

REF 10224-4 4 x 29 ml / 10 ml

CHOLESTEROL – LIPOPROTEINA O NISKIEJ GĘSTOŚCI (LDL)

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

ZASTOSOWANIE

Odczynnik LDL EasyRA służy do ilościowego pomiaru lipoproteiny o niskiej gęstości w surowicy ludzkiej lub osoczu z użyciem analizatora MEDICA EasyRA® w laboratoriach klinicznych. Pomiar LDL jest używany przy rozpoznaniu i leczeniu schorzeń lipidowych (takich jak cukrzyca), miażdżycy tętnic i różnych chorób wątroby i nerek.

Do wyłącznego użytku przy diagnostyce *in-vitro*. Do stosowania wyłącznie przez profesjonalny personel.

OPIS I OBJAŚNIENIA

Lipoproteiny rozpuszczają i transportują cholesterol i inne lipidy we krwi. Występują różne klasy lipoprotein, które wykazują różne wpływy na serce i układ sercowo-naczyniowy.¹ Pomiar stężenia cholesterolu LDL pomaga we wczesnym rozpoznaniu i leczeniu zaburzeń metabolizmu lipidów i lipoprotein. Wszystkie badania wskazują na cholesterol LDL jako podstawowy czynnik w patogenezie miażdżycy tętnic i choroby tętnicy wieńcowej (CAD).²⁻⁸ Komisja d/s Leczenia Dorosłych Narodowego Programu Nauczania o Cholesterolu (NCEP) zaleca sporządzanie pełnego profilu lipoproteinowego na czczo (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 Nawet przy normalnym zakresie stężenia całkowitego cholesterolu, może wystąpić przyrost stężenia cholesterolu LDL ze związanym zwiększeniem ryzyka CAD.⁹

ZASADY PROCEDURY

Ta metoda bezpośredniego wykonania pomiaru cholesterolu LDL polega na usunięciu innych lipoprotein nie-LDL, poprzez wybiórczą solubilizację i zamianę w niekolorowy produkt na skutek reakcji z odczynnikiem 1. W następnej czynności, wybiórczy detergent w odczynniku 2 solubilizuje cholesterol LDL, który specyficznie reaguje z chromatogenem by uzyskać kolor, który może być czytany optycznie przy 550 nm. Intensywność koloru przy maksymalnej absorpcji przy 550 nm jest wprost proporcjonalna do stężenia cholesterolu LDL w próbce.

ODCZYNNIKI

ODCZYNNIK (R1) DETERGENTOWY SOLUBILIZUJĄCY LDL:

Bufor	
Detergent 1	< 1,0%
Esteraza cholesterolowa	< 1500 U/l
Oksydaza cholesterolowa	< 1500 U/l
Peroksydaza (chrzan)	< 1300 ppg U/l
Oksydaza askorbinowa	< 3000 U/l
Środek konserwujący	

ODCZYNNIK (R2) DETERGENTOWY BARWIĄCY LDL :

Bufor	
Detergent 2	< 1,0%
N, N-bis(4-sulfobutyl)-m-toluidyna, dwusodowa (DSBmT)	< 1 mM
Środek konserwujący	

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Podczas używania dowolnego odczynnika laboratoryjnego należy przestrzegać dobrych praktyk bezpieczeństwa laboratoryjnego. (CLSI, GP17-A2).
2. Odczynniki zawierają mniej niż 0,1% azydki 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 Danych 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 należy używać mytych kuwet.

INSTRUKCJE DOTYCZĄCE UŻYCIA, PRZECHOWYWANIA I STABILNOŚCI ODCZYNNIKA

Odczynnik jest gotowy do użycia w dostarczonej postaci. Jeśli nieotwarty odczynnik jest przechowywany w temperaturze 2–8°C, to jest on stabilny do daty ważności. Odczynnik jest stabilny w komorze chłodniczej odczynników analizatora chemicznego MEDICA EasyRA przez okres paru dni zaprogramowanych w układzie scalonym RFID na pojemniku odczynnika. Nie używać odczynnika, jeśli jest mętny lub zanieczyszczony, lub jeśli wskazuje błędne wartości podczas porównania ze znanymi wartościami kontrolnymi. NIE ZAMRAŻAĆ.

POBIERANIE I PRZECZYSZCZANIE/STABILNOŚĆ PRÓBEK

Wymagana jest świeża surowica lub świeże osocze pobrane od pacjenta po 12–14 godzinach na czczo. Próbkę osocza należy pobierać, używając heparyny litowej jako antykoagulantu. Usunąć surowicę lub osocze jak najszybciej po pobraniu (w ciągu 3 godzin). Jeżeli analizy nie zostaną wykonane w przeciągu 14 godzin, to surowica może być przechowana do 5 dni w temperaturze 2–8°C. Jeśli próbki muszą być przechowane dłużej niż 5 dni zanim wykona się analizę, to muszą one być zamrożone w temperaturze < -80°C. Próbkę mogą być zamrożone tylko jeden raz. Dodatkowe instrukcje dotyczące pobierania i przechowywania próbek można znaleźć w CLSI H18-A.

PROCEDURA

Dostarczone materiały

Pojemnik odczynnika Medica LDL, NR REF. 10224

Wymagane materiały dodatkowe

Kalibrator Medica LDL, NR REF. 10655

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

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

Pojemnik z barwnikiem do testu Medica Precision, NR REF. 10764

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica – Chemistry & ISE, NR REF. 10660 lub

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica – 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 (maksimum 60 dni) jest zaprogramowana w układzie scalonym RFID na pojemniku odczynnika.

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

Kalibracja

Kalibrator LDL firmy Medica, Nr REF. 10655 jest zalecany do kalibrowania analizy. Odstęp między kalibracjami (maksymalnie 30 dni) programowany jest w układzie scalonym RFID na pojemniku odczynnika. Rekalibracja jest wymagana po każdorazowej zmianie partii odczynnika lub wystąpieniu zmian w wartościach kontroli jakości. Wartość stężenia kalibratora cholesterolu LDL 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 – wtedy, gdy odbywają się badania pacjenta, 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 się do lokalnych, stanowych i federalnych wytycznych kontroli jakości.

Wyniki

Po zakończeniu analizy, analizator EasyRA oblicza stężenie LDL na podstawie stosunku wyregulowanej absorbancji próbki badanej do wyregulowanej absorbancji kalibratora pomnożonej przez wartość kalibracyjną.

$$\text{LDL (mg/dl)} = \frac{[(A_{U550} - A_{U700}) - (A_{RBlk550} - A_{RBlk700})] - [(A_{U550} - A_{U700})_{SBlk} - (A_{RBlk550} - A_{RBlk700})_{SBlk}] \times dF}{[(A_{C550} - A_{C700}) - (A_{RBlk550} - A_{RBlk700})] - [(A_{C550} - A_{C700})_{SBlk} - (A_{RBlk550} - A_{RBlk700})_{SBlk}] \times dF} \times \text{Wartość kal}$$

Gdzie A_U i A_C to wartości absorbancji próbki badanej i kalibratora; A_{RBlk} jest absorbancją odczynnika ślepego; $SBlk$ to próbka ślepa; a „Wartość kal” jest stężeniem LDL w kalibratorze (mg/dl lub mmol/l). 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.

Zakres referencyjny dla LDL w surowicy jest następujący, zgodnie z wytycznymi Narodowego Programu Nauczania o Cholesterolu (NCEP) - Leczenie Dorosłych, Panel III (ATP III).

Cholesterol LDL – podstawowy cel leczenia

< 100	mg/dl	Optymalny
100 - 129	mg/dl	Bliski optymalnego/powyżej optymalnego
130 - 159	mg/dl	Linia graniczna wysoka
160 - 189	mg/dl	Wysoki
> 190	mg/dl	Bardzo wysoki

Ograniczenia proceduralne

Unikać używania silnie hemolizowanych i/lub żółtaczkowych próbek surowicy lub osocza.

Analizator EasyRA sygnalizuje każdy wynik powyżej 540 mg/dl jako wysoką liniowość „LH”. W przypadku wybrania przez operatora ikony „Re-run” (Uruchom ponownie), próbka może zostać ponownie zbadana przy użyciu połowy (1/2) objętości próbki. Wyniki ponownej analizy zostają obliczone z uwzględnieniem zmniejszonej objętości próbki. Spowoduje to rozszerzenie raportowanego zakresu oznaczania LDL do 1080 mg/dl.

CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCI⁷

UWAGA: Test LDL firmy Medica nie został certyfikowany lub przetestowany przez Sieć Laboratoryjną Metod Referencyjnych Cholesterolu (CRLMN).

Zakres raportowany

Zakres raportowany wynosi od 6 do 540 mg/dl. Rozszerzony zakres wynosi od 6 do 1080 mg/dl przy użyciu połowy próbki (rozcieńczenie 1:1).

Niedokładność/korelacja (CLSI, EP9-A2)

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania odczynnika cholesterolu LDL Medica (y) w analizatorze EasyRA z porównywalnym odczynnikiem LDL (x) w analizatorze Roche COBAS MIRA*. Przedstawione dane to wyniki dla pojedynczych oznaczeń na analizatorze EasyRA w porównaniu ze średnią dwóch wyników z replikowanymi wartościami uzyskanymi na analizatorze Roche COBAS MIRA.

Ilość próbek	61	Zakres próbek	7 do 540 mg/dl
Nachylenie	0,9904	Wychwytywanie y	-0,3123
Współczynnik korelacji	0,9976	Równanie regresji	$Y = 0,9904 \cdot X - 0,3123$

*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 LDL 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	$Y = 0,9854 \cdot X - 0,0643$

Niedokładność (CLSI, EP5-A2)

Podwójne pomiary każdego z czterech 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:

Poziom kontr. jakości mg/dl	SD wewn. przebiegu mg/dl	CV wewn. przebiegu %
193	2,11	1,1
133	1,59	1,2
83	0,99	1,2
49	0,70	1,4

Niedokładność całkowita:

Poziom kontr. jakości mg/dl	SD niedokł. całkowita mg/dl	CV niedokł. całkowita %
193	3,36	1,8
133	3,03	2,3
83	1,93	2,3
49	1,31	2,7

Liniowość (CLSI, EP6-A)

Liniowe od 6 do 540 mg/dl., w oparciu o regresję liniową $Y = 1,00 \cdot X - 4,03$.

Zakres liniowy może zostać rozszerzony powyżej 540 mg/dl. Chemiczny analizator Medica EasyRA sygnalizuje każdy wynik powyżej 540 mg/dl jako wysoką liniowość „LH”. W przypadku wybrania przez operatora ikony „Re-run” (Uruchom ponownie), próbka może zostać ponownie zbadana przy użyciu połowy (1/2) objętości próbki. Wyniki ponownej analizy zostają obliczone z uwzględnieniem zmniejszonej objętości próbki. Spowoduje to rozszerzenie raportowanego zakresu oznaczania LDL do 1080 mg/dl.

Limit ilościowania (LOQ): 4,8 mg/dl (CLSI, EP17-A)

Substancje interferujące (NCCLS, EP7-A)

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

Brak znaczącej interferencji zanotowano dla hemoglobiny na poziomie poniżej 600 mg/dl.

Zanotowano znaczącą interferencję dla bilirubiny na poziomie powyżej 5,5 mg/dl. Nie używać próbek żółtaczkowych.

Brak znaczącej interferencji zanotowano dla trójglicerydów na poziomie poniżej 500 mg/dl (z zastosowaniem Intralipid*).

Brak znaczącej interferencji zanotowano dla kwasu askorbinowego na poziomie poniżej 50 mg/dl.

*Intralipid jest zarejestrowanym znakiem handlowym firmy Pharmacia AB z Clayton, NC.

Young przedstawia listę leków i innych substancji będących przyczyną interferencji w klinicznych testach chemicznych.^{10, 11}

LITERATURA

1. Gotto AM, Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia, Hospital Practice, 23: Suppl.1,4 (1988).
2. Crouse JR et al., Studies of low density lipoprotein molecular weight in human beings with coronary artery disease. J. Lipid Res., 26; 566 (1985).
3. Badimon JJ, Badimon L., Fuster V., Regression of Atherosclerotic Lesions by High-Density Lipoprotein Plasma Fraction in Cholesterol-Fed Rabbit, Journal of Clinical Investigation, 85:1234 – 41 (1990).
4. Castelli WP et al. Cholesterol and other lipids in coronary heart disease, Circulation, 55; 767 (1977).
5. Barr DP, Russ EM, Eder HA, Protein-lipid relationships in human plasma, Am. J. Med., 11;480 (1951).
6. Gordon T. et al., High density lipoprotein and coronary heart disease, Am. J. Med., 62;707 (1977).
7. William P., Robinson D., Baily A., High density lipoprotein and coronary risk factors, Lancet, 1;72 (1979).
8. Kannel WB, Castelli WP, Gordon T., Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease; New perspectives based on the Framingham study, Am. Intern. Med., 90;85 (1979).
9. National Institute of Health publication No. 93-3095, September 1993.
10. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
11. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.

Parametry oznaczania EasyRA (LDL)

Podstawowa długość fali (nm)	550
Drugorzędna długość fali (nm)	700
Typ reakcji	Punkt końcowy (2)
Kierunek reakcji	Rosnący
Odczynnik ślepy	Tak (z każdą kalibracją)
Próba ślepa	Tak
Czas reakcji	10,4 min.
Odstęp między kalibracjami (maksymalny)	30 dni
Stabilność odczynnika w systemie	60 dni

Surowica/Osocze

Objętość 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
Współczynnik rozcieńczenia	1:1 (rozszerzający zakres pomiaru)
Zakres raportowany	6 do 540 mg/dl