

LDL Cholesterol

Холестерин ЛПНП

Энзиматический. Колориметрический
Жидкость



Хранить при температуре 2-8°C

Комплектация

REF	HBL012
VOL	120 + 40 мл
Реагент 1	1 x 120 мл
Реагент 2	1 x 40 мл
Прибор	Универсальный

Предназначение

Количественное определение холестерина липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в сыворотке или плазме человека. Реагенты могут помочь в диагностике и лечении пациентов с риском развития ишемической болезни сердца. Только для *in vitro* диагностики. Только для профессионального использования.

Клиническое значение

Частицы холестерина ЛПНП состоят из липопротеинов, которые переносят холестерин в клетки. Было показано, что большая часть холестерина, хранящегося в атеросклеротических бляшках, происходит от ЛПНП. По этой причине концентрация ЛПНП-холестерина считается наиболее важным клиническим показателем всех отдельных параметров в отношении коронарного атеросклероза^{1,2}. Повышенный холестерин ЛПНП является основной целью снижения уровня холестерина³. Точное измерение холестерина ЛПНП очень важно в терапии, которая направлена на снижение липидов, чтобы предотвратить атеросклероз или уменьшить его прогресс и избежать разрыва бляшек. Клинический диагноз не может основываться на результате единичного теста, он должен включать в себя клинические и другие лабораторные данные.

Принцип

Определение LDL холестерина не требует какой-либо предварительной обработки или стадии фракционирования образца и измеряет уровни LDL холестерина непосредственно через использование специально разработанных поверхностно-активных веществ⁴. Анализ состоит из двух этапов. На первом этапе холестерин липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) удаляется при определенных условиях. LDL, липопротеины очень низкой плотности (VLDL) и хиломикрон (CM) связываются с поливинилсульфоновой кислотой (PVS) и полиэтилениленгликолем метиловым эфиром (PEGME)⁵, что делает их недоступными для реакции с холестеролоксидазой (CHOD) и холестеринэстеразой (CHE), тогда как HDL реагирует с этими ферментами.

HDL + LDL + VLDL + CM $\xrightarrow{\text{PVS/PEGME}}$ HDL + (LDL + VLDL + CM) • PVS/PEGME

HDL $\xrightarrow{\text{CHOD/CHE}}$ Жирные кислоты + H₂O₂

На 2-й стадии холестерин ЛПНП высвобождается из комплекса PVS / PEGME специальным детергентом и реагирует с ферментами с образованием H₂O₂, который количественно определяется реакцией Триндера. Интенсивность образовавшегося цвета пропорциональна концентрации холестерина ЛПНП в образце.

(LDL + VLDL + CM) • PVS/PEGME $\xrightarrow{\text{Detergent}}$ LDL + (VLDL + CM) • PVS/PEGME

LDL $\xrightarrow{\text{CHOD/CHE}}$ Жирные кислоты + H₂O₂

2 H₂O₂ + 4 - AA + TODB $\xrightarrow{\text{POD}}$ Хинон + 5 H₂O₂

Состав Реагента

Реагент 1 Энзимы	MES buffer pH 6,5 < 500 ммоль/л Polyvinylsulfonic acid (PVS) < 50 г/л Polyethyleneglycolmethylester (PEGME) < 50 г/л 4-Aminoantipyrine < 50 ммоль/л Cholesterol esterase (CHE) < 100 Е/л Cholesterol oxidase (CHOD) < 100 Е/л Peroxidase (POD) < 100 Е/л MgCl ₂ < 50 ммоль/л EDTA < 10 ммоль/л Detergent < 2%
Реагент 2 Детергент	MES buffer pH 6,5 < 500 ммоль/л TODB < 50 ммоль/л EDTA < 10 ммоль/л Detergent < 2%
Дополнительно необходим (не включен в набор):	
HDL/LDL Калибратор	HBC11 1 x 1 мл

Приготовление

R1 и R2 готовы к использованию.

Хранение, стабильность и утилизация

Все компоненты набора стабильны при 2-8°C до даты истечения срока годности, указанной на этикетке. Реагенты чувствительны к свету. Не открывайте бутылки. Хранить контейнеры плотно закрытыми и предотвращать загрязнение во время их использования. Не замораживайте реагенты. R1 и R2: после открытия стабильны в течение 60 дней при 2-8°C. Реагенты должны быть прозрачными растворами. Если наблюдается помутнение или выпадение осадка, реагент должен быть выброшен.

Дополнительное необходимое оборудование, не включенное в набор

- Спектрофотометр или колориметр, измеряющий при 600 нм (560 – 600)
- Измерительные кюветы 1,0 см оптического пути
- Термостатическая баня при 37°C (± 0,5°C)
- Общее лабораторное оборудование

Образцы

Сыворотка или плазма (ЭДТА, цитрат). Можно использовать образцы, собранные у пациентов, которые принимали пищу и не принимали ед¹¹. Не использовать плазму, содержащую гепарин как антикоагулянт.

Процедура

1. Длина волны 600 нм (560 – 600); Температура 37°C; Кювета 1 см оптического пути.
2. Настроить инструмент на ноль с дистиллированной водой.
3. Капать в кювету:

	Бланк	Калибратор	Образец
Калибратор	---	10 мкл	---
Образец	---	---	10 мкл
Дистиллированная вода	10 мкл	---	---
R1	750 мкл	750 мкл	750 мкл
Смешать, инкубировать 5 минут при температуре 37°C. Считать оптическую плотность (Abs1) калибратора и образцов против бланка. Добавить:			
R2	250 мкл	250 мкл	250 мкл
Смешать, инкубировать 5 минут при температуре 37°C Считать оптическую плотность (Abs2) против бланка.			

Вычисление

Вычислить $\Delta \text{Abs} = (\text{Abs}_2 - \text{Abs}_1)$.

$$\text{LDL (мг/дл)} = \frac{\Delta \text{Abs}_{\text{Обр}} - \Delta \text{Abs}_{\text{Бланка}}}{\Delta \text{Abs}_{\text{Калибр}} - \Delta \text{Abs}_{\text{Бланка}}} \times \text{конц. Кал. (мг/дл)}$$

Фактор конверсии: мг/дл x 0,0259 = моль/л.

Контроль качества

Рекомендуется использовать контрольный набор HDL/LDL (HBC10) для контроля эффективности ручных и автоматизированных процедур анализа. Если контрольные значения находятся вне определяемого диапазона, проверьте инструмент, реактивы и калибратор для устранения проблемы. Каждая лаборатория должна установить собственную схему Проверки качества и корректирующие действия, если контроли не удовлетворяют приемлемой терпимости.

Референсные значения¹⁰

Уровни риска:	Оптимальный
< 100 мг/дл	Близко/Над оптимальным
100-129 мг/дл	Высокий пограничный
130-159 мг/дл	Высокий
160 – 189 мг/дл	Очень высокий
≥ 190 мг/дл	

Эти значения приведены для ориентировочных целей. Каждая лаборатория должна установить свой собственный диапазон измерений.

Рабочие характеристики

Диапазон измерений: от 1,64 мг/дл (предел обнаружения) до 250 мг/дл (предел линейности). Если полученные результаты выше, чем 250 мг/дл, разведите образец 1:2 с раствором NaCl 9 г/л, повторите определение, и умножьте результат на фактор 2.

Точность (повторяемость, воспроизводимость):

Среднее (мг/дл)	Внутри анализов (n=80)			Между анализами (n=80)		
	97.14	147.37	211.47	97.14	147.37	211.47
SD	1,00	1,19	1,38	1,55	2,23	2,98
CV (%)	1,03	0,81	0,65	1,60	1,51	1,41

Точность: Результаты, полученные при использовании реактивов Cypress Diagnostics не показывали систематической разницы при сравнении с другими коммерческими реактивами. Результаты технических характеристик зависят от используемого анализатора.

Мешающие вещества

Следующие вещества, обычно присутствующие в сыворотке, получили менее 10% отклонений в перечисленных концентрациях: триглицериды: 1000 мг/дл, аскорбиновая кислота: 10 мМ, билирубин 40 мг/дл, конъюгированный билирубин: 30 мг/дл и гемоглобин: 1000 мг/дл.

Примечания

1. Для лучшего использования этого набора на анализаторах Cypress Diagnostics (CYANStart, CYANSmart, CYANExpert 130), мы настоятельно советуем следовать адаптационным приложениям к соответствующему анализатору. Пожалуйста, войдите на наш вебсайт (www.diagnostics.be) как зарегистрированный пользователь для загрузки последнего адаптационного приложения, которое расположено под сектором соответствующего анализатора.

Библиография

1. Crouse JR et al., J. Lipid Res., 26: 566, 1985.
2. Badimon JJ et al. J. Clin. Invest., 85:1234-41, 1990.
3. Castelli WP et al., 55: 767, 1977.
4. Barr DP, et al., Am. J. Med., 11: 480, 1951.
5. Gordon T, et al., Am. J. Med., 62 : 707, 1977.
6. William P. et al., Lancet, 1 : 72, 1979.
7. Kannel WB et al., Am. Intern. Med., 90: 85, 1979.
8. KExecutive 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, 285:2486, 2001.
9. Hongbing Xiao Method and composition for determining low density lipoprotein cholesterol, Chinese Patent CN1379234A, 2002.
10. Wu A.H.B. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests, 4th ed. 2006
11. Pisani et al., Arch Pathol Lab Med; 119: 1127, 1995

