURA

- Gotto, A.M. Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia. Hospital Practice 1988; 23 Suppl:1 4-13.
- Badimon, J. J., Badimon, L., Fuester V. Regression of Atherosclerotic Lesions by High Density Lipoprotein Plasma Fraction in the Cholesterol-Fed Rabbit. J Clin Invest 1990; 85:1234-41.
- Warnick, G. Russell, Wood, Peter D. National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol: Executive Summary. Clin Chem 1995; 41(10):1427-1433.
- Alan H.B. Wu: Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests, 4th ed. WB Saunders, 564 (2006).
- Camps, J. Altered Composition of Lipoproteins in Liver Cirrhosis Compromises Three Homogeneous Methods for HDL-Cholesterol. Clinical Chemistry, 1999; 45:685-688

Data wydania: 06. 2023.

HDL DIRECT

Kit name	(EN) Cat. No
CORMAY HDL DIRECT	2-179
CORMAY HDL DIRECT 30	2-181
CORMAY HDL DIRECT 60	2-182
CORMAY HDL DIRECT 120	2-183
HC-HDL DIRECT	4-579
OS-HDL DIRECT	9-411
B50-HDL DIRECT	5-508

INTENDED USE

Diagnostic kit for determination of HDL-cholesterol concentration (direct method) used both for manual assay (Sample Start and Reagent Start method) and in several automatic analysers. The reagents must be used only for *in vitro* diagnostic, by suitably qualified laboratory personnel, only for the intended purpose, under appropriate laboratory conditions.

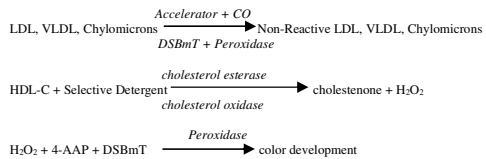
INTRODUCTION

Plasma lipoproteins are spherical particles containing varying amounts of cholesterol, triglycerides, phospholipids and proteins. The relative protein and lipid determine the density of these lipoproteins and provide the basis on which to begin their classification. The classes are: chylomicron, very-low-density lipoprotein (VLDL), low-density-lipoprotein (LDL) and high-density lipoprotein (HDL). The principle role of HDL in lipid metabolism is the uptake and transport of cholesterol from peripheral tissues to the liver. Low HDL cholesterol (HDL-C) levels are strongly associated with an increased risk of coronary artery disease. The HDL-C determination is used to identify high-risk patients.

METHOD PRINCIPLE

The assay is a homogeneous method for directly measuring HDL-cholesterol concentration in serum or plasma, without any off-line pretreatment or centrifugation steps.

Accelerator selective detergent methodology. During the first phase, LDL, VLDL particles and Chylomicrons generate free non-HDL cholesterol, which through an enzymatic reaction, produce hydrogen peroxide. The generated peroxide is consumed by a peroxidase reaction with DSBmT yielding a colourless product. During the second phase, specific detergent solubilises HDL-Cholesterol. In conjunction with cholesterol oxidase (CO) and cholesterol esterase (CE) action, peroxidase and 4-AAP develop a coloured reaction which is proportional to HDL-Cholesterol concentration.



REAGENTS

Package	CORMAY HDL DIRECT	CORMAY HDL DIRECT 30	CORMAY HDL DIRECT 60	CORMAY HDL DIRECT 120
1-REAGENT	4 x 30 ml	3 x 30 ml	3 x 50 ml	3 x 100 ml
2-REAGENT	4 x 10 ml	1 x 30 ml	1 x 50 ml	1 x 100 ml

	HC- HDL DIRECT	OS- HDL DIRECT	B50- HDL DIRECT
1-REAGENT	2 x 37 ml	2 x 48 ml	2 x 41,5 ml
2-REAGENT	2 x 12 ml	2 x 18 ml	2 x 16 ml

The reagents are stable up to the kit expiry date printed on the package when stored at 2-8°C. The reagents stored on board of the analyser at 2-10°C are stable for 12 weeks (Biolis 30i).

Concentrations in the test

1-REAGENT	
Buffer	
Cholesterol oxidase (<i>E.coli</i>)	< 1000 U/l
Peroxidase (horseradish)	< 1300 ppg U/l
N,N-bis(sulfobutyl)-toluidine, disodium (DSBmT)	< 1 mM
Accelerator	< 1 mM
Preservative	< 0.06 %
Ascorbic acid oxidase (<i>Curcubita</i> spp.)	< 3000 U/l
2-REAGENT	
Buffer	
Cholesterol esterase (<i>Pseudomonas</i> spp.)	< 1500 U/l
4-aminoantipyrine (4-AAP)	< 1 mM
Detergent	< 2 %
Preservative	< 0.06 %


Warnings and notes

- Protect from direct sunlight and contamination!
- Please refer to the MSDS for detailed information concerning safe storage and use of the product.
- 1-REAGENT and 2-REAGENT meeting the criteria for classification in accordance with Regulation (EC) No 1272/2008.

Ingredients:

1-REAGENT and 2-REAGENT contain reaction mass of 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1).

Warning

 H317 May cause an allergic skin reaction.
 P280 Wear protective gloves, protective clothing, eye protection or face protection.
 P302 + P352 IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water

SPECIMEN

Serum, heparinized or EDTA plasma. Anticoagulants containing citrate should not be used. Blood should be collected only if the patient has been fasting for 12-14 hours. Serum: Collect whole blood by venepuncture and allow to clot. Centrifuge and remove the serum as soon as possible after collection (within 3 hours). Plasma: Specimens may be collected in EDTA or lithium or sodium heparin. Centrifuge and remove the plasma as soon as possible after collection (within 3 hours). Serum and plasma should not remain at 15-30°C longer than 14 hours. If assays are not completed within 14 hours, serum or plasma should be stored at 2-8°C for up to 1 week. If specimens need to be stored for more than 1 week, they may be preserved at less than -20°C for up to 3 months. Samples may be frozen once. Nevertheless it is recommended to perform the assay with freshly collected samples!

ADDITIONAL EQUIPMENT

- automated analyser or photometer able to read at 630 nm;
- thermostat at 37°C;
- general laboratory equipment;

PROCEDURE

The reagents are ready to use. Applications for automatic analysers are available on request.

Manual procedure

wavelength	630 nm
temperature	37°C
cuvette	1 cm
reaction type	Endpoint

Pipette into the cuvette:

	Test (T)	standard (S)
1-REAGENT	1200 µl	1200 µl

Bring up to the temperature of determination (37 °C). Then add:

calibrator	-	10 µl
sample	10 µl	-

Mix well, incubate for 5 min at 37°C. Then add:

2-REAGENT	400 µl	400 µl
-----------	--------	--------

Mix well and incubate at the temperature of determination. After 7 minutes read the absorbance of test A(T) and standard A(S) against air or water.

Calculation

$$\text{HDL Direct concentration} = \frac{A(T)}{A(S)} \times \text{calibrator concentration}$$

REFERENCE VALUES⁴

serum / plasma	40 – 60 mg/dl 1.04 – 1.55 mmol/l
----------------	-------------------------------------

As HDL cholesterol is affected by a number of factors such as smoking, exercise, hormones, age and sex, each laboratory should establish its own reference ranges for local population.

QUALITY CONTROL

For internal quality control it is recommended to use CORMAY LIPID CONTROL 1 (Cat. No 5-179) and CORMAY LIPID CONTROL 2 (Cat. No 5-180) or CORMAY SERUM HN (Cat. No 5-172) and CORMAY SERUM HP (Cat. No 5-173) with each batch of samples.

For the calibration of automatic analysers the CORMAY HDL/LDL CALIBRATOR (Cat. No 5-178) is recommended.

Calibration stability depends on type of analyser used for analysis. The calibration curve should be prepared every 12 weeks (Biolis 30i), with change of reagent lot number or as required e.g. quality control findings outside the specified range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The following results have been obtained using Epol 20, Multi+ for manual assay and automatic analyser Biolis 24i Premium. Results may vary if a different instrument is used.

- Sensitivity:**
11.5 mg/dl (0.298 mmol/l) – Epol 20
1.1 mg/dl (0.028 mmol/l) - Biolis 24i Premium
- Linearity:**
up to 282 mg/dl (7.30 mmol/l) – Epol 20
up to 200 mg/dl (5.18 mmol/l) - Biolis 24i Premium

For higher concentration of HDL cholesterol dilute the sample with physiological saline before assaying. Multiply the result obtained from the manual dilution by the appropriate dilution factor.

Specificity / Interferences

Bilirubin conjugated up to 60 mg/dl, bilirubin total up to 60 mg/dl, haemoglobin up to 1 g/dl, ascorbic acid up to 100 mg/dl, Intralipid up to 1800 mg/dl, triglycerides up to 2000 mg/dl and gamma-globulins up to 5000 mg/dl do not interfere with the test.

N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI), a metabolite of paracetamol (acetaminophen), may cause falsely low results for patients with a toxic level of paracetamol.

Precision (Multi+)

Repeatability (run to run) n = 10	Mean [mg/dl]	SD [mg/dl]	CV [%]
level 1	39.51	1.24	3.13
level 2	69.63	0.75	1.08

Precision (Biolis 24i Premium)

Repeatability (run to run) n = 10	Mean [mg/dl]	SD [mg/dl]	CV [%]
level 1	43.30	0.61	1.42
level 2	58.20	0.88	1.51
Reproducibility (day to day) n = 20	Mean [mg/dl]	SD [mg/dl]	CV [%]
level 1	43.91	1.68	3.84
level 2	58.02	1.06	1.83

Method comparison

A comparison between HDL cholesterol values determined at **Epol 20** (y) and at **Biolis 50i** (x) using 24 samples gave following results:

$$y = 1.0578 x - 4.4324 \text{ mg/dl;}$$

$$R = 0.958 \quad (R - \text{correlation coefficient})$$

A comparison between HDL cholesterol values determined at **Biolis 24i Premium** (y) and at **ADVIA 1650** (x) using 58 samples gave following results:

$$y = 0.8436 x + 3.2579 \text{ mg/dl;}$$

$$R = 0.984 \quad (R - \text{correlation coefficient})$$

WASTE MANAGEMENT

Please refer to local legal requirements.

LITERATURE

- Gotto, A.M. Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia. Hospital Practice 1988; 23 Suppl:1 4-13.
- Badimon, J. J., Badimon, L., Fuester V. Regression of Atherosclerotic Lesions by High Density Lipoprotein Plasma Fraction in the Cholesterol-Fed Rabbit. J Clin Invest 1990; 85:1234-41.
- Warnick, G. Russell, Wood, Peter D. National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol: Executive Summary. Clin Chem 1995; 41(10):1427-1433.
- Alan H.B. Wu: Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests, 4th ed. WB Saunders, 564 (2006).
- Camps, J. Altered Composition of Lipoproteins in Liver Cirrhosis Compromises Three Homogeneous Methods for HDL-Cholesterol. Clinical Chemistry, 1999; 45:685-688.

Date of issue: 06. 2023.

HDL DIRECT

Название набора	(RUS) Кат. №
CORMAY HDL DIRECT	2-179
CORMAY HDL DIRECT 30	2-181
CORMAY HDL DIRECT 60	2-182
CORMAY HDL DIRECT 120	2-183
HC-HDL DIRECT	4-579
OS-HDL DIRECT	9-411
B50-HDL DIRECT	5-508

ПРЕДПОЛАГАЕМОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Диагностический набор для определения концентрации холестерина ЛПВП (прямой метод). Набор предназначен для проведения анализа как мануальным методом (метод Sample Start и Reagent Start), так и на автоматических анализаторах.

Реагенты должны использоваться только для диагностики *in vitro*, квалифицированным лабораторным персоналом, в целях, для которых они предназначены, в соответствующих лабораторных условиях.

ВВЕДЕНИЕ

Липопротеины плазмы – это сферические частицы, содержащие переменные количества холестерина, триглицеридов, фосфолипидов и белков. Соотношение белков и липидов определяет плотность этих липопротеинов и служит основой для их классификации. Различают следующие классы липопротеинов: хиломикроны, липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП), липопротеины низкой плотности (ЛПНП) и липопротеины высокой плотности (ЛПВП). Принципиальная роль ЛПВП в метаболизме липидов состоит в обратном транспорте холестерина от периферических тканей к печени. Низкий уровень холестерина ЛПВП прочно связан с увеличением риска сердечно-сосудистых заболеваний. Определение HDL-C используется для выявления пациентов с высокой степенью риска.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Анализ представляет собой гомогенный метод прямого измерения концентрации HDL-холестерина в сыворотке или плазме крови, без предварительной обработки или центрифугирования.

Ускоритель выборочной методологии детергента. На первом этапе, LDL, VLDL частицы и Хиломикроны генерируют свободный не-HDL холестерин, который с помощью ферментативной реакции, выделяет перекись водорода. Полученная перекись потребляется в пероксидазной реакции с DSBmT с получением бесцветного продукта.

В ходе второго этапа, специфический детергент разрушает HDL-холестерин. В сочетании с действием холестериноксидазы (CO) и холестеринэстеразы (CE), пероксидаза и 4-AAP создает цветную реакцию, пропорциональную концентрации HDL-холестерина.

LDL, VLDL, Хиломикрон $\xrightarrow[\text{DSBmT + Пероксидаза}]{\text{Катализатор + CO}}$ Неактивный LDL, VLDL, Хиломикрон

HDL-C + Селективный детергент $\xrightarrow[\text{холестериноксидаза}]{\text{холестеринэстераза}}$ холестерин + H₂O

H₂O₂ + 4-AAP + DSBmT $\xrightarrow{\text{Пероксидаза}}$ цветная реакция

РЕАГЕНТЫ Состав набора	CORMAY			
	HDL DIRECT	HDL DIRECT 30	HDL DIRECT 60	HDL DIRECT 120
1-REAGENT	4 x 30 мл	3 x 30 мл	3 x 50 мл	3 x 100 мл
2-REAGENT	4 x 10 мл	1 x 30 мл	1 x 50 мл	1 x 100 мл

РЕАГЕНТЫ Состав набора	HC- HDL DIRECT			OS- HDL DIRECT			B50- HDL DIRECT		
	1-REAGENT	2-REAGENT	3-REAGENT	1-REAGENT	2-REAGENT	3-REAGENT	1-REAGENT	2-REAGENT	3-REAGENT
1-REAGENT	2 x 37 мл	2 x 48 мл	2 x 41,5 мл						
2-REAGENT	2 x 12 мл	2 x 18 мл	2 x 16 мл						

При температуре 2-8°C, реагенты сохраняют стабильность в течение всего срока годности, указанного на упаковке. Стабильность на борту анализатора при 2-10°C составляет 12 недель (Biolis 30i).

Концентрации компонентов в реагентах

1-REAGENT		
Буфер		
Холестерооксидаза (<i>E.coli</i>)		< 1000 Ед/л
Пероксидаза (хрен)		< 1300 ррг Ед/л
N,N- бис(сульфобутиловым) толуидин, динатриевый (DSBmT)		< 1 мМ
Катализатор		< 1 мМ
Консервант		< 0,06 %
Аскорбинооксидаза (<i>Curcubita</i> spp.)		< 3000 Ед/л
2-REAGENT		
Буфер		
Холестероэстераза (<i>Pseudomonas</i> spp.)		< 1500 Ед/л
4-аминоантипирин (4-AAP)		< 1 мМ
Детергент		< 2 %
Консервант		< 0,06 %


Предупреждения и примечания

- Предохранять от прямых солнечных лучей и загрязнения!
- Внимательно прочитайте паспорт безопасности химической продукции (MSDS), который содержит подробную информацию о правилах безопасного хранения и использования товара.
- 1-REAGENT и 2-REAGENT соответствует критериям классификации согласно постановлению (ЕС) № 1272/2008.

Ингредиенты:

1- REAGENT и 2-REAGENT содержит постреакционная смесь 5-хлор-2-метил-2Н-изотиазол-3-он и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (3:1).

Внимание

 H317 Может вызывать аллергическую кожную реакцию.
P280 Пользоваться защитными перчатками, защитной одеждой, средствами защиты глаз или лица.

P302 + P352 При попадании на кожу: Промыть большим количеством воды.

БИОЛОГИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ

Сыворотка или плазма крови, собранные на гепарин или ЭДТА. Антикоагулянты, содержащие цитрат не должны использоваться.

Сыворотка: Соберите всю кровь венопункции и дайте ей свернуться. Центрифугируйте и удалите сыворотку, сразу после сбора (в течение 3 часов).

Плазма: Образцы могут собираться в пробирки с ЭДТА или литиего или натрия гепарина. Центрифугируйте и удалите плазму сразу же после сбора (в течение 3 часов).

Сыворотка и плазма не должна храниться при 15-30°C более 14 часов. Если анализ не был проведен в течение 14 часов, сыворотка или плазма могут храниться при 2 - 8°C в течение 1 недели. Если образец должен быть сохранен дольше чем на 1 неделю, он может храниться при -20°C до 3 месяцев. Повторное замораживание пробы не допускается. Тем не менее, рекомендуется проводить исследования на свежеобработанном биологическом материале!

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- автоматический анализатор либо фотометр позволяющий снимать показания при длине волны 630 нм;
- термостат на 37°C;
- общее оборудование лабораторное;

ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Реагенты готовы к использованию.

Программы для анализаторов предоставляем на желание клиентов.

Мануальное определение

длина волны	630 нм
температура	37°C
кювета	1 см
тип реакции	Endpoint

В кювету поместить:

	образец исследуемый (ОИ)	образец стандартный (ОС)
1-REAGENT	1200 µl	1200 µl

Подогреть до температуры определения (37 °C). Затем добавить:

калибратор	-	10 µl
исследуемый материал	10 µl	-

Тщательно перемешать, инкубировать 5 минут при температуре 37°C. Затем добавить:

2-REAGENT	400 µl	400 µl
-----------	--------	--------

Тщательно перемешать, инкубировать в указанной температуре. По истечении 7 минут определить коэффициент поглощения исследуемого образца А(ОИ) и стандартного А(ОС) образца воздуха или относительно воды.

Расчёт результатов

концентрация холестерина ЛПВП = $\frac{A(ОИ)}{A(ОС)}$ x концентрация калибратора

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ⁴

сыворотка / плазма	40 – 60 мг/дл 1,04 – 1,55 ммоль/л
--------------------	--------------------------------------

Поскольку на концентрацию холестерина ЛПВП влияет большое количество факторов, таких как курение, физические нагрузки, гормоны, возраст и пол, каждой лаборатории рекомендуется установить собственные нормы, характерные для обследуемого контингента.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для внутреннего контроля качества рекомендуется использовать CORMAY LIPID CONTROL 1 (Cat. № 5-179) и CORMAY LIPID CONTROL 2 (Cat. № 5-180) или CORMAY SERUM HN (Cat. № 5-172) и CORMAY SERUM HP (Cat. № 5-173) для каждой серии измерений.

Для калибровки рекомендуется использовать CORMAY HDL/LDL CALIBRATOR (Cat. № 5-178).

Периодичность калибровки зависит от типа используемого анализатора.

Калибровочную кривую следует составлять каждые 12 недель (Biolis 30i), при каждой смене лота реагента или в случае необходимости, например, если результаты контроля качества не попадают в референтный диапазон.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Эти метрологические характеристики были получены при использовании Eroll 20, Multi+ (мануальное определение) и автоматического анализатора Biolis 24i Premium. При использовании других аппаратов результаты могут отличаться.

HDL DIRECT (II GENERACJA / II GENERATION / II ПОКОЛЕНИЕ)

Чувствительность:

11,5 мг/дл (0,298 ммоль/л) – Eroll 20
1,1 мг/дл (0,028 ммоль/л) - Biolis 24i Premium

Линейность:

до 282 мг/дл (7,30 ммоль/л) – Eroll 20
до 200 мг/дл (5,18 ммоль/л) - Biolis 24i Premium

В случае более высоких концентраций, пробу следует разбавить 0,9% раствором NaCl, а полученный результат помножить на коэффициент разведения.

Специфичность / Интерференция

Прямой билирубин до 60 мг/дл, общий билирубин до 60 мг/дл, гемоглобин до 1 г/дл, аскорбат до 100 мг/дл, Интралипид до 1800 мг/дл, триглицериды до 2000 мг/дл и гамма-глобулины до 5000 мг/дл не влияют на результаты определений.

N-ацетил-п-бензохинон имин (NAPQI), метаболит парацетамола (ацетаминофен), может привести к ложно низким результатам определений у пациентов с высоким уровнем концентрации парацетамола.

Точность (Multi+)

Повторяемость (между сериями) n = 10	Среднее [мг/дл]	SD [мг/дл]	CV [%]
уровень 1	39,51	1,24	3,13
уровень 2	69,63	0,75	1,08

Точность (Biolis 24i Premium)

Повторяемость (между сериями) n = 10	Среднее [мг/дл]	SD [мг/дл]	CV [%]
уровень 1	43,30	0,61	1,42
уровень 2	58,20	0,88	1,51
Воспроизводимость (изо дня в день) n = 20	Среднее [мг/дл]	SD [мг/дл]	CV [%]
уровень 1	43,91	1,68	3,84
уровень 2	58,02	1,06	1,83

Сравнение метода

Сравнение результатов определения ЛПВП, произведенных на Eroll 20 (y) и на Biolis 50i (x) с использованием 24 образцов дало следующие результаты:
y = 1,0578 x – 4,4324 мг/дл;
R = 0,958 (R – коэффициент корреляции)

Сравнение результатов определения ЛПВП, произведенных на Biolis 24i Premium (y) и на ADVIA 1650 (x) с использованием 58 образцов дало следующие результаты:
y = 0,8436 x + 3,2579 мг/дл;
R = 0,984 (R – коэффициент корреляции)

УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

В соответствии с локальными требованиями.

ЛИТЕРАТУРА

- Gotto, A.M. Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia. Hospital Practice 1988; 23 Suppl: 1 4-13.
- Badimon, J. J., Badimon, L., Fuster V. Regression of Atherosclerotic Lesions by High Density Lipoprotein Plasma Fraction in the Cholesterol-Fed Rabbit. J Clin Invest 1990; 85:1234-41.
- Warnick, G. Russell, Wood, Peter D. National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol: Executive Summary. Clin Chem 1995; 41(10):1427-1433.
- Alan H.B. Wu: Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests, 4th ed. WB Saunders, 564 (2006).
- Camps, J. Altered Composition of Lipoproteins in Liver Cirrhosis Compromises Three Homogeneous Methods for HDL-Cholesterol, Clinical Chemistry, 1999; 45:685-688.

Дата создания: 06. 2023.