

REF 10211-4 4 x 29 ml / 10 ml

CHOLESTEROL HDL (HDL)

Każdy z pojemników zawiera 29 ml odczynnika R1 i 10 ml odczynnika R2.

ZASTOSOWANIE

Odczynnik HDL EasyRA służy do ilościowego pomiaru cholesterolu lipoprotein wysokiej gęstości w surowicy ludzkiej lub osoczu z użyciem analizatora MEDICA EasyRA® Chemistry Analyzer w laboratoriach klinicznych.

Wyłącznie do diagnostycznego stosowania *in vitro*. Wyłącznie do użytku przez profesjonalistów. Niniejszy test cholesterolu HDL posiada certyfikat Cholesterol Reference Method Laboratory Network (CRMLN).

OPIS I OBJAŚNIENIE

Lipoproteiny solubilizują i transportują cholesterol i inne tłuszcze we krwi. Istnieją różne klasy lipoprotein, które mają różnorodny wpływ na serce i układ sercowo-naczyniowy.¹ Występowanie podwyższonego poziomu stężenia lipoprotein wysokiej gęstości (HDL) jest powiązane ze zmniejszonym ryzykiem wystąpienia chorób wieńcowych i może być czynnikiem ochronnym. Pomiar stężenia cholesterolu HDL (HDL) pomaga we wczesnym rozpoznaniu i leczeniu zaburzeń metabolizmu tłuszczów i lipoprotein. Niskie stężenie cholesterolu HDL zostało wyraźnie powiązane ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia chorób tętnic wieńcowych lub serca.^{2, 3} Pomiar HDL-C w surowicy pomaga więc w identyfikacji pacjentów należących do grupy wysokiego ryzyka. Komisja d/s Leczenia Dorosłych Narodowego Programu Nauczania o Cholesterolu (NCEP) zaleca sporządzanie pełnego profilu cholesterolowego (cholesterol całkowity, cholesterol LDL, cholesterol HDL i trójglicerydy) u wszystkich osób powyżej 20 roku życia co 5 lat w celu oceny ryzyka wystąpienia chorób wieńcowych.⁴ Metodą referencyjną dla cholesterolu HDL jest analiza Abella-Kendalla⁵ Ponieważ jednak metoda ta wymaga ultrawierowania i wytrącania i nie może zostać w pełni zautomatyzowana, opracowano zatem metody jednorodne (bezpośrednie). Niniejsza metoda jest oparta o przyspieszanie reakcji oksydazy cholesterolowej z nieestryfikowanym cholesterolem nie-HDL i wybiórcze rozpuszczanie HDL przy użyciu określonego detergentu (metoda „akcelerator – wybiórczy detergent”).

ZASADY PROCEDURY

Ta bezpośrednia metoda pomiaru stężenia cholesterolu HDL polega na usunięciu innych lipoprotein nie-HDL dzięki wybiórczej reakcji odczynnika 1. W drugim etapie wybiórczy detergent odczynnika 2 wybiórczo solubilizuje cholesterol HDL, który następnie wchodzi w reakcję z chromagenem, tworząc kolor, którego pomiar optyczny jest możliwy przy 600 nm. Intensywność koloru przy maksymalnej absorbancji przy 600 nm jest wprost proporcjonalna do stężenia cholesterolu HDL w próbce.

ODCZYNNIKI

ODCZYNNIK HDL (R1):

Bufor Gooda	
Oksydaza cholesterolowa (E. Coli)	< 1000 U/l
Peroksydaza (chrzan)	< 1300 ppg U/l
N, N-bis(4-sulfobutyl)-m-toluidyna dwusodowa (DSBmT)	< 1 mM
Akcelerator	< 1 mM
Środek konserwujący	< 0,06%

Odczynnik HDL (R2):

Bufor Gooda	
Esteraza cholesterolowa (pseudomonas sp.)	< 1500 U/l
4-aminoantypiryna	< 1 mM
Detergent	< 2%
Inhibitor	< 0,15%
Środek konserwujący	< 0,06%
Oksydaza kwasu askorbinowego (Curcubita sp.)	< 3000 U/l

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Podczas używania dowolnego odczynnika laboratoryjnego należy przestrzegać dobrych praktyk bezpieczeństwa. (CLSI, GP17-A2).
2. Odczynniki zawierają mniej niż 0,1% azydku sodu, który może wejść w reakcję z przewodami ołowianymi lub miedzianymi, tworząc azydki metali o silnych właściwościach wybuchowych. Informacje na temat ryzyka, zagrożeń i bezpieczeństwa znajdują się w arkuszu Dane bezpieczeństwa.
3. Tak jak w przypadku wszystkich procedur diagnostycznych, wyniki powinny zostać zinterpretowane z uwzględnieniem wyników wszelkich innych badań i statusu klinicznego pacjenta.
4. Nie używać mytych kuwet.

INSTRUKCJE DOTYCZĄCE UŻYCIA, PRZECHOWYWANIA I STABILNOŚCI ODCZYNNIKA

Odczynnik jest gotowy do użycia w dostarczonej postaci. Nieotwarty odczynnik pozostaje stabilny, aż do upływu daty ważności (na etykiecie), jeśli jest przechowywany w temp. 2–8°C. Odczynnik pozostaje stabilny w komorze chłodniczej odczynników analizatora chemicznego Medica EasyRA (Medica EasyRA Chemistry Analyzer) przez ilość dni zaprogramowaną w module RFID na pojemniku odczynnika. Nie używać odczynnika, jeśli jest mętny lub zanieczyszczony, lub jeśli wskazuje błędne wartości podczas porównania ze znanymi wartościami kontrolnymi.

POBIERANIE I PRZECHOWYWANIE/STABILNOŚĆ PRÓBEK⁵

Wymagana jest świeża surowica lub świeże osocze pobrane od pacjenta po 12–14 godzinach na czczo. Próbkę osocza należy pobrać, używając heparyny litowej jako antykoagulantu. Usunąć surowicę lub osocze jak najszybciej po pobraniu (w ciągu 3 godzin). Jeśli analiza nie zostanie przeprowadzona w ciągu 14 godzin, surowicę można przechowywać przez okres do 7 dni w temp. 2–8°C. Jeśli konieczne jest przechowanie próbek do analizy przez okres dłuższy niż 1 tydzień, próbki można zamrozić w temp. < -70°C na okres do 3 miesięcy. Próbkę mogą zostać zamrożone tylko raz. Dodatkowe instrukcje dotyczące pobierania i przechowywania próbek można znaleźć w CLSI H18-A.

PROCEDURA

Dostarczone materiały

Pojemnik odczynnika Medica HDL (Medica HDL Reagent Wedge), NR REF. 10211

Wymagane materiały dodatkowe

Kalibrator Medica HDL, NR REF. 10653

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Poziom A, NR REF. 10793

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Poziom B, NR REF. 10794

Pojemnik z barwnikiem do testu precyzji Medica (Medica Precision Test Dye Wedge), NR REF. 10764

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica (Medica Cleaner Wedge – Chemistry & ISE Wedge), NR REF. 10660 *lub*

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica (Medica Cleaner Wedge – Chemistry), NR REF. 10661

Sposób użycia

Odczynnik jest gotowy do użycia w dostarczonej postaci. Zdjąć korki i umieścić odczynnik na tacy odczynników analizatora EasyRA znajdującej się na obszarze odczynników. Stabilność podczas przechowywania w systemie (maksymalnie 24 dni) programowana jest w układzie RFID na pojemniku odczynnika.

Uwaga: Przed umieszczeniem pojemnika w analizatorze sprawdzić, czy po zdjęciu korków wewnątrz szyjek pojemnika nie wytworzyła się piana. Jeśli pojawiła się piana, usunąć ją wacikiem lub jednorazową pipetką przed przeprowadzeniem badania. Używać oddzielnych czystych wacików lub pipetek do czyszczenia części odczynników R1 i R2.

Kalibracja

Kalibrację badania zaleca się przeprowadzać z użyciem kalibratora Medica HDL Calibrator, NR REF. 10653. Odstęp między kalibracjami (maksymalnie 30 dni) programowany jest w układzie RFID na pojemniku odczynnika. Rekalibracja jest wymagana po każdorazowej zmianie partii odczynnika lub wystąpieniu zmian w wartościach kontroli jakości. Wartość stężenia kalibratora HDL Cholesterol Calibrator została ustalona w toku procedur National Reference System for Cholesterol (NRS/CHOL).

Kontrola jakości

Zaleca się przeprowadzanie kontroli jakości badania surowicy ludzkiej na dwóch poziomach (normalnym i abnormalnym) codziennie jeśli wykonywane są badania pacjentów oraz po każdorazowej zmianie partii odczynników. Problemy z uzyskaniem odpowiedniego zakresu wartości podczas oznaczania materiału kontrolnego mogą wskazywać na degradację odczynnika, usterkę instrumentu lub błędy proceduralne. Podczas korzystania z materiałów kontroli jakości w laboratorium należy również stosować lokalne, stanowe i federalne wytyczne kontroli jakości.

Wyniki

Po zakończeniu badania analizator chemiczny EasyRA oblicza stężenie HDL na podstawie stosunku wyregulowanej absorbancji próbki badanej do wyregulowanej absorbancji kalibratora pomnożonej przez wartość kalibracyjną.

$$\text{HDL (mg/dl)} = \frac{[(A_{U_{600}} - A_{U_{700}}) - (A_{RBlk_{600}} - A_{RBlk_{700}})] - [(A_{U_{600}} - A_{U_{700}})_{SBlk} - (A_{RBlk_{600}} - A_{RBlk_{700}})_{SBlk}] \times dF}{[(A_{C_{600}} - A_{C_{700}}) - (A_{RBlk_{600}} - A_{RBlk_{700}})] - [(A_{C_{600}} - A_{C_{700}})_{SBlk} - (A_{RBlk_{600}} - A_{RBlk_{700}})_{SBlk}] \times dF} \times \text{Cal Value}$$

Gdzie A_U i A_C to kolejno wartości absorbancji próbki badanej i kalibratora; A_{RBlk} to absorbancja odczynnika ślepego; $SBlk$ to próba ślepa; natomiast „Cal Value” to stężenie HDL w kalibratorze (mg/dl). Ponieważ objętość reakcji ulega zmianie po opóźnionym dodaniu odczynnika R2, obliczenia uwzględniają również współczynnik korekcyjny rozcieńczenia (dF).

Przewidywane wartości⁶

Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własny zakres wartości przewidywanych, gdyż istnieją różnice pomiędzy instrumentami, laboratoriami oraz mieszkańcami różnych regionów.

NCEP (National Cholesterol Education Program – Narodowy Program Nauczania o Cholesterolu) określa stężenie HDL-C w surowicy poniżej poziomu 40 mg/dl jako istotny niezależny czynnik ryzyka chorób wieńcowych. Natomiast stężenie przekraczające 60 mg/dl zostało uznane za „ujemny czynnik ryzyka”, co podkreśla ochronne znaczenie podwyższonego poziomu cholesterolu HDL.

Ograniczenia proceduralne (np. w przypadku wykroczenia próbki poza zakres oznaczania)

Unikać używania próbek silnie hemolizowanej surowicy lub osocza.

Analizator EasyRA sygnalizuje każdy wynik powyżej 150 mg/dl, jako wysoką liniowość „LH”. Nie należy programować automatycznego powtarzania dla wyników powyżej zakresu liniowego dla tego badania. Zakres liniowy nie może zostać rozszerzony powyżej 150 mg/dl.

CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCI⁷

Zakres raportowany

Zakres raportowany wynosi od 2 do 150 mg/dl.

Niedokładność/korelacja (CLSI, EP9-A2)

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania odczynnika cholesterolu HDL Medica (y) w analizatorze EasyRA z porównywalnym odczynnikiem HDL (x) w analizatorze Roche COBAS MIRA*. Przedstawione dane to wyniki dla pojedynczych oznaczeń na analizatorze EasyRA w porównaniu z przeciętnie dwiema powielanymi wartościami uzyskanymi na analizatorze Roche COBAS MIRA.

Ilość próbek	61	Zakres próbek	2 - 148 mg/dl
Nachylenie	0,93	Wychwytywanie y	1,8
Współczynnik korelacji	0,9976	Równanie regresji	$Y = 0,93 \cdot X + 1,8$

*Cobas Mira to zarejestrowana nazwa handlowa Roche Diagnostics, INC, Indianapolis, IN.

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania pasujących próbek surowicy (x) i osocza z heparyną litową (y) przy użyciu odczynnika HDL w analizatorze EasyRA. Przedstawione dane to wyniki dla pojedynczych oznaczeń osocza w porównaniu z przeciętnie dwiema powielanymi wartościami dla surowicy.

Ilość próbek	70	Zakres próbek	1,62 do 14,71 mg/dl
Nachylenie	0,9854	Wychwytywanie y	-0,0643
Współczynnik korelacji	0,9891	Równanie regresji	$Y = 0,9854 \cdot X - 0,0643$

Dokładność metody została zweryfikowana w porównaniu do metody Designated Comparison Method (DCM) dla cholesterolu HDL z wykorzystaniem 40 świeżych próbek w laboratorium CRLMN. Metoda otrzymała certyfikat zgodności (Certificates of Traceability), co oznacza poziom odstępstwa od metody referencyjnej $\leq 3\%$ i współczynnik wariancji (CV) $\leq 3\%$.

Niedokładność (CLSI, EP5-A2)

Podwójne pomiary każdego z trzech poziomów materiałów do kontroli jakości były testowane dwa razy dziennie przez 20 dni. Dane te posłużyły do ustalenia zarówno dokładności wewnątrz przebiegu, jak i całkowitej.

Niedokładność wewnątrz przebiegu:

Poz. kontr. jakości mg/dl	SD wewn. przebiegu mg/dl	CV wewn. przebiegu %
33,2	0,65	1,96
64,6	0,96	1,49
39,6	0,80	2,02

Niedokładność całkowita:

Poz. kontr. jakości mg/dl	SD niedokł. całkowita mg/dl	CV niedokł. całkowita %
33,2	0,84	2,52
64,6	1,41	1,92
39,6	1,20	3,10

Liniowość (CLSI, EP6-A)

Liniowe od 2 do 150 mg/dl, na podstawie regresji liniowej $Y = 1,026 \cdot X + 1,741$. Zakres liniowy nie może zostać rozszerzony powyżej 150 mg/dl.

Interferencja (CLSI, EP7-A)

Zmiana wartości poniżej 10% została sklasyfikowana jako „brak znaczącej interferencji”.

Brak znaczącej interferencji zanotowano dla hemoglobiny na poziomie poniżej 500 mg/dl.

Brak znaczącej interferencji zanotowano dla bilirubiny na poziomie poniżej 30 mg/dl.

Brak znaczącej interferencji zanotowano dla trójglicerydów na poziomie poniżej 1000 mg/dl (z zastosowaniem Intralipid*).

Intralipid jest zarejestrowanym znakiem towarowym Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young przedstawia listę leków i innych substancji będących przyczyną interferencji w klinicznych testach chemicznych.^{8, 9}

LITERATURA

1. Crouse, J.R., et al., Studies of low density lipoprotein molecular weight in human beings with coronary artery disease. J. Lipid Res., 26: 566 (1985).
2. Castelli, W.P. et al., HDL Cholesterol and other lipids in coronary heart disease, Circulation, 55:767 (1977).
3. Romm PA., et al., *Relation of Serum Lipoprotein Cholesterol Levels to Presence and Severity of Angiographic Coronary Artery Disease*. Am. J. Cardiol. (1991) 67: 479-483.
4. Special Communication, Executive 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 Vol 285:19, 2486-2497 (2001).
5. Warnick G.; Russell; Wood, Peter D., National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol: Executive Summary, Clin Chem, 41:10, 1427-1433 (1995).
6. Gordon T., et al., *High Density Lipoprotein as a Protective Factor against Coronary Heart Disease: The Framingham Study*. Am J. Med. (1977) 62: 707-714.
7. Dane własne Medica.
8. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
9. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.

PARAMETRY OZNACZANIA EASYRA (HDL)

Podstawowa długość fali (nm)	600
Drugorzędna długość fali (nm)	700
Typ reakcji	Punkt końcowy (2)
Kierunek reakcji	Rosnący
Odczynnik ślepy	Tak (przy każdej kalibracji)
Próba ślepa	Tak
Czas reakcji	10,4 min.
Odstęp między kalibracjami (maksymalny)	30 dni
Stabilność odczynnika w systemie	60 dni

Surowica/Osocze

Obj. próbki (μl)	2,5
Obj. rozcieńczalnika 1 (μl)	15
Obj. rozcieńczalnika 2 (μl)	20
Obj. odczynnika R1 (μl)	250
Obj. odczynnika R2 (μl)	83
Miejsca po przecinku (wartości domyślne)	0
Jednostki (wartości domyślne)	mg/dl
Liniowość	2 - 150 mg/dl



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, MA 01730-1413 USA



Emergo Europe, Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands