

LDL CHOLESTEROL DIRECT

Cat. No.	Pack Name	Packing (Content)
BLT00043	LDL C DIRECT 80	R1: 1 x 60 ml, R2: 1 x 20 ml
BLT00042	LDL C DIRECT 240	R1: 3 x 60 ml, R2: 3 x 20 ml

EN



INTENDED USE

Diagnostic reagent for quantitative *in vitro* determination of LDL Cholesterol in human serum and plasma.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Low Density Lipoproteins (LDL) are synthesized in the liver by the action of various lipolytic enzymes on triglyceride-rich Very Low Density Lipoproteins (VLDLs). Specific LDL receptors exist to facilitate the elimination of LDL from plasma by liver parenchymal cells. It has been shown that most of the cholesterol stored in atherosclerotic plaques originates from LDL. For this reason the LDL cholesterol concentration is considered to be the most important clinical predictor, of all single parameters, with respect to coronary atherosclerosis. Accurate measurement of LDL Cholesterol is of vital importance in therapies which focus on lipid reduction to prevent atherosclerosis or reduce its progress and to avoid plaque rupture. Can be applied on automated analyzers.

PRINCIPLE

When a sample is mixed with Reagent 1, the protective reagent binds to LDL and protects LDL from enzyme reactions. Cholesterol esterase (CHES) and cholesterol oxidase (CHOD) reacts with non-LDL lipoproteins (chylomicrons, VLDL, HDL). Hydrogen peroxide produced by the enzyme reactions with non-LDL cholesterol is decomposed by catalase in Reagent 1. When Reagent 2 is added, the protective reagent is removed from LDL and catalase is inactivated by sodium azide (NaN₃). In this second process, CHE and CHOD react only with LDL cholesterol. Hydrogen peroxide produced by the enzyme reactions with LDL cholesterol yields a color complex upon oxidative condensation with HDAOS [N-(2-hydroxy-3-sulfo-propyl)-3,5-dimethoxyaniline] and 4-aminoantipyrine in the presence of peroxidase (POD). The absorbance of the blue color complex is measured at 600 nm.

REAGENT COMPOSITION

R1	
Good's buffer, pH 6.8	25 mmol/l
Cholesterol esterase (CHES)	83.3 µkat/l
Cholesterol oxidase (CHOD)	83.3 µkat/l
HDAOS	0.64 mmol/l
Catalase	16.66 µkat/l
R2	
Good's buffer, pH 7.0	25 mmol/l
4-aminoantipyrine (4-AA)	3.4 mmol/l
Peroxidase (POD)	333.33 µkat/l
NaN ₃	<0.1 %

REACTION MIXTURE

Good's buffer	25 mmol/l
4-aminoantipyrine (4-AA)	0.84 mmol/l
Peroxidase (POD)	82.65 µkat/l
Cholesterol esterase (CHES)	61.96 µkat/l
Cholesterol oxidase (CHOD)	61.96 µkat/l
Catalase	12.39 µkat/l
HDAOS	0.47 mmol/l
NaN ₃	0.025 %

REAGENT PREPARATION

Reagents R1 and R2 are liquid, ready to use.

STABILITY AND STORAGE

If stored at 2–8 °C, reagents are stable until expiry date, that is stated on the package. After first opening, reagents R1 and R2 are stable for 30 days at 2–8 °C in the dark.

SPECIMEN COLLECTION & HANDLING

Use serum or heparin plasma.

It is recommended to follow NCCLS procedures (or similar standardized conditions).

Stability in serum/plasma:	12 hours	at 20–25 °C
	10 days	at 4–8 °C
	12 weeks	at -20 °C

Discard contaminated specimens.

CALIBRATION

For the calibration, it is recommended to use LDL Cholesterol Calibrator, Cat. No. BLT00073.

QUALITY CONTROL

For quality control it is recommended to use Lyonorm LIPID HUM N, Cat. No. BLT00074 and Lyonorm LIPID HUM P, Cat. No. BLT00075.

UNIT CONVERSION

mg/dl x 0.026 = mmol/l

EXPECTED VALUES ²

fS LDL cholesterol (mmol/l)	< 3.4
Medium risk	3.4 – 4.1
High risk	> 4.1

It is recommended that each laboratory verify this range or derives reference interval for the population it serves.

PERFORMANCE DATA

Data contained within this section is representative of performance on ERBA XL systems. Data obtained in your laboratory may differ from these values.

Limit of quantification: 0.09 mmol/l

Linearity: 10 mmol/l

Measuring range: 0.9 – 10 mmol/l

Intra-assay precision Within run (n=20)	Mean (mmol/l)	SD (mmol/l)	CV (%)
Sample 1	2.53	0.023	0.90
Sample 2	3.66	0.031	0.84

Inter-assay precision Run to run (n=20)	Mean (mmol/l)	SD (mmol/l)	CV (%)
Sample 1	2.46	0.026	1.08
Sample 2	3.56	0.045	1.25

COMPARISON

A comparison between LDL CHOLESTEROL DIRECT (y) and a commercially available test (x) using 40 samples gave following results:

y = 1.019 x - 0.068 mmol/l

r = 0.994

INTERFERENCES

Following substances do not interfere:

bilirubin up to 55 mg/dl, triglycerides up to 800 mg/dl, haemoglobin up to 7.5 g/l.

WARNING AND PRECAUTIONS

For *in vitro* diagnostic use. To be handled by entitled and professionally educated person.

Reagents of the kit are not classified as dangerous. R1 contains < 0.0015% reaction mass of: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1). May cause an allergic skin reaction.

FIRST AID

In case of an accidental ingestion, wash up the mouth and drink about 0.5 l of water. On eye contact rinse the eye quickly and thoroughly with the jet of tap of water. Contaminated skin should be washed with warm water and soap. In all serious cases of health damage consult a physician.

WASTE DISPOSAL

All tested samples should be treated as potentially infectious and with an eventual rest of reagents should be disposed in accordance with the internal regulations for dangerous waste, in compliance with local and national regulations relating to the safe handling of dangerous materials.

Paper packing and others should be handed over for recycling or discarded as sorted waste (paper, glass, plastic).

PROCEDURE

Wavelength:	600/700 nm
Cuvette:	1 cm
Temperature:	37 °C

Serum/reaction mixture ratio 1/121

Reagents and sample volume can be modified, by respecting reagents/sample volume ratio.

	Reagent blank	Calibrator	Sample
Reagent R1	0.900 ml	0.900 ml	0.900 ml
Sample	-	-	0.010 ml
Calibrator	-	0.010 ml	-
Distilled water	0.010 ml	-	-

Mix and incubate 5 min. at 37 °C. Measure absorbance A₁ of the sample (A_{sam}), calibrator (A_{cal}) and blank (A_{bl}). Then add:

Reagent R2	0.300 ml	0.300 ml	0.300 ml
------------	----------	----------	----------

Mix and incubate 5 min. at 37 °C. Measure absorbance A₂ of the sample (A_{sam}), calibrator (A_{cal}) and blank (A_{bl}).

Calculate absorbance change ΔA = A₂ - A₁ for sample, calibrator and blank.

CALCULATION

$$\text{LDL Cholesterol (mmol/l)} = \frac{\Delta A_{\text{sam}} - \Delta A_{\text{bl}}}{\Delta A_{\text{cal}} - \Delta A_{\text{bl}}} \times C_{\text{cal}}$$

C_{cal} = calibrator concentration

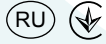
NOTES

- Li-Heparinate plasma values on average are recovered by 3% lower than serum concentrations. For EDTA plasma, cca 9% value decrease against serum is expected.
- For the determination of LDL cholesterol it is recommended to use serum or plasma with blood elements removed within 3 hours after collection.
- If concentration of LDL cholesterol exceeds 10.4 mmol/l, dilute the sample with a saline in ratio 1 + 1 and results multiply with dilution factor.
- Do not use Reagents, which were frozen by mistake.

Applications for automatic analysers will be supplies on request.

ЛПНП Холестерин - прямой

Кат. №	Название на упаковке	Фасовка
BLT00043	ЛПНП ХОЛ прямой 80	R1: 1 x 60 мл, R2: 1 x 20 мл
BLT00042	ЛПНП ХОЛ прямой 240	R1: 3 x 60 мл, R2: 3 x 20 мл



Применение

Набор реагентов предназначен только для *in vitro* диагностики ЛПНП – Холестерина в сыворотке и плазме человека.

Клиническое значение

Липопротеины низкой плотности (ЛПНП) синтезируются в печени под действием ферментов из липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП), синтезированных из триглицеридов. ЛПНП принимают участие в транспорте холестерина к периферийным клеткам. ЛПНП быстро проникают внутрь стенок артерий, там окисляются, это приводит к возникновению хронического воспалительного процесса в эндотелии, приводящего к отложению холестерина и к образованию холестериновых бляшек. По этой причине концентрация ЛПНП - холестерина, является важным клиническим предсказателем коронарных заболеваний, таких как атеросклероз, ИБС, инфаркт миокарда и связанная с ними смертность. Точное измерение ЛПНП - холестерина имеет огромное значение для мониторинга эффективности терапии, направленной на снижение липидов.

Метод

При добавлении Реагента 1 к образцу, протективный реагент избирательно защищает ЛПНП от ферментативного окисления. Ферменты холестеринэстеразы (ХЭ) и холестериноксидазы (ХО) полностью гидролизуют и окисляют холестерин фракций ЛПВП, ЛПОНП и хиломикронных без образования окрашенного продукта. Образующаяся перекись разрушается каталазой. При добавлении Реагента 2 действие протективного реагента прекращается, а каталаза инактивируется азидом натрия (NaN₃). На втором этапе ХЭ и ХО гидролизуют и окисляют только холестерин ЛПНП. Образующаяся перекись водорода при катализе пероксидазой реагирует с HDAOs (N-(2-гидрокси-3-сульфопропил)-3,5-диметоксианилин) и 4-аминоантипирином, образуя синий комплекс.

Реагенты

R1	
Буфер ГУДА, рН 6,8	25 ммоль/л
Холестеринэстераза (ХЭ)	83,3 мккат/л
Холестериноксидаза (ХО)	83,3 мккат/л
HDAOs	0,64 ммоль/л
Каталаза	16,66 мккат/л
R2	
Буфер ГУДА, рН 7,0	25 ммоль/л
4-аминоантипирин (4-АА)	3,4 ммоль/л
Пероксидаза (ПОД)	333,33 мккат/л
Азид натрия	< 0,1 %

Состав реакционной смеси

Буфер ГУДА	25 ммоль/л
4-аминоантипирин	0,84 ммоль/л
Пероксидаза	82,65 мккат/л
Холестеринэстераза	61,96 мккат/л
Холестериноксидаза	61,96 мккат/л
Каталаза	12,39 мккат/л
HDAOs	0,47 ммоль/л
Азид натрия	0,025 %

Приготовление рабочих реагентов

Реагенты R1 и R2 жидкие, готовые к использованию.

Стабильность и хранение реагентов

Реагенты R1 и R2 стабильны до достижения указанного срока годности, если хранятся при 2–8°C. После вскрытия, реагенты стабильны 30 дней, если хранятся при 2–8°C, в тщательно закрытых флаконах, избегая испарения или контаминации реагентов, в защищенном от света месте.

Образцы

Сыворотка или плазма (гепарин).

Исследование проводить в соответствии с протоколом NCCLS (или аналогов).

Стабильность:

12 часов при 20–25°C

10 дней при 4–8°C

3 недели при -20°C

Допускается однократное замораживание.

Калибровка

Для калировки рекомендуется использовать ЛПНП холестерин Калибратор, Кат. № BLT00073.

Контроль качества

Для проведения контроля качества рекомендуется контрольная сыворотка:

Лионорм Липид ГУМ N, Кат. № BLT00074, Лионорм Липид ГУМ P, Кат. № BLT00075.

Коэффициент пересчета

ммоль/л = 0,026 x мг/дл

Нормальные величины²

Сыворотка ЛПНП холестерин (ммоль/л) < 3,4

Клинические показатели риска 3,4 – 4,1

Высокие величины > 4,1

Приведенные диапазоны величин следует рассматривать как ориентировочные. Каждой лаборатории необходимо определять свои диапазоны.

Рабочие характеристики

Нижний предел определения: 0,09 ммоль/л

Линейность: до 10,0 ммоль/л

Диапазон измерений: 0,09 – 10,0 ммоль/л

Воспроизводимость

Внутрисерийная	N	Среднеарифметическое значение (ммоль/л)	SD (ммоль/л)	CV (%)
Образец 1	20	2,53	0,023	0,90
Образец 2	20	3,66	0,031	0,84

Межсерийная	N	Среднеарифметическое значение (ммоль/л)	SD (ммоль/л)	CV (%)
Образец 1	20	2,46	0,026	1,08
Образец 2	20	3,56	0,045	1,25

Сравнение методов

Сравнение было проведено на 40 образцах с использованием реагентов серии БЛТ: ЛПНП холестерин прямой (y) и имеющихся в продаже реагентов с коммерчески доступной методикой (x).

Результаты: $y = 1,019x - 0,068$ ммоль/л $r = 0,994$

Специфичность/Влияющие вещества:

Не влияют на результаты анализа:

Билирубин до 55 мг/дл, триглицериды до 800 мг/дл, гемоглобин до 7,5 г/л.

Меры предосторожности

Набор реагентов предназначен для *in vitro* диагностики профессионально обученным лаборантом.

Реагенты, входящие в набор не содержат опасные вещества. R1 содержит < 0.0015% реакционной смеси: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one и 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1). Может вызывать аллергическую кожную реакцию.

Первая помощь

При приеме внутрь следует прополоскать рот водой, выпить 0,5 л воды и вызвать рвоту. При попадании в глаза быстро промыть их проточной водой. При попадании на кожу необходимо промыть теплой водой с мылом. Во всех серьезных случаях обратиться к врачу.

Утилизация использованных материалов

Все образцы теста должны рассматриваться, как потенциально инфицированные и вместе с остальными реагентами должны быть уничтожены в соответствии с существующими в каждой стране правилами для данного вида материалов. Бумажная упаковка и другое (бумага, стекло, пластик) должны быть рассортированы для выброса с мусором или отправления на переработку.

Анализ

Длина волны: 600/700 nm

Оптический путь: 1 cm

Температура: 37 °C

Объемное соотношение

Сыворотка, плазма / реакционная смесь 1/121

Объемы образца и реагентов могут быть изменены при сохранении соотношения реагент/образец.

	Бланк по реагенту	Калибратор	Образец
Реагент 1	0,900 мл	0,900 мл	0,900 мл
Образец	-	-	0,010 мл
Калибратор	-	0,010 мл	-
Дистил. вода	0,010 мл	-	-
Смешать, инкубировать 5 мин при 37°C. Измерить поглощение A1 (A _{обр}), калибратора (A _{кал}) и бланка (A _{бл}). Добавить:			
Реагент 2	0,300 мл	0,300 мл	0,300 мл

Смешать, инкубировать 5 мин при 37°C. Измерить поглощение A2 (A_{обр}), калибратора (A_{кал}) и бланка (A_{бл}).

Рассчитать изменение поглощения в минуту $\Delta A = A2 - A1$ образца, калибратора и бланка.

Протоколы для использования на автоматических анализаторах могут быть получены по запросу.

Расчеты

Рассчитайте концентрацию ЛПНП холестерина в пробе, используя

$$\text{ЛПНП холестерин (ммоль/л)} = \frac{\Delta A_{\text{обр}} - \Delta A_{\text{бл}}}{\Delta A_{\text{кал}} - \Delta A_{\text{бл}}} \times C_{\text{кал}}$$

C_{кал} = концентрация калибратора

Примечание

- При работе с Li-гепаринизированной плазмой, средние значения полученных результатов на 3% ниже, чем в сыворотке. При работе с ЭДТА плазмой, средние значения могут быть ниже на 9%, чем в сыворотке.
- Для определения ЛПВП холестерина рекомендуется использовать сыворотку или плазму, отделенную от форменных элементов не позднее 3 часов после забора крови.
- При концентрации холестерина ЛПНП выше 10,0 ммоль/л образцы развести физиологическим раствором 1+1. Повторить анализ и полученный результат умножить на фактор разведения (2).
- Не допускать использование реагентов после случайного замораживания.

Протоколы для использования на автоматических анализаторах могут быть получены по запросу.

LDL CHOLESTEROL DIRECT

Kat. č.	Název balení	Obsah balení
BLT00043	LDL C DIRECT 80	R1: 1 x 60 ml, R2: 1 x 20 ml
BLT00042	LDL C DIRECT 240	R1: 3 x 60 ml, R2: 3 x 20 ml



POUŽITÍ

Diagnostická souprava pro kvantitativní *in vitro* enzymatické stanovení LDL cholesterolu v lidském séru a plazmě.

KLINICKÝ VÝZNAM

Cholesterol je složkou buněčných membrán, předchůdce steroidních hormonů, žlučových kyselin syntetizovaných tělními buňkami, absorbovanými jídlem. Cholesterol je transportován v plazmě pomocí lipoproteinů, a to komplexů mezi lipidy a apolipoproteiny. Existují čtyři třídy lipoproteinů: lipoproteiny s vysokou hustotou (HDL), lipoproteiny s nízkou hustotou (LDL), lipoproteiny s velmi nízkou hustotou (VLDL) a chylomikrony.

Zatímco LDL se podílí na transportu cholesterolu k periferním buňkám, HDL zodpovídá za vychytávání cholesterolu z buněk. Zmíněné čtyři různé třídy lipoproteinů projevují odlišný vztah ke koronární ateroskleróze. LDL-cholesterol (LDL-C) přispívá k vytváření aterosklerotického plátu ve vnitřní vrstvě stěn arterií a úzce souvisí s koronárním srdečním onemocněním (CHD), vedoucím k úmrtí. I tehdy, je-li celkový cholesterol v normálním rozmezí, znamená zvýšená koncentrace LDL-C vysoké riziko. HDL-C má ochranný účinek tím, že potlačuje tvorbu plátu a jeví obrácený vztah k výskytu koronárního srdečního onemocnění. Nízké hodnoty HDL-C ve skutečnosti vytvářejí nezávislý rizikový faktor. Stanovení hladiny celkového cholesterolu (TC) u jednotlivce se používá za účelem monitorování stavu, zatímco za účelem lepšího posouzení rizika je nutné změřit navíc HDL-C a LDL-C.

V posledních letech ukázalo několik řízených klinických pokusů, v nichž se u testovaných jedinců použila dieta, změna způsobu života a různé léky (zejména HMG CoA inhibitory redukující [statiny]), že snížení hladin celkového cholesterolu a LDL-C výrazně snižují riziko CHD.

PRINCIP METODY

V prvním stupni „chránič“ činidlo selektivně chrání LDL částice před účinkem enzymů. Enzymatická reakce cholesterolesterasy a cholesteroloxidasy proběhne pouze s cholesterolem v částicích HDL, VLDL a chylomikronech, vzniklý peroxid vodíku je odstraněn katalasou. Ve druhém stupni je efekt „chránič“ činidla zrušen a katalasa inaktivována. Cholesterolesterasa (CHES) a cholesteroloxidasa (CHOD) potom reagují pouze s LDL cholesterolem za tvorby peroxidu vodíku. Peroxid vodíku reaguje s HDAOS [N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyanilin] a 4-aminoantipyrinem v přítomnosti peroxidasy za tvorby modře zbarveného komplexu.

SLOŽENÍ ČINIDEL

R1		
Goodův pufr, pH 6,8	25 mmol/l	
Cholesterolesterasa (CHES)	83,3 µkat/l	
Cholesteroloxidasa (CHOD)	83,3 µkat/l	
HDAOS	0,64 mmol/l	
Katalasa	16,66 µkat/l	
R2		
Goodův pufr, pH 7,0	25 mmol/l	
4-aminoantipyrin (4-AA)	3,4 mmol/l	
Peroxidasa (POD)	333,33 µkat/l	
Na ₃	< 0,1 %	

Složení reakční směsi

Goodův pufr	25 mmol/l
4-aminoantipyrin (4-AA)	0,84 mmol/l
Peroxidasa (POD)	82,65 µkat/l
Cholesterolesterasa (CHES)	61,96 µkat/l
Cholesteroloxidasa (CHOD)	61,96 µkat/l
Katalasa	12,39 µkat/l
HDAOS	0,47 mmol/l
Na ₃	0,025 %

PŘÍPRAVA PRACOVNÍCH ROZTOKŮ

Činidla jsou kapalná, připravená k použití.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA PRACOVNÍCH ROZTOKŮ

Činidla R1 a R2 skladována před otevřením při 2–8°C a chráněna před světlem a kontaminací jsou stabilní do doby expirace vyznačené na obalu. Po prvním otevření lahvičky je stabilita činidel 1 měsíc, pokud jsou skladována při 2–8°C v temnu a chráněna před kontaminací.

VZORKY

Sérum, plazma (heparin, EDTA).
Doporučujeme postupovat dle NCCLS (nebo podobných standardů).
Stabilita LDL cholesterolu v séru, plazmě:
12 hodin při 20–25°C
10 dnů při 4–8°C
3 měsíce při -20°C
Nepoužívejte kontaminované vzorky.

KALIBRACE

Ke kalibraci se doporučuje LDL Cholesterol Kalibrátor, Kat. č. BLT00073.

KONTROLA KVALITY

Ke kontrole se doporučuje Lyonorm LIPID HUM N, kat. č. BLT00074 a Lyonorm LIPID HUM P, kat. č. BLT00075.

PŘEPOČET JEDNOTEK

mg/dl x 0,026 = mmol/l

REFERENČNÍ HODNOTY²

fS LDL cholesterol (mmol/l) < 3,4
Střední riziko 3,4 – 4,1
Vysoké riziko > 4,1

Referenční rozmezí je pouze orientační, doporučuje se, aby si každá laboratoř ověřila rozsah referenčního intervalu pro populaci, pro kterou zajišťuje laboratorní vyšetření.

VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Výkonnostní charakteristiky byly získány na automatických analyzátoch ERBA XL. Data získaná ve vaší laboratoři se mohou od těchto hodnot lišit.

Dolní mez stanovitelnosti: 0,09 mmol/l
Linearita: 10 mmol/l
Pracovní rozsah: 0,9 – 10 mmol/l

PŘESNOST

Intra-assay (n=20)	Průměr (mmol/l)	SD (mmol/l)	CV (%)
Vzorek 1	2,53	0,023	0,90
Vzorek 2	3,66	0,031	0,84

Inter-assay (n=20)	Průměr (mmol/l)	SD (mmol/l)	CV (%)
Vzorek 1	2,46	0,026	1,08
Vzorek 2	3,56	0,045	1,25

SROVNÁNÍ S KOMERČNĚ DOSTUPNOU METODOU

Lineární regrese:
N = 40 r = 0,994 y = 1,019 x - 0,068 mmol/l

INTERFERENCE

Následující analyty neinterferují:
hemoglobin do 7,5 g/l, bilirubin do 55 mg/dl, triglyceridy do 800 mg/dl.

BEZPEČNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Určeno pro *in vitro* diagnostické použití oprávněnou odborně způsobilou osobou.
Činidla soupravy nejsou klasifikována jako nebezpečná. R1 obsahuje < 0,0015% reakční směsi: 5-chlor-2-methylisothiazol-3(2H)-on a 2-methylisothiazol-3(2H)-on (3:1). Může vyvolat alergickou kožní reakci.

PRVNÍ POMOC

Při náhodném požití vypláchnout ústa a vypít asi 0,5 l vody, při vniknutí do oka provést rychlý a důkladný výplach proudem čisté vody. Při potřísnění omýt pokožku teplou vodou a mýdlem. Ve vážných případech poškození zdraví vyhledat lékařskou pomoc.

NAKLÁDÁNÍ S ODPADY

Na všechny zpracované vzorky je nutno pohlížet jako na potenciálně infekční a spolu s případnými zbytky činidel je likvidovat podle vlastních interních předpisů jako nebezpečný odpad v souladu se Zákonem o odpadech. Papírové a ostatní obaly se likvidují podle druhu materiálu jako tříděný odpad (papír, sklo, plasty).

POSTUP MĚŘENÍ

Vinová délka: 600/700 nm
Kyveta: 1 cm

Teplota:

37 °C

Objemový poměr sérum/reakční směs 1/121

Objem pracovních roztoků a vzorků lze měnit, pro garanci analytických parametrů však jejich vzájemný poměr musí být zachován.

	Reagenční blank	Kalibrátor	Vzorek
Činidlo 1	0,900 ml	0,900 ml	0,900 ml
Vzorek kalibrátor	-	-	0,010 ml
Destilovaná voda	0,010 ml	-	-
Promíchat a inkubovat 5 min. při 37 °C. Změřit absorbanci A ₁ vzorku (A _{vz}), kalibrátoru (A _{kal}) a blanku (A _{bl}). Pak přidat:			
Činidlo 2	0,300 ml	0,300 ml	0,300 ml

Promíchat a inkubovat 5 min. 37 °C. Změřit absorbanci A₂ vzorku (A_{vz}), kalibrátoru (A_{kal}) a blanku (A_{bl}).

Pro vzorek, kalibrátor a blank se vypočítá se změna absorbance $\Delta A = A_2 - A_1$.

VÝPOČET

$$\text{LDL Cholesterol (mmol/l)} = \frac{\Delta A_{vz} - \Delta A_{bl}}{\Delta A_{kal} - \Delta A_{bl}} \times C_{kal}$$

C_{kal} = koncentrace LDL cholesterolu v kalibrátoru

POZNÁMKA

- Hodnoty LDL cholesterolu z Li-heparinové plasmy bývají průměrně o 3% nižší než ze séra. U EDTA plasmy očekávejte pokles hodnot až o 9% oproti séru.
- Pro stanovení LDL cholesterolu se doporučuje sérum nebo EDTA plasma, oddělení krevních elementů do 3 hodin po odběru.
- Pokud je koncentrační hladina LDL cholesterolu vyšší, než 10,4 mmol/l, vzorek zředíme v poměru 1 + 1 fyziologickým roztokem a násobíme faktorem ředění.
- Nepoužívejte činidla, která byla nedopatřením zamrzena.

Aplikace na automatické analyzátoř jsou dodávány na vyžádání.

LDL CHOLESTEROL DIRECT

Kat. č.	Názov balenia	Obsah balenia
BLT00043	LDL C DIRECT 80	R1: 1 x 60 ml, R2: 1 x 20 ml
BLT00042	LDL C DIRECT 240	R1: 3 x 60 ml, R2: 3 x 20 ml

SK



POUŽITIE

Diagnostická súprava na kvantitatívne *in vitro* enzymatické stanovenie LDL cholesterolu v ľudskom sére a plazme.

KLINICKÝ VÝZNAM

Cholesterol je zložkou bunkových membrán, predchodca steroidných hormónov, žlčových kyselín syntetizovaných telovými bunkami, absorbovanými jedlom. Cholesterol je transportovaný v plazme pomocou lipoproteínov, a to komplexami medzi lipidmi a apolipoproteínmi. Existujú štyri triedy lipoproteínov: lipoproteíny s vysokou hustotou (HDL), lipoproteíny s nízkou hustotou (LDL), lipoproteíny s veľmi nízkou hustotou (VLDL) a chylomikróny. Kým LDL sa podieľa na transporte cholesterolu k periférnym bunkám, HDL zodpovedá za vychytávanie cholesterolu z buniek. Zmienené štyri rôzne triedy lipoproteínov prejavujú odlišný vzťah ku koronárnej ateroskleróze. LDL-cholesterol (LDL-C) prispieva k vytváraniu aterosklerotického plátu vo vnútornej vrstve stien artérií a úzko súvisí s koronárnym srdcovým ochorením (CHD), vedúcim k úmrtiu. Aj vtedy, ak je celkový cholesterol v normálnom rozmedzí, znamená zvýšená koncentrácia LDL-C vysoké riziko. HDL-C má ochranný účinok tým, že potlačuje tvorbu plátu a prejavuje obrátený vzťah k výskytu koronárneho srdcového ochorenia. Nízke hodnoty HDL-C v skutočnosti vytvárajú nezávislý rizikový faktor. Stanovenie hladiny celkového cholesterolu (TC) u jednotlivca sa používa za účelom monitorovania stavu, zatiaľ čo za účelom lepšieho posúdenia rizika je nutné zmerať navyše HDL-C a LDL-C. V posledných rokoch ukázalo niekoľko riadených klinických pokusov, v ktorých sa u testovaných jedincov použili diéta, zmena spôsobu života a rôzne lieky (hlavne HMG CoA inhibítory redukujú [statíny]), že sníženie hladín celkového cholesterolu a LDL-C výrazne znižujú riziko CHD.

PRINCÍP METÓDY

V prvom stupni „chrániace“ činidlo selektívne chráni LDL častice pred účinkom enzýmov. Enzymatická reakcia cholesterolesterázy a cholesteroxidázy prebehne iba s cholesterolom v časticiach HDL, VLDL a chylomikrónoch, vzniknutý peroxid vodíka je odstránený katalázou. V druhom stupni je efekt „chrániaceho“ činidla zrušený a kataláza inaktivovaná. Cholesterolesteráza (CHES) a cholesteroxidáza (CHOD) potom reagujú iba s LDL cholesterolom za tvorby peroxidu vodíka. Peroxid vodíka reaguje s HDAOS [N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyanilín] a 4-aminoantipyrínom v prítomnosti peroxidázy za tvorby modro sfarbeného komplexu.

ZLOŽENIE ČINIDIEL

R1	
Goodov pufer, pH 6,8	25 mmol/l
Cholesterolesteráza (CHES)	83,3 µkat/l
Cholesteroxidáza (CHOD)	83,3 µkat/l
HDAOS	0,64 mmol/l
Kataláza	16,66 µkat/l

R2	
Goodov pufer, pH 7,0	25 mmol/l
4-aminoantipyrín (4-AA)	3,4 mmol/l
Peroxidáza (POD)	333,33 µkat/l
Na ₂ S ₂ O ₃	< 0,1 %

Zloženie reakčnej zmesi

Goodov pufer	25 mmol/l
4-aminoantipyrín (4-AA)	0,84 mmol/l
Peroxidáza (POD)	82,65 µkat/l
Cholesterolesteráza (CHES)	61,96 µkat/l
Cholesteroxidáza (CHOD)	61,96 µkat/l
Kataláza	12,39 µkat/l
HDAOS	0,47 mmol/l
Na ₂ S ₂ O ₃	0,025 %

PRÍPRAVA PRACOVNÝCH ROZTOKOV

Činidlá sú kvapalné, pripravené na použitie.

SKLADOVANIE A STABILITA PRACOVNÝCH ROZTOKOV

Činidlá R1 a R2 skladované pred otvorením pri 2–8°C a chránené pred svetlom a kontamináciou sú stabilné do doby expirácie vyznačenej na obale. Po prvom otvorení fľaštičky je stabilita činidla 1 mesiac, ak sú skladované pri 2–8°C v tme a chránené pred kontamináciou. Neotvorené, skladované pri 2–25°C a chránené pred svetlom a kontamináciou sú činidlá súpravy stabilné do doby expirácie vyznačenej na obale.

VZORKY

Sérum, plazma (heparín, EDTA), moč.
Doporučujeme postupovať podľa NCCLS (alebo podobných štandardov).
Stabilita HDL cholesterolu v sére, plazme:
12 hodín pri 20–25°C
10 dní pri 4–8°C
3 mesiace pri -20°C
Nepoužívajte kontaminované vzorky.

KALIBRÁCIA

Na kalibráciu se doporučuje LDL Cholesterol Kalibrátor, Kat. č. BLT00073.

KONTROLA KVALITY

Na kontrolu sa doporučuje Lyonorm LIPID HUM N, kat. č. BLT00074 a Lyonorm LIPID HUM P, kat. č. BLT00075.

PŘEPOČET JEDNOTIEK

mg/dl x 0,026 = mmol/l

REFERENČNÉ HODNOTY²

fS LDL cholesterol (mmol/l) < 3,4
Stredné riziko 3,4 – 4,1
Vysoké riziko > 4,1

Referenčné rozmedzie je iba orientačné, odporúča sa, aby si každé laboratórium overilo rozsah referenčného intervalu pre populáciu, pre ktorú zaisťuje laboratórne vyšetrenie.

VÝKONNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY

Výkonnostné charakteristiky boli získané na automatických analyzátoroch ERBA XL. Údaje získané vo vašom laboratóriu sa môžu od týchto hodnôt líšiť.

Dolná medza stanovitelnosti: 0,09 mmol/l
Lineárta: 10 mmol/l
Pracovný rozsah: 0,9 – 10 mmol/l

PRESNOSŤ

Intra-assay (n=20)	Priemer (mmol/l)	SD (mmol/l)	CV (%)
Vzorka 1	2,53	0,023	0,90
Vzorka 2	3,66	0,031	0,84

Inter-assay (n=20)	Priemer (mmol/l)	SD (mmol/l)	CV (%)
Vzorka 1	2,46	0,026	1,08
Vzorka 2	3,56	0,045	1,25

POROVNIANIE S KOMERČNE DOSTUPNOU METÓDOU

Lineárna regresia:
N = 40 r = 0,994 y = 1,019 x - 0,068 mmol/l

INTERFERENCIE

Následujúce analyty neinterferujú:
hemoglobín do 7,5 g/l, bilirubín do 55 mg/dl, triglyceridy do 800 mg/dl.

BEZPEČNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY

Určené na *in vitro* diagnostické použitie oprávnenou a profesionálne vyškolenou osobou. Činidlá súpravy nie sú klasifikované ako nebezpečné. R1 obsahuje < 0,0015 % reakčné zmesi: 5-chlór-2-metyl-4-izotiazolín-3-ón a 2-metyl-2H-izotiazol-3-ón (3:1). Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu.

PRVÁ POMOC

Pri náhodnom požití vypláchnuť ústa a vypiť asi 0,5 l vody, pri vniknutí do oka vykonať rýchly a dôkladný výplach prúdom čistej vody. Pri postriekaní umyť pokožku teplou vodou a mydlom. Vo vážnych prípadoch poškodenia zdravia vyhľadať lekársku pomoc.

NAKLADANIE S ODPADMI

Všetky spracované vzorky je nutné považovať ako potenciálne infekčné a spolu s prípadnými zvyškami činidla ich likvidovať podľa vlastných interných predpisov ako nebezpečný odpad v súlade so Zákonom o odpadoch. Papierové a ostatné obaly sa likvidujú podľa druhu materiálu ako triedený odpad (papier, sklo,

plasty).

POSTUP MERANIA

Vlnová dĺžka: 600/700 nm
Kyveta: 1 cm
Teplota: 37 °C

Objemový pomer sérum/reakčná zmes 1/121

Objem pracovných roztokov a vzoriek je možné meniť, pre garanciu analytických parametrov však ich vzájomný pomer musí byť zachovaný.

	Reagenčný blank	Kalibrátor	Vzorka
Činidlo 1	0,900 ml	0,900 ml	0,900 ml
Vzorka	-	-	0,010 ml
Kalibrátor	-	0,010 ml	-
Destilovaná voda	0,010 ml	-	-
Premiešať a inkubovať 5 min. pri 37 °C. Zmerať absorbanciu A1 vzorky (A _{vz}), kalibrátora (A _{kal}) a blanku (A _{bl}). Potom pridať:			
Činidlo 2	0,300 ml	0,300 ml	0,300 ml

Premiešať a inkubovať 5 min. 37 °C. Zmerať absorbanciu A2 vzorky (A_{vz}), kalibrátora (A_{kal}) a blanku (A_{bl}).

Pre vzorku, kalibrátor a blank sa vypočíta zmena absorbancie ΔA = A2 – A1.

VÝPOČET

$$\text{LDL Cholesterol (mmol/l)} = \frac{\Delta A_{vz} - \Delta A_{bl}}{\Delta A_{kal} - \Delta A_{bl}} \times C_{kal}$$

C_{kal} = koncentrácia LDL cholesterolu v kalibrátore

POZNÁMKA

- Hodnoty LDL cholesterolu z Li-heparinovej plazmy bývajú priemerne o 3 % nižšie ako zo séra. Pri EDTA plazme očakávajte pokles hodnôt až o 9 % oproti séru.
- Na stanovenie LDL cholesterolu sa odporúča sérum alebo EDTA plazma, oddelenie krvných elementov do 3 hodín po odbere.
- Pokiaľ je koncentračná hladina LDL cholesterolu vyššia ako 10,4 mmol/l, vzorku zriedime v pomere 1 + 1 fyziologickým roztokom a násobíme faktorom riedenia.
- Nepoužívajte činidlá, ktoré boli nedopatrením zamrazené.


Aplikácie na automatické analyzátory sú dodávané na vyžiadanie.


REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА / LITERATURA / LITERATÚRA

1. Rifai, N. and Warnick, G. R., and Dominiczak, M. H. Ed.: Hand book of Lipoprotein Testing, AACC Press, Washington, DC, USA, 1997.
2. Burtis, C. A. and Ashwood, E. R., Ed.: Tietz Textbook of Clinical Chemistry 2nd Ed. Saunders, Philadelphia, 1994.
3. Friewald, W. T., Levy, R. I. and Frederickson, D. S.: Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of ultracentrifuge. Clin. Chem. 18, p. 449–502, 1972.
4. The Expert Panel. Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Arch. Intern. Med., 148, p. 36–69, 1988.
5. The Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Summary of the Second Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel II). JAMA, 269, p. 3015–3023, 1993.


SYMBOLS USED ON LABELS / СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ / SYMBOLY, POUŽITÉ NA ETIKETÁCH


REF Catalogue Number
Каталожный №
Katalogové číslo
Katalógové číslo


 Manufacturer
Производитель
Výrobce
Výrobca

 See Instruction for Use
Перед использованием
внимательно изучайте инструкцию
Čtěte návod k použití
Čítajte návod k použitiu

LOT Lot Number
Номер партии
Číslo šarže

 CE Mark - Device comply with
the Directive 98/79/EC
Знак CE – соответствие
Директиве 98/79/EC

 Storage Temperature
Температура хранения
Teplota skladování
Teplota skladovania

 Expiry Date
Срок годности
Datum expirace
Dátum expirácie

IVD In Vitro Diagnostics
Для in vitro диагностики
In vitro Diagnostikum

CONT Content / Содержание / Obsah

QUALITY SYSTEM CERTIFIED
ISO 9001 ISO 13485



Erba Lachema s.r.o., Karásek 1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbalachema.com, www.erbamannheim.com

N/106/15/B/INT Date of revision: 8. 10. 2015