

REF 10211-4 4 x 29 мл / 10 мл

ЛВП ХОЛЕСТЕРИН (ЛВП)

Каждый контейнер содержит полезный объем из 29 мл реагента R1 и 10 мл реагента R2.

НАЗНАЧЕНИЕ

Реагент EasyRA ЛВП предназначен для количественного определения холестерина липопротеинов высокой плотности в человеческой сыворотке или плазме с помощью биохимического анализатора MEDICA EasyRA® в клинических лабораториях. Только для диагностического применения *in-vitro*. Только для профессионального применения. Данный анализ на ЛВП холестерин сертифицирован Лабораторной сетью (CRMLN) по референсным методам оценки холестерина.

КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ И ОБОСНОВАНИЕ

Липопротеины растворяют и транспортируют холестерин и другие липиды в крови. Существуют различные классы липопротеинов, оказывающее неодинаковое воздействие на сердце и сердечно-сосудистую систему¹. Повышенный уровень липопротеинов высокой плотности (ЛВП) сопутствует низкому риску ишемической болезни сердца и также может служить защитным фактором. Измерение холестерина ЛВП является важным анализом в ранней диагностике и лечении нарушений метаболизма жиров и липопротеинов. Низкий уровень холестерина ЛВП обладает значительной связью с повышенным риском ишемической болезни сердца^{2, 3}. Поэтому, определение ЛВП-Х в сыворотке крови является полезным анализом для выявления пациентов высокого риска. Экспертная группа по лечению взрослых Национальной образовательной программы по холестерину (NCEP) рекомендует всем людям от 20 лет и старше проводить измерение липопротеинового профиля натошак (общий холестерин, холестерин ЛНП, холестерин ЛВП и триглицериды) каждые пять лет для скрининга риска ишемической болезни сердца⁴. Референсным методом определения холестерина ЛВП является анализ по Abell-Kendall⁵. Тем не менее, референсный метод требует ультрацентрифугирования и преципитации и не может быть полностью автоматизирован; по этой причине были разработаны гомогенные (прямые) методы. Этот метод основан на ускорении реакции холестеролоксидазы с ЛВП-несвязанным холестерином и селективном растворении ЛВП с помощью специального детергента (а именно, «Ускоряющего селективного детергента»).

ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

Данный метод прямого анализа уровня холестерина ЛВП заключается в удалении других, не относящихся к ЛВП липопротеинов путем селективной реакции с реагентом 1. На втором этапе, селективный детергент реагента 2 специфично растворяет холестерин ЛВП, который затем реагирует с хромогеном с образованием окраски, регистрируемой оптически в области 600 нм. Интенсивность цвета в области максимальной оптической плотности 600 нм пропорциональна концентрации холестерина ЛВП в образце.

РЕАГЕНТЫ

РЕАГЕНТ ЛВП (R1):

Буфер Good	
Холестерин оксидаза (E. Coli)	< 1000 ед/л
Пероксидаза (хрена)	< 1300 частей на г ед/л
N, N-бис (4-сульфобутил)-m-толуидин-динатрий (DSBmT)	< 1 мМ
Ускоритель	< 1 мМ
Консервант	< 0,06%

РЕАГЕНТ ЛВП (R2)

Буфер Good	
Холестеринэстераза (pseudomonas sp.)	< 1500 ед/л
4-аминоантипирин	< 1 мМ
Детергент	< 2%
Повторный краситель	< 0,15%
Консервант	< 0,06%
Оксидаза аскорбиновой кислоты (Curcubita sp.)	< 3000 ед/л

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. При работе с любыми лабораторными реактивами должны соблюдаться стандарты безопасности надлежащей лабораторной практики. (CLSI, GP17-A2).
2. Реактивы содержат менее 0,1% азида натрия, который может вступать в реакцию со свинцовыми и медными участками трубопровода с образованием взрывоопасных азидов металлов. Обратитесь к Спецификации по безопасности для получения информации по риску, потенциальной опасности и безопасности.
3. Как и при любой диагностической процедуре, результаты должны интерпретироваться только в совокупности с результатами всех остальных анализов и клинического обследования пациента.
4. Не используйте вымытые пробирки.

ИНСТРУКЦИИ ПО ОБРАЩЕНИЮ, ХРАНЕНИЮ И СТАБИЛЬНОСТИ

Данный реагент поставляется в готовом к использованию виде. Нераспечатанный реагент стабилен до даты истечения срока годности на этикетке при температуре хранения 2-8 °С. Реагент стабилен внутри охлажденной камеры для реагентов анализатора EasyRA в течение срока, запрограммированного на чипе радиочастотной идентификации (RFID) на контейнере реагента. Не используйте реагент если он замутнен или непрозрачен, или если в сыворотке не удалось определить известные контрольные значения.

СБОР ОБРАЗЦОВ И ХРАНЕНИЕ/СТАБИЛЬНОСТЬ⁵

В качестве образца необходима свежая сыворотка или плазма крови, взятая у пациента натощак через 12-14 часов после приема пищи. Образцы плазмы следует брать с использованием литий-гепарина в качестве антикоагулянта. Соберите сыворотку или плазму как можно быстрее после взятия (в течение 3 часов). Если анализы не проведены в течение 14 часов, сыворотку можно хранить до 7 дней при температуре 2-8 °С. Если образцы нужно хранить перед тестированием дольше 1 недели, их можно заморозить при температуре ниже -70 °С на срок до 3 месяцев. Образцы можно замораживать только один раз. Дальнейшие инструкции по сбору образцов, обращению и хранению приведены в CLSI H18-A.

ПРОЦЕДУРА

Предоставляемые материалы

Контейнер для реагента Medica ЛВП, REF 10211

Необходимые дополнительные материалы

Калибратор Medica ЛВП, REF 10653

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Уровень А, REF 10793

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Уровень В, REF 10794

Контейнер красителя для точного анализа Medica, REF 10764

Контейнер Medica Cleaner – Chemistry & ISE, REF 10660 *или*

Контейнер Medica Cleaner – Chemistry, REF 10661

Инструкции по применению

Данный реагент поставляется в готовом к использованию виде. Удалите колпачок и поместите реактив в отделение для реагентов анализатора EasyRA, расположенное в зоне для реагентов. Автономная стабильность (максимум 60 дней) запрограммирована в чипе RFID на контейнере реагента.

Примечание: проверьте внутреннюю поверхность горловины контейнера на наличие пены после удаления крышки и помещения контейнера в анализатор. В случае наличия пены удалите ее тампоном или одноразовой пипеткой до проведения исследования. Используйте отдельные чистые тампоны или одноразовые пипетки для R1 и R2.

Калибровка

Для калибровки анализа рекомендуется калибратор ЛВП Medica, REF 10653. Диапазон калибровки (максимум 30 дней) запрограммирован на чипе RFID на контейнере реактивов. Во всех случаях изменения номера партии реактивов или наличия сдвигов в значениях контроля качества требуется повторная калибровка. Уровень калибратора холестерина ЛВП был предписан рекомендациями, восходящими к Национальной референсной системе по холестерину (NRS/CHOL).

Контроль качества

Рекомендуется проведение двух уровней контроля анализа на основе человеческой сыворотки (нормальный и аномальный) ежедневно в те дни, когда выполняется исследование образцов пациента, и при каждой смене набора реагентов. Отсутствие верного спектра значений при анализе контрольного материала может указывать на нарушение свойств реагента, нарушение работы оборудования или ошибки в процедуре. При использовании калибраторов лаборатория должна соблюдать указания по контролю качества местных и федеральных властей, а также властей штата.

Результаты

После завершения анализа анализатор EasyRA вычисляет концентрацию креатинина в моче из отношения скорректированной искомой оптической плотности образца к скорректированной оптической плотности калибратора, умноженного на значение калибратора.

$$\text{ЛВП (мг/дл)} = \frac{[(A_{U_{600}} - A_{U_{700}}) - (A_{RBik_{600}} - A_{RBik_{700}})] - [(A_{U_{600}} - A_{U_{700}}) S_{Bik} - (A_{RBik_{600}} - A_{RBik_{700}}) S_{Bik}]}{[(A_{C_{600}} - A_{C_{700}}) - (A_{RBik_{600}} - A_{RBik_{700}})] - [(A_{C_{600}} - A_{C_{700}}) S_{Bik} - (A_{RBik_{600}} - A_{RBik_{700}}) S_{Bik}]} \times \text{dF} \times \text{значение калибратора}$$

Где A_U и A_C – значения поглощения неизвестного образца и калибратора, соответственно; A_{RBik} – поглощение пустого реагента; S_{Bik} – пустой образец; и «значение калибратора» – концентрация креатинина в калибраторе (мг/дл). Учитывая, что объем химической реакции изменяется при более позднем добавлении реагента R2, в расчет включен поправочный коэффициент разведения (dF).

Ожидаемые значения⁶

Из-за существующих различий между приборами, лабораториями и локальными популяциями, в каждой лаборатории рекомендуется установить собственный диапазон ожидаемых значений.

NCEP (Национальная образовательная программа по холестерину) определяет концентрацию ЛВП-Х в сыворотке крови ниже 40 мг/дл как значимый независимый фактор риска ишемической болезни сердца. Сходным образом, концентрации выше 60 мг/дл были определены как факторы «отсутствия риска», что подчеркивает защитный эффект повышенного уровня холестерина ЛВП.

Ограничения Процедуры (например, если образец выходит за пределы диапазона метода)

Избегайте использования сильно гемолизованных образцов сыворотки или плазмы.

Биохимический анализатор EasyRA отмечает все результаты свыше 150 мг/дл как высокая линейность (Linearity High «LH»). Не устанавливайте автоматический повторный запуск для результатов свыше диапазона линейности для данного метода. Диапазон линейности не может превосходить 150 мг/дл.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ⁷

Регистрируемый диапазон

Регистрируемый диапазон составляет от 2 до 150 мг/дл.

Погрешность/Корреляция (CLSI, EP9-A2)

В следующей таблице приведены данные, полученные при сравнении реагента Medica для ЛВП (y) в анализаторе EasyRA с характеристиками сходного реагента ЛВП (x) в анализаторе Roche COBAS MIRA*. Значения находились в диапазоне от 2 до 148 г/дл. Приведенные ниже данные являются показателями однократных измерений в анализаторе EasyRA против среднего от двух повторных значений, полученных в анализаторе Roche COBAS MIRA.

Количество образцов	61	Размах выборки	от 2 до 148 мг/дл
Угловой коэффициент	0,93	Отрезок, отсекаемый на оси y	1,8
Коэффициент корреляции	0,9976	Уравнение регрессии	$Y = 0,93 * X + 1,8$

*Cobas Mira является зарегистрированной торговой маркой Roche Diagnostics, Inc., Indianapolis, IN.

В следующей таблице приведены данные, полученные при сравнении сопоставленных образцов сыворотки (x) и плазмы с обработкой литий-гепарином (y) с помощью реагента Medica для ЛВП на анализаторе EasyRA. Приведенные ниже данные представляют собой результаты однократных измерений плазмы в сравнении со средним двух значений повторных измерений сыворотки.

Количество образцов	70	Размах выборки	от 1,62 до 14,71 мг/дл
Угловой коэффициент	0,9854	Отрезок, отсекаемый на оси y	- 0,0643
Корреляция	0,9891	Уравнение регрессии	$Y = 0,9854 * X - 0,0643$

Точность анализа холестерина ЛВП была верифицирована путем сравнения с Предписанным методом сравнения (DCM) для оценки холестерина на 40 свежих образцах в лаборатории CRLMN. Данный метод получил Сертификаты единства результатов, что указывает на то, что уровень ошибок относительно метода сравнения составил $\leq 3\%$ с коэффициентом вариации (КВ) $\leq 3\%$.

Расхождение результатов (CLSI, EP5-A2)

Повторные измерения каждого из трех уровней калибровочного (QC) материала проводились дважды в день в течение 20 дней. На основании этих данных были рассчитаны как общее отклонение, так и отклонение внутри ряда измерений.

Погрешность внутри ряда измерений:

Уровень QC мг/дл	СО внутри ряда измерений мг/дл	КВ внутри ряда измерений %
33,2	0,65	1,96
64,6	0,96	1,49
39,6	0,80	2,02

Общее расхождение результатов:

Уровень QC мг/дл	СО общего расхождения результатов: мг/дл	КВ общего расхождения результатов: %
33,2	0,84	2,52
64,6	1,41	1,92
39,6	1,20	3,10

Линейность (CLSI, EP6-A)

Линейные от 2 до 150 мг/дл, основываясь на линейной регрессии $Y = 1,026 \cdot X + 1,741$. Диапазон линейности не может быть увеличен более 150 мг/дл.

Вещества, создающие интерференцию (CLSI, EP7-A)

Изменение значения менее чем на 10% классифицировалось как «отсутствие значимой интерференции».

Отсутствие значимой интерференции было найдено для значений гемоглобина до 500 мг/дл.

Отсутствие значимой интерференции было найдено для значений билирубина до 30 мг/дл.

Отсутствие значимой интерференции было найдено для значений триглицеридов до 1000 мг/дл (с использованием Intralipid*).

*Intralipid является зарегистрированной торговой маркой Pharmacia AB, Clayton, NC.

Юнг приводит список лекарственных средств и других веществ, которые создают помехи при клинических лабораторных исследованиях^{8,9}.

ЛИТЕРАТУРА

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. Неопубликованные данные 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.

Параметры анализа EasyRA (ЛВП)

Основная длина волны (нм)	600
Вторичная длина волны (нм)	700
Тип реакции	Конечная точка (2)
Направление реакции	Увеличение
Пустой реагент	Да (при каждой калибровке)
Пустой образец	Да
Время реакции	10,4 мин
Периодичность калибровок (максимальная)	30 дней
Автономная стабильность реагента	60 дней

Сыворотка/плазма

Объем образца (мкл)	2,5
Объем растворителя 1 (мкл)	15
Объем растворителя 2 (мкл)	20
Объем реактива R1 (мкл)	250
Объем реактива R2 (мкл)	83
Разряды десятичной дроби (по умолчанию)	0
Единицы (значения по умолчанию)	мг/дл
Линейность	от 2 до 150 мг/дл