



## HDL-Cholesterol

### Složení

Souprava HDL-cholesterol firmy Diazyme je nabízena v následujících baleních.

Přístroj	Kat.č.	Balení
Universální	DZ129A-K	R1: 4 x 70 ml R2: 2 x 50 ml Kal: DZ130A-CAL*
Olympus AU400 Hitachi 917	DZ129A-KY1	R1: 4 x 70 ml R2: 2 x 50 ml Kal: DZ130A-CAL*
Beckman CX/LX	DZ129A-KB1	R1: 4 x 60 ml R2: 4 x 20 ml Kal: DZ130A-CAL*

\* Kalibrátor je dodáván zvlášť

### Účel použití

Souprava HDL-cholesterol firmy Diazyme je určena k *in vitro* kvantitativnímu stanovení cholesterolu v lipoproteinech o vysoké hustotě (HDL) v lidském séru nebo v plasmě. Souprava může pomoci v diagnóze a v léčení pacientů s rizikem vzniku koronárního srdečního onemocnění.

### Klinický význam

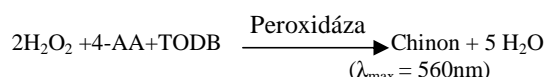
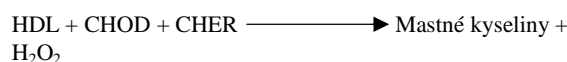
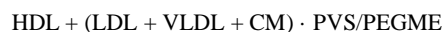
Lipoproteiny o vysoké hustotě (HDL) tvoří jednu z hlavních tříd plasmatických lipoproteinů. Jsou syntetizované v játrech jako nascentní HDL složené z apolipoproteinů a fosfolipidů. Díky svému složení jsou schopné vychytávat cholesterol z periferních tkání a přenášet jej zpět do jater. V játrech je cholesterol přeměněn na žlučové kyseliny, které jsou vyloučeny do střeva.

V mnoha studiích byl prokázán nepřímý vztah mezi koncentrací HDL-cholesterolu v séru a výskytu/prevalenci koronárních srdečních onemocnění (CHD). Z tohoto důvodu je tedy koncentrace HDL-cholesterolu uznána jako rizikový faktor CHD.<sup>1-8</sup>

Přesné měření koncentrace HDL-cholesterolu je životně důležité pro hodnocení rizika CHD u daného pacienta.

### Princip měření

Metoda je založena na klasické precipitační technice s využitím optimálního množství modifikované polyvinylové sulfonové kyseliny (PVS) a polyetylen glycol methyletheru (PEGME) a vybraných detergentů<sup>9</sup>. LDL, VLDL a chylomikrony (CM) vytvoří komplex s PVS a PEGME, zatímco HDL reaguje s cholesterolesterázou (CHOD) a cholesteroxidázou (CHOD). Enzymy selektivně reagují s HDL za vzniku H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, který je kvantifikován Trinderovou reakcí.



### Materiál nutný k provedení testu, který ale není součástí soupravy

Přístroj s kontrolou teploty  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$  a odečtem absorbance při 600 nm.

Kontroly pro validaci HDL-Cholesterol soupravy lze objednat zvlášť (kat. č. DZ138A-CON). Fyziologický roztok k ředění séra a nulové kalibraci není dodáván.

### Složení reagensů

Reagencie 1 (R1)	MES pufr (pH 6,5) TODB N, N-Bis(4-sulfobutyl)-3- methylanilin Polyvinylsulfonová kyselina Polyethylene-glycol-methyl ether MgCl <sub>2</sub> Detergent EDTA
Reagent 2 (R2)	MES pufr (pH 6,5) Cholesterolesteráza Cholesteroxidáza Peroxidáza 4-aminoantipyrin Detergent

### Příprava reagensů

Reagencie soupravy HDL-Cholesterol (R1, R2) firmy Diazyme jsou kapalné a připraveny k použití.

### Stabilita a uskladnění reagensů

Neotevřené reagencie jsou stabilní do data expirace uvedeného na balení při 2–8°C. Reagencie v přístroji jsou stabilní minimálně 60 dní. Reagenční roztok by měl být čirý. Pokud se objeví zákal, reagencie může být znehodnocena.

### Odběr a příprava vzorku

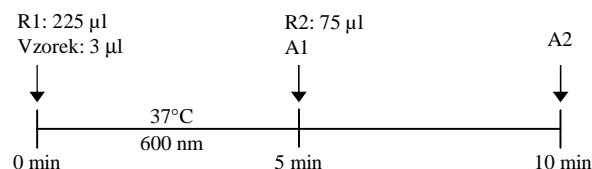
Doporučuje se používat čerstvě odebrané sérum nebo plasmu (EDTA, citrát, heparinát lithný). Použit lze vzorky pacientů nalačno i po jídle<sup>11</sup>. Vzorky s koncentrací HDL cholesterolu větší než 184,8 mg/dl, by měly být naředěny fyziologickým roztokem.

## Opatření

1. Pouze pro *in vitro* použití.
2. Se vzorky obsahující lidský materiál by mělo být zacházeno jako s potenciálně infekčními, dle správné laboratorní praxe, jak je uvedeno v Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (HHS Publication Number [CDC] 93-8395).
3. Výsledky by měly být interpretovány s ohledem na všechny další výsledky a klinické projevy pacienta.
4. Zabraňte kontaktu s kůží a sliznicemi. Nepolykejte reagentie. Viz. MSDS.
5. Reagentie jsou citlivé na světlo. Nenechávejte lahvičky otevřené. Nechávejte nádoby těsně uzavřené.
6. Nepoužívejte reagentie po uplynutí expirace, která je uvedena na obalu.

## Postup měření

### Schéma pro analyzátoři



Pro použití soupravy HDL-cholesterol firmy Diazyme jsou na vyžádání k dispozici aplikační listy pro biochemické analyzátoři.

Kontakt 858-455-4768 nebo email [support@diazyme.com](mailto:support@diazyme.com).

## Kalibrace

HDL-cholesterol kalibrátor (DZ130A-Cal) by měl být použit ke kalibraci soupravy HDL-Cholesterol firmy Diazyme. Fyziologický roztok (0,9%) by měl být použit jako nulový kalibrátor.

HDL-cholesterol kalibrátory jsou dodávány ve formě lyofilizátu a jsou stabilní do vyznačeného data expirace při teplotě 2-8°C. Kalibrátor připravte dle instrukcí na lahvičce a opatrně zamíchejte. Lahvičku nechte vytemperovat na pokojovou teplotu 30 minut před použitím. Rozpuštěný kalibrátor je stabilní 7 dní v uzavřené lahvičce při teplotě 2-8°C. Kalibrační křivka je stabilní minimálně 14 dní. Na základě hodnot uvedených na lahvičkách kalibrátorů nastavte kalibrační hodnoty. HDL-cholesterol kalibrátor je vztažen k NIST SRM 1951b a měl by být skladován při teplotě 2-8°C.

## Kontrola kvality

Doporučujeme, aby každá laboratoř použila HDL-cholesterol kontroly k validaci metody. HDL-cholesterol kontrola je dostupná u firmy Diazym pod katalogovým číslem DZ138A-CON. Pokud výsledky kontrol budou mimo akceptovatelný limit, který je určen jejich danými hodnotami, měření by nemělo být dále prováděno. Doporučujeme, aby kontrolní systém kvality podléhal doporučením pro interní kontrolu kvality.

## Výsledky

### Výpočet vzorku

$$\Delta A = A_2 - A_1$$

Koncentrace HDL-cholesterolu v séru:

$$\frac{\Delta A_{\text{vzorek}} - \Delta A_{\text{blank}}}{\Delta A_{\text{standard}} - \Delta A_{\text{blank}}} \times \text{standard} = \text{mg/dl}$$

### Výsledky

Koncentrace HDL-cholesterolu je vyjádřena v mg/dl. Pro převod do systému SI jednotek výsledek vynásobte 0,02586<sup>10</sup>.

mg/dl x 0,02586 = mmol/l HDL-cholesterol

mmol/l x 38,66 = mg/dl HDL-cholesterol

Výsledky (v mg/dl) jsou tištěny automaticky na analyzátoři Hitachi 917. U jiných přístrojů využijte operační manuál k nastavení tisku.

### Referenční hodnoty<sup>10</sup>

Očekávané hodnoty HDL-cholesterolu v séru:

<40 mg/dl hlavní rizikový faktor pro onemocnění srdce

40 – 59 mg/dl vyšší HDL

>60mg/dl negativní rizikový faktor pro onemocnění srdce

Každá laboratoř si musí stanovit vlastní referenční hodnoty.

### Omezení

1. Vzorky s koncentrací HDL-cholesterolu vyšší než je měřicí rozsah by měly být naředěny fyziologickým roztokem (0,9%), poté znovu změřeny a výsledek vynásoben ředícím faktorem.
2. Chraňte reagentie před přímým sluncem.
3. Skladujte reagentie při teplotě 2-8°C. Nezamrazujte.

## Vlastnosti měření

Všechny následné hodnoty byly změřeny v laboratoři firmy Diazyme na přístroji Hitachi 917.

### Limit detekce

Limit detekce (LOD) soupravy HDL-cholesterol byl stanoven následovně: kalibrátor (0 mg/dl) byl změřen 12x na přístroji Hitachi 917. LOD = hodnota + 3SD = 1,06 mg/dl.

### Porovnání metod

Stanovení touto soupravou bylo porovnáno s jinými soupravami určenými ke stanovení HDL-cholesterolu v séru. Korelační koeficient o hodnotě 0,987 byl stanoven z 84 vzorků séra v rozsahu koncentrací 5,7 – 189,3 mg/dl. Rovnice lineární regrese:  $y = 1,048(\text{referenční metoda}) - 4,69 \text{ mg/dl}$

### Preciznost

Preciznost soupravy HDL-cholesterol firmy Diazyme byla hodnocena podle doporučení Clinical Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS) EP5-A. V průběhu 20 dní byly 2x denně v duplikátech na přístroji Hitachi 917 měřeny 3 sérové vzorky o koncentracích 30, 55 a 90 mg/dl. Tato metoda nebyla testována nebo certifikována Cholesterol Reference Method Laboratory Network (CRMLN).

Preciznost mezi sériemi:

	<u>Hladina 1:</u> 30 mg/dl HDL	<u>Hladina 2:</u> 55 mg/dl HDL	<u>Hladina 3:</u> 90 mg/dl HDL
Počet měření	80	80	80
Průměr (μM)	29,00	53,07	90,56
SD (μM)	0,3	0,41	0,84
CV%	1,0	0,8	0,9

Preciznost v rámci série (S<sub>r</sub>):

	<u>Hladina 1:</u> 30 mg/dl HDL	<u>Hladina 2:</u> 55 mg/dl HDL	<u>Hladina 3:</u> 90 mg/dl HDL
Počet měření	80	80	80
Průměr (μM)	29,00	53,07	90,56
SD (μM)	0,65	1,36	2,02
CV%	2,3	2,6	2,2

Další preciznost stanovení HDL-cholesterol soupravy firmy Diazyme bylo provedeno podle doporučení Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP5-A. V průběhu 5 dní byly 2x denně v duplikátu měřeny 3 vzorky séra o koncentracích 21, 44, a 160 mg/dl HDL.

Preciznost mezi sériemi:

	<u>Hladina 1:</u> 21 mg/dl HDL	<u>Hladina 2:</u> 44 mg/dl HDL	<u>Hladina 3:</u> 160 mg/dl HDL
Počet měření	20	20	20
Průměr (μM)	21,63	44,28	159,59
SD (μM)	0,18	0,30	1,77
CV%	0,90	0,70	1,10

Preciznost v rámci série (S<sub>r</sub>):

	<u>Hladina 1:</u> 21 mg/dl HDL	<u>Hladina 2:</u> 44 mg/dl HDL	<u>Hladina 3:</u> 160 mg/dl HDL
Počet měření	20	20	20
Průměr (μM)	21,63	44,28	159,59
SD (μM)	0,61	0,79	5,90
CV%	2,8	1,80	3,7

## Linearita

Lineární rozsah měření v séru je 1,06 – 184,8 mg/dl. Výsledky pod 1,06 mg/dl jsou neplatné. Výsledky přesahující 184,8 mg/dl by měly být naředěny a znovu změřeny.

## Interference

Bylo zjištěno, že triglyceridy do 1000 mg/dl, hemoglobin do 1000 mg/dl, bilirubin do 40 mg/dl, konjugovaný bilirubin do 30 mg/dl, kyselina askorbová do 10 mM způsobí interference menší než 10%.

## Reference

- Dominiczak M, McNamara J. The system of Cardiovascular prevention. 103–125; Nauk M, Wiebe D, Warnick G. Measurement of High-Density-Lipoprotein Cholesterol. 221–244. In: Handbook of Lipoprotein Testing (eds. Rifai, Warnick and Dominiczak), 2nd edition.
- Castelli, W.P. et al., HDL Cholesterol and other lipids in coronary heart disease, Circulation, 55;767 (1977).
- Barr, D.P., Russ E. M., Eder, H.A., Protein-lipid relationships in human plasma, Am. J. Med., 11;480 (1951).
- Gordon, T. et al., High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease, Am. J. Med., 62;707 (1977).
- Williams, P., et al., High density lipoprotein and coronary risk factor, Lancet, 1;72, (1979).
- Kannel, W.B., Castelli, W.P., Gordon, T., Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease; New perspectives based on the Framingham study, Ann. Intern. Med., 90;85, (1979).
- National Institutes of Health publication No. 93-3095, September, (1993).
- Castelli, W. P., et al, Cholesterol and other lipids in coronary heart disease
- Hongbing Xiao Method and composition for determining high density lipoprotein cholesterol, Chinese Patent CN 1379235A (2002).
- Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of the High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III, or ATP III).
- Pisani T, Gebiski CP, Leary Et, et al. Accurate Direct Determination of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Assay. Arch Pathol Lab Med 1995; 119:1127.

