

КОД 11648 50 мл
Хранить при 2-8°C
Реагенты для измерения концентрации HDL холестерина. Использовать только для работы «in vitro» в клинической лаборатории

CHOLESTEROL HDL PRECIPITATING REAGENT



HDЛ-ХОЛЕСТЕРИН ОСАЖДАЮЩИЙ РЕАГЕНТ ФОСФОВОЛЬФРАМАТ / МАГНИЙ

ПРИНЦИП МЕТОДА

Липопротеиды очень низкой плотности (VLDL) и липопротеиды низкой плотности (LDL) образца осаждают фосфовольфрамоматом и ионами магния. Супернатант содержит липопротеиды высокой плотности (HDL). Концентрацию HDL Холестерина спектрофотометрически ферментативным методом с участием сопряженных реакций, описанных ниже.



СОСТАВ

A. Реагент: 1 x 50 мл. Фосфовольфраматы 0.4 ммоль/л, хлорид магния 20 ммоль/л.
S. Стандарт HDL-Холестерина. 5 мл. Холестерин 15 мг/дл. Первичный водный стандарт.

ХРАНЕНИЕ

Хранить при 2-8°C.

Реагенты и стандарт стабильны до окончания срока годности, указанного на этикетке, при хранении в плотно закрытом сосуде и предотвращении загрязнения во время использования.

Признаки загрязнения:

- Реагенты: присутствие взвешенных частиц, мутность,
- Стандарт: присутствие взвешенных частиц, мутность.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ РЕАГЕНТЫ

Реагенты для осаднения LDL холестерина используются вместе с наборами для определения Холестерина производства BioSystems (код 11805, 11505, 11506, 11539).

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТА

Реагенты и стандарт поставляются готовыми к использованию.

НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- Настольная центрифуга
- Водяная термобаня на 37°C (по выбору)
- Спектрофотометр или фотометр с фильтром 500 ± 20 нм

ОБРАЗЦЫ

Сыворотка или плазма, собранная по стандартной процедуре. Стабильность составляет 7 дней при 2-8°C.

Гепарин, ЭДТА, оксалат и флюорид могут применяться в качестве антикоагулянтов.

ПРОЦЕДУРА

Осаждение

1. Разлить в промаркированные центрифужные пробирки (примечание 1):

Образец	0.2 мл
Реагент А	0.5 мл

2. Тщательно перемешать и оставить стоять на 10 минут при комнатной температуре.
3. Центрифугировать минимум при 4000 об/мин. в течение 10 минут.
4. Осторожно собрать супернатант (примечание 2)

Колориметрия

5. Нагреть реагент Холестерина (наборы для определения Холестерина BioSystems) до комнатной температуры.
6. Разлить в подписанные пробирки (примечание 3):

	Бланк	Стандарт	Образец
Дистиллированная вода	100 мкл	-	-
Стандарт HDL-Холестерина	-	100 мкл	-
Холестерина	-	-	100 мкл
Реагент (А) Холестерина (код 11805, 11505, 11506, 11539).	1.0 мл	1.0 мл	1.0 мл

7. Тщательно перемешать и инкубировать пробирки в течение 30 минут при комнатной температуре (16 – 25°C) или в течение 10 минут при 37°C.
8. Измерить абсорбцию (А) Стандарта и Образца при 500 нм против Бланка. Окраска раствора стабильна не менее 30 минут.

РАСЧЕТ

Используйте для вычисления следующую формулу:

$$\frac{A_{\text{обр}}}{A_{\text{станд}}} \times C_{\text{ст}} \times \Phi - \text{разведения образца} = C_{\text{супернатанта}}$$

Если в качестве калибратора используется стандарт HDL холестерина (примечание 4), используйте следующий метод расчета:

$\frac{A_{\text{обр}}}{A_{\text{станд}}}$	$\times 52.5 = \text{мг/дл HDL холестерина}$
	$\times 1.36 = \text{ммоль/л HDL холестерина}$

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Концентрации ЛПВП-холестерина широко варьируются в зависимости от пола и возраста. Следующие пограничные величины были рекомендованы для идентификации индивидуумов с высоким риском заболеваний коронарных артерий³.

До 35 мг/дл = 0.91 ммоль/л	Высокий
Свыше 60 мг/дл = свыше 1.56 ммоль/л	Низкий

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется использовать контрольную биохимическую сыворотку уровня I (код 18005 и 18009) чтобы подтвердить эффективность процедуры измерения.

Каждая лаборатория должна выработать собственную схему внутреннего контроля качества и процедуры для коррекции действий в случае, если контроль качества не укладывается в приемлемые диапазоны.

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Предел обнаружения: 3.0 мг/дл = 0.078 ммоль/л.
- Предел линейности: 150 мг/дл = 3.9 ммоль/л.
- Сходимость (внутри серии):

Средняя концентрация	CV	n
30 мг/дл = 0.78 ммоль/л	3.3 %	20
55 мг/дл = 1.42 ммоль/л	2.0 %	20

- Воспроизводимость (от серии к серии):

Средняя концентрация	CV	n
30 мг/дл = 0.78 ммоль/л	4.2 %	25
55 мг/дл = 1.42 ммоль/л	3.2 %	25

- Достоверность: Результаты, полученные с данными реагентами не показывали значительных отличий при сравнении с результатами, полученными с другими реагентами (прим. 4). Детали сравнительных экспериментов доступны по требованию.
- Интерференция: Липемия (триглицериды 10 г/л) не влияет на результаты. Гемоглобин (5 г/л) и билирубин (10 мг/дл) могут влиять на результаты. Некоторые вещества и лекарства могут искажать результат⁴.

Данные метрологические характеристики были получены при использовании анализатора, при использовании другого оборудования или ручных методов результаты могут варьировать.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Липопротеины высокой плотности играют важную роль в удалении холестерина из тканей и его транспортировке в печень для выведения в качестве желчных кислот.

Пониженные концентрации HDL холестерина в плазме прямо коррелируют с заболеваемостью атеросклерозом, инфарктами миокарда и цереброваскулярными нарушениями^{4,5}.

Существует несколько болезненных состояний, а также внешних факторов, связанных с уменьшением уровня HDL холестерина: острые или хронические гепатоцеллюлярные заболевания, внутривенное введение питательных веществ сверх нормы, острое нарушение питания, диабеты, хроническая анемия, миелолифферативные заболевания, болезнь Танкье, анафилактикопротеинемия, острый стресс, некоторые лекарства и курение^{5,6}.

Клинический диагноз не должен основываться на результатах отдельного теста, он должен согласовываться с результатами клинических и лабораторных данных.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Объемы Образца и Реагента А могут быть изменены при сохранении соотношения образец/реагент.
2. Супернатант должен быть чистым. Если супернатант мутный или неоднородный, добавьте снова 0,5 мл Реагента А, тщательно перемешайте и отцентрифугируйте. Полученный результат умножьте на 1,7 (разведение).
3. Данные реагенты могут быть использованы в различных автоматических анализаторах. Инструкции предьявляются по запросу.
4. Использование водного стандарта, особенно в некоторых анализаторах, может вызывать отклонения калибровочного графика, в этом случае рекомендуется использовать для калибровки стандарт на основе сыворотки (Сыворотка-Калибратор код 18011 и 18044).

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Grove TH. Effect of reagent pH on determination of high-density lipoprotein cholesterol by precipitation with sodium phosphotungstate-magnesium. *Clin Chem* 1979; 25: 560-564.
2. Burstein M, Scholnick HR and Morfin R. Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *Scand J Clin Lab Invest* 1980; 40: 583-595.
3. National Cholesterol Education Program Expert Panel. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III). NIH Publication. Bethesda: National Heart, Lung, and Blood Institute; 2001.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
5. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.