

LDL HOLESTEROL

Ref: LDD-80: LDD-120: LDD-240



UPOTREBA

Reagens se koristi za određivanje koncentracije LDL holesterola u serumu ili plazmi.

METODA

Direktan spektrofotometrijski metod.

KLINIČKI ZNAČAJ

Brojne studije su pokazale da je LDL holesterol ključni faktor u patogenezi ateroskleroze (koronarne bolesti). Čak i pri normalnim vrednostima ukupnog holesterola, povišene vrednosti LDL holesterola mogu da ukažu na povećan rizik od koronarne bolesti.

PRINCIP ODREĐIVANJA

Reagens 1 rastvara ne-LDL lipoproteinske čestice. Oslobođeni holesterol, pod dejstvom holesterol esteraze (CHE) i holesterol oksidaze (CHOD), ulazi u reakciju koja daje bezbojan produkt. Reagens 2 rastvara preostale LDL čestice i oslobođeni holesterol sa reagensom za kuplovanje formira obojen hromogen. Intenzitet nastale boje je proporcionalan koncentraciji LDL holesterola u uzorku ¹⁻³.

HOLESTEROL ESTRI + H₂O $\xrightarrow{\text{CHE}}$ **HOLESTEROL + MASNE KIS.**

HOLESTEROL + O₂ $\xrightarrow{\text{CHOD}}$ **HOLEST-4-EN-3-ON + H₂O₂**

2H₂O₂ + 4-AAP + FENOL $\xrightarrow{\text{POD}}$ **HINONIMIN + 4H₂O**

REAGENSI

LDL Holesterol direktan se sastoji od 2 reagensa:

	<u>LDD-80</u>	<u>LDD-120</u>	<u>LDD-240</u>
Rg.1	1 x 60 mL	1 x 90 mL	2 x 90 mL
Rg.2	1 x 20 mL	1 x 30 mL	2 x 30 mL

SASTAV REAGENASA

Rg.1	GOOD pufer pH 7	50 mmol/L
	Holesterol oksidaza	380U/L
	Holesterol esteraza	380U/L
	Katalaza	400U/L
	HDAOS	0.45 mmol/L
Rg.2	GOOD pufer pH 7,0	50 mmol/L
	4-aminoantipirin (4-AA)	1 mmol/L
	Peroksidaza (POD)	1KU/L

UPOZORENJE

1. Koristiti isključivo za dijagnostiku *in vitro*.
2. Voditi računa o propisanoj eliminaciji otpada. Ako se odbacuje u kanalizaciju, isprati velikom količinom vode.
3. Da bi se izbegla kontaminacija koristiti čist pribor ili laboratorijsku opremu za jednokratnu upotrebu.

PRIPREMA REAGENSA

Reagensi su spremni za upotrebu.

STABILNOST REAGENSA

Sve komponente su stabilne do naznačenog roka kada se čuvaju dobro zatvorene na 2-8°C, zaštićene od svetla i kontaminacije u toku upotrebe.

Rg.1 i Rg.2 su nakon otvaranja stabilni 8 nedelja na 2 - 8°C. Znaci propadanja reagensa su prisustvo grudvica i zamućenje.

UZORCI

Kao uzorak koristiti serum ili hepariniziranu plazmu. Citratna plazma ne bi trebalo da se koristi.

Stabilnost uzorka je 7 dana na 2-8°C.

DODATNI POTREBNI MATERIJALI

Opšta laboratorijska oprema i rastvori

- HDL/LDL kalibrator	Ref: HKL-003	3x1 mL
- Multikalibrator	Ref: KLB-012	4x3 mL
- Kontrolni serum N	Ref: KSN-020	4x5 mL
- Kontrolni serum P	Ref: KSP-020	4x5 mL

ANALITIČKA PROCEDURA

Analitički parametri testa:

Talasna dužina : 1°	600 nm
Kiveta :	1 cm
Temperatura :	37° C
Odnos : uzorak / reagens	3 / 300 / 100
Reakcija :	End Point
Inicijalna A reagensa :	< 0.5 Abs

Pipetirati u epruvete :

	Auz	Ast	Aspr
Uzorak (μL)	3	-	-
Standard (μL)	-	3	-
Destilovana voda (μL)	-	-	3
Rg.1 (μL)	300	300	300

Snažno promešati i inkubirati 5 minuta na 37°C, a zatim dodati :

	Auz	Ast	Aspr
Rg.2 (μL)	100	100	100

Snažno promešati i inkubirati 5 minuta na 37°C, a zatim izmeriti apsorbanciju uzorka (Auz) i standarda (Ast) prema slepoj probi reagensa (Aspr) na 600 nm.

KALIBRACIJA

Za kalibraciju koristiti HDL/LDL kalibrator ili multikalibrator

Tip kalibracione krive : Linearan

Rekalibraciju vršiti :

- nakon promene serije reagensa
- ukoliko su dobijene vrednosti kontrola izvan prihvatljivog opsega

KONTROLA KVALITETA

Za kontrolu kvaliteta preporučuje se korišćenje kontrolnih seruma.

IZRAČUNAVANJE

$$C = \frac{Auz - Aspr}{Ast - Aspr} \times Cst$$

Faktor prevođenja: mg/dL × 0,0259 = mmol/L

LDL HOLESTEROL

Ref: LDD-80: LDD-120: LDD-240

REFERENTNE VREDNOSTI

Preporučene vrednosti se klasifikuju prema riziku od nastanka kardiovaskularnih oboljenja :

Nizak rizik	< 3.37 mmol/L
Srednji rizik	3.37 – 4.12 mmol/L
Visok rizik	> 4.12 mmol/L

Date vrednosti su orijentacione; svaka laboratorija bi trebalo da utvrdi svoj referentni opseg.

ANALITIČKE KARAKTERISTIKE TESTA

Parametri validacije su izračunati na osnovu rezultata ispitivanja na analizatorima Roche 902 i Abbott –Alcion.

Opseg merenja

Od 0,13 do 18,10 mmol/L LDL holesterola.

Ukoliko je koncentracija LDL hol. veća od 18,10 mmol/L, razblažiti uzorak (1+1) sa fiziološkim rastvorom i rezultat pomnožiti sa 2.

Limit detekcije (LOD) i limit kvantifikacije (LOQ)

LoD = 0,08 mmol/L

LoQ = 0,13 mmol/L

Osetljivost određivanja (S)

$S = A/c = 0,062 \Delta Abs$ po mmol/L

Interferencije

Na određivanje LDL holesterola ne utiču sledeće supstance:

bilirubin	$c < 500 \mu\text{mol/L}$ (29,2 mg/dL),
hemoglobin	$c < 5,0 \text{ g/L}$,
askorbinska kis.	$c < 50 \text{ mg/dL}$

Preciznost određivanja

Reproducibilnost unutar serije

Uzorak 1	$X_{sr} = 3,21$	$S_d = 0,06$	$KV = 1,71 \%$
Uzorak 2	$X_{sr} = 5,12$	$S_d = 0,06$	$KV = 1,22 \%$

Reproducibilnost između serija

Uzorak 1	$X_{sr} = 3,20$	$S_d = 0,06$	$KV = 1,82 \%$
Uzorak 2	$X_{sr} = 5,12$	$S_d = 0,07$	$KV = 1,38 \%$

Korelacija

Urađena je komparativna analiza⁴ između metode firme BIOANALYTICA i komercijalnog testa druge firme na 44 uzorka humanog seruma. Dobijeni su sledeći parametri :

Linearna regresija

$$y = 1,000976 x + 0,004649$$

$$r = 0,9989$$

LITERATURA

1. Bachorik P.S., Ross J.W. National cholesterol education program recommendations for measurement of low-density lipoprotein cholesterol: executive summary. Clin Chem 41, 1414-1420, 1995.
2. LDL Cholesterol Method Certification Protocol for manufacturers. National Reference System for Cholesterol. Cholesterol Reference Method Laboratory Network. October 1997.
3. Tietz, N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. WB Saunders Co, Philadelphia, Pa. 404-407, 1995.
4. H. Passing, W.A. Bablok, A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I. J Clin Chem and Clin Biochem 21(11), 709-720, 1983.



Bioanalytica d.o.o.
Agostina Neta 84/2, Beograd,
Srbija
www.bioanalytica.rs



Bioscience Medical SL
Velazquez 126, 7AB,
Madrid, Spain



Broj rešenja o upisu : _____