

HDL STRĄCAJĄCY

Odczynnik do separacji frakcji HDL cholesterolu metodą strąceniową

Tylko do diagnostyki in vitro

4 x 50 ml



Nr kat. 5024.1

ZASTOSOWANIE

Odczynnik służy do oddzielenia frakcji HDL od pozostałych obecnych w surowicy frakcji cholesterolu (chylomikrony, LDL, VLDL). Do oznaczenia stężenia cholesterolu HDL należy użyć dodatkowo odczynnika do oznaczania stężenia cholesterolu całkowitego w surowicy lub osoczu krwi.

ZASADA METODY

Kwas fosforowolframowy i chlorek magnezu zawarte w odczynniku wytrącają chylomikrony oraz frakcje LDL i VLDL cholesterolu. Po odwirowaniu wytrąconych frakcji w supernatancie pozostaje cholesterol HDL, który jest oznaczany metodą enzymatyczną przy użyciu odczynnika do oznaczania stężenia cholesterolu całkowitego.

MATERIAŁ DO BADAŃ

Surowica lub osocze pobrane na heparynę lub EDTA zgodnie ze standardowymi procedurami.

Nie stosować materiału zhemolizowanego.

Próbki można przechowywać do 3 dni w temp. 2-8°C.

WARTOŚCI PRAWDIŁOWE

35 - 60 mg/dl (0,91 - 1,56 mmol/l)

powyżej 60 mg/dl (1,56 mmol/l) – pożądane

poniżej 35 mg/dl (0,91 mmol/l) – wysokie ryzyko

Podane zakresy zostały ustalone przez US National Cholesterol Education Program i należy je traktować jako orientacyjne. Zaleca się, aby każde laboratorium określiło własne zakresy wartości prawidłowych.

SKŁAD ODCZYNNIKA

Kwas fosforowolframowy

1,0 mmol/l

Chlorek magnezu

50 mmol/l

Benzoesan sodu

6,94 mmol/l

PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKA

Odczynnik jest gotowy do użytku.

PRZECHOWYWANIE ODCZYNNIKA

Przechowywać w temp. 2-25°C w oryginalnych, zamkniętych opakowaniach. Chronić przed kontaminacją i bezpośrednim działaniem światła. Nie zamrażać.

Po otwarciu odczynnik prawidłowo przechowywany i chroniony przed zanieczyszczeniem jest stabilny do daty ważności podanej na opakowaniu.

PARAMETRY UŻYTKOWE

Limit detekcji: 0,3 mg/dl (0,01 mmol/l)

Czułość: 2,76 mA x dl / mg (106 mA x l / mmol)

Liniowość: 120 mg/dl (3,12 mmol/l). Dla wyższych stężeń próbkę należy rozcieńczyć 7 % roztworem albuminy w stosunku 1+1; wynik oznaczenia pomnożyć przez 2.

Powtarzalność (w serii oznaczeń):

poziom	I	II
n	18	18
średnia (mg/dl)	28,49	90,93
średnia (mmol/l)	0,74	2,36
% CV	< 2,00 %	< 2,00 %

Odtwarzalność (między seriami oznaczeń):

poziom	I	II
n	18	18
średnia (mg/dl)	29,26	91,50
średnia (mmol/l)	0,76	2,38
% CV	< 3,50 %	< 3,00 %

Korelacja:

Badania korelacji wyników z wynikami uzyskanymi za pomocą odczynników referencyjnych nie wykazały znaczących różnic. Dokładne wyniki badań są dostępne na życzenie.

Interferencje:

Bilirubina do 10 mg/dl, kwas askorbinowy do 5 mg/dl, lipemia do 1000 mg/dl (triglicerydy) nie wpływają na wyniki oznaczeń.

Inne substancje i leki mogą interferować.

KONTROLA POPRAWNOŚCI DZIAŁANIA

Do kontroli jakości oznaczeń stosować surowice kontrolne z wartościami cholesterolu HDL zmierzonymi dla metody strąceniowej z chlorkiem magnezu i kwasem fosforowolframowym.

DODATKOWE MATERIAŁY I WYPOSAŻENIE

- Wirówka laboratoryjna umożliwiająca wirowanie próbek z przyspieszeniem $\geq 4000 \times g$
- Odczynnik do oznaczania stężenia cholesterolu całkowitego
- Wzorec cholesterolu o stężeniu ok. 50 mg/dl
- Fotometr lub analizator automatyczny umożliwiający pomiar absorbancji przy długości odpowiedniej dla odczynnika stosowanego do oznaczania stężenia cholesterolu w supernatancie.
- Standardowe wyposażenie laboratorium diagnostycznego.

WYKONANIE OZNACZENIA

a) separacja frakcji HDL

Do próbek wirówkowych napipetować:

Próbka: 500 μ l

Odczynnik: 500 μ l

Dokładnie wymieszać, pozostawić w temp. pokojowej na 10 - 20 min.

Następnie odwirować przy $\geq 4000 \times g$ przez 10 minut, ostrożnie zebrać supernatant i wykonać oznaczenie stężenia cholesterolu w supernatancie.

W podobny sposób przygotować wzorec cholesterolu (wirowanie wzorca można pominąć).

b) oznaczanie cholesterolu HDL w supernatancie

Do próbek reakcyjnych napipetować:

	Próba odczynnikowa (PO)	Wzorec / próbka (PW / PB)
Odczynnik	1000 μ l	1000 μ l

Doprowadzić do temperatury oznaczania, następnie dodać:

Wzorec/próbka	---	50 μ l
Woda dest.	50 μ l	---

Wymieszać, inkubować 5 min. w temp. 37°C lub 10 min. w temp. 25°C. Odczytać absorbancję próby wzorcowej i próby badanej wobec próby odczynnikowej przy dł. fali 490 - 550 nm. Zabarwienie jest stabilne przez przynajmniej 30 minut.

OBLICZENIA

$$\text{Stężenie cholesterolu HDL} = \frac{A(\text{PB})}{A(\text{PW})} \times \text{stęż. wzorca}$$

INFORMACJE DODATKOWE

1. Objętości odczynnika i próbki stosowane przy separacji frakcji HDL można proporcjonalnie zmieniać.
2. Jeżeli supernatant po odwirowaniu nie jest klarowny, próbkę należy rozcieńczyć 7 % roztworem albuminy w stosunku 1 + 1 i powtórzyć oznaczenie; wynik oznaczenia pomnożyć przez 2.
3. Odpady utylizować zgodnie z obowiązującymi przepisami – przez termiczne przekształcanie lub odpowiednimi metodami obróbki fizyczno-chemicznej.
4. Aplikacje do analizatorów automatycznych do oznaczania stężenia cholesterolu HDL w supernatancie dostarczamy na życzenie.
5. Wzorzec cholesterolu należy nabywać osobno.

REFERENCJE

1. Burstein M., Scholnick H. R., Morfin R.: Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *Journal of Lipid Research*, 11, 583-595 (1970).
2. Lopes-Virella M. F., Stone P., Ellis S., Colwell J. A.: Cholesterol determination in high-density lipoproteins separated by three different methods. *Clin. Chem.*, 23/5, 882-884 (1977).
3. Warnick G. R., Nguyen T., Albers A. A.: Comparison of improved precipitation methods for quantification of high-density lipoprotein cholesterol. *Clin. Chem.*, 31/2, 217-222 (1985).
4. Okazaki M., Sasamoto K., Muramatsu T., Hosaki S.: Evaluation of precipitation and direct methods for HDL-cholesterol assay by HPLC. *Clin. Chem.*, 43/10, 1885-1890 (1997).
5. Arranz-Pena M.-L., Tasende-Mata J., Martin-Gil F. J.: Comparison of two homogenous assays with a precipitation method and an ultracentrifugation method for the measurement of HDL-cholesterol. *Clin. Chem.*, 44/12, 2499-2505 (1998).
6. Young D. S.: Effects of drugs on clinical laboratory tests, AACC Press, 4th ed. (1995).
7. National Cholesterol Education Program Expert Panel. Third report of the National Cholesterol Educational Program (NCEP). Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults. NIH Publication No 01-3290 (2001).