

HDL CHOLESTEROL liquicolor

Прямой гомогенный тест для определения холестерина ЛПВП

Ферментативный колориметрический тест

Торговая форма

REF³ 10084 80 мл полный набор
IVD³

Цель применения

HUMANs HDL Cholesterol это прямой гомогенный ферментативный тест для количественного определения холестерина ЛПВП. Считается, что холестерин ЛПВП является защитным липидным компонентом против коронарной болезни сердца. Вместе с холестерином ЛПНП (напр. рассчитанного по формуле Фридевальда) можно определить индивидуальный риск инфаркта миокарда.

Метод

Тест протекает в 2 специфических этапа, следующих один за другим: на первом этапе специфически отделяются и разрушаются хиломикроны и холестерин ЛПОНП и ЛПНП. На втором этапе измеряется оставшийся холестерин из фракции ЛПВП при помощи хорошо известной ферментативной реакции в присутствии специфического детергента ЛПВП.

Принцип реакции

1 этап:

ЛПНП, ЛПОНП и хиломикроны $\xrightarrow[\text{специфические условия}]{\text{ХЕ}+\text{ХО}}$ холестерин + H_2O_2

$2 \text{H}_2\text{O}_2 \xrightarrow{\text{каталаза}} 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

2 этап:

ЛПВП $\xrightarrow[\text{специфический детергент}]{\text{ХЕ}+\text{ХО}}$ холестерин + H_2O_2

$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{хромоген} \xrightarrow{\text{пероксидаза}} \text{хинон-пигмент}$

Действующие составные части, концентрация реактивов в тесте

ENZ	1 x 60 мл ферменты (белый колпачок)	
	Good's буфер pH 7,0 (20°C)	100 ммоль/л
	холестерин-эстераза	600 Е/л
	холестерин-оксидаза	380 Е/л
	каталаза	600 Е/мл
	N-(2-гидрокси-3 сульфопропил)-3,5-диметоксианилин (HDAOS)	0,42 ммоль/л
SUB	1 x 20 мл субстрат (зелёный колпачок)	
	пероксидаза	1000 Е/л
	4-аминоантипирин (4-AA)	1,00 ммоль/л
	Good's буфер, pH 7,0 (20°C)	100 ммоль/л
	азид натрия	0,05 %
	детергент	> 1 %
CAL	1 x 4 мл калибратор	
	холестерин	концентрация указана на этикетке флакона

Приготовление и стойкость реагентов

ENZ и SUB готовы к употреблению

Стойкость: После вскрытия флаконов реагенты могут использоваться в течение 1 месяца, если они хранятся при 2...8°C. Избегать загрязнения! Не замораживать!

Не перепутывать колпачки флаконов!

CAL: Содержимое одного флакона развести с точно 4 мл стерильной дистиллированной воды, флакон закрыть и осторожно потрясти до полного растворения лиофилизата. Не допускать вспенивания. До применения должен постоять минимум 30 минут.

Стойкость: 10 дней при 2...8°C. Свежеприготовленный калибратор можно разделить на небольшие порции и заморозить при -20°C на максимум 30 дней.

Допускается только однократное замораживание и оттаивание, после этого тщательно перемешать.

Исследуемый материал

Сыворотка, плазма.

Стойкость: Рекомендуется определять холестерин ЛПВП прямо после забора пробы. Сыворотку можно хранить несколько недель при -20°C (не допускать многократного замораживания). Концентрация антикоагулянтов в плазме не должна превышать следующих значений: ЭДТА-2Na < 200 мг/дл, цитрат натрия < 1000 мг/дл, гепарин < 50 мг/дл, NaF < 2000 мг/дл.

Условия определения

Длина волны: Hg 578 нм, 593 нм (570 - 610 нм)
Длина оптического пути: 1 см
Температура: 37°C
Измерение: против холостого реагента, одного холостого реагента на серию достаточно.

Схема пипетирования (ручной метод)

Реактивы и кюветы подогреть до 37°C. Температура должна оставаться постоянной на протяжении всего теста ($\pm 0,5^\circ\text{C}$).

В кюветы пипетировать	Холостой реагент (XP)	CAL/проба
Вода	10 мкл	---
CAL / проба	---	10 мкл
ENZ	750 мкл	750 мкл
Осторожно перемешать и точно 5 минут инкубировать при 37°C		
SUB	250 мкл	250 мкл
Осторожно перемешать, инкубировать в течение 5 минут при 37°C. Измерить оптическую плотность ΔE_{CAL} и пробы против XP.		

Расчёт

Расчёт концентрации в пробе производится по следующей формуле:

$$C_{\text{проба}} = C_{\text{CAL}} \times \frac{\Delta E_{\text{проба}}}{\Delta E_{\text{CAL}}} \quad (\text{мг/дл})$$

Коэффициент пересчета: $C \text{ (мг/дл)} \times 0,02586 = C \text{ (ммоль/л)}$

Характеристика теста

Линейность: до 150 мг/дл ЛПВП.

Линейность зависит от метода аппликации. Если концентрация холестерина ЛПВП превышает границы измерения, то пробу необходимо развести раствором NaCl (0,9%) в соотношении 1+1 и измерение повторить, результат умножить на 2.

Интерференции: Отрицательного воздействия не оказывают: триглицериды до 1200 мг/дл, билирубин до 30 мг/дл, гемоглобин до 500 мг/дл, аскорбиновая кислота до 50 мг/дл и слабомуточные пробы. Пробы, в которых триглицериды выше 1200 мг/дл, необходимо развести физиологическим раствором NaCl (0,9%) в соотношении 1+1. Провести определение и результат умножить на 2.

Типичные характеристики приведены в Верификационном репортаже по адресу:

www.human.de/data/gb/vr/SU-HDLDD.pdf и www.human-de.com/data/gb/vr/SU-HDLDD.pdf или www.human-de.com/data/gb/vr/SU-HDLDD.pdf и www.human-de.com/data/gb/vr/SU-HDLDD.pdf

Нормальные значения²

< 35 мг/дл (< 0,9 ммоль/л) повышенный риск коронарной болезни сердца
> 60 мг/дл (> 1,54 ммоль/л) пониженный риск коронарной болезни сердца
Это ориентировочные данные. Каждая лаборатория должна установить свои собственные нормальные значения, в зависимости от возраста, пола, питания, географического положения и других факторов, влияющих на нормальные значения.

Контроль качества

Могут использоваться все контрольные сыворотки человеческого происхождения, в которых холестерин ЛПВП определен данным методом.

Автоматизация

На автоматическом анализаторе тест (fixed time) может измеряться кинетически. Инструкции для работы на автоматическом анализаторе предоставляются по требованию.

Литература

- Gordon, T. et al., Am. J. Med. 62, 707 (1977).
- Izawa, S. et al., J. Med. and Pharm. Sci. 37, 1385-1388 (1997)
- ISO 15223 Medical devices – Symbols to be used with medical device labels, labelling and information to be supplied.

SU-HDLDD
INF 1008401 R
09-2002-11



Human Gesellschaft für Biochemia und Diagnostica mbH
Max-Planck-Ring 21 - D-65205 Wiesbaden - Germany
Telefon: +49 6122 9988 0 - Telefax: +49 6122 9988 100 - eMail: human@human.de