

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η περιεχόμενη χοληστερόλη (CH) στο κλάσμα των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (LDL-CH) αποτελεί τον πλέον αξιόπιστο παράγοντα εκτίμησης του κινδύνου καρδιακών παθήσεων.

Συνήθως η LDL-CH προσδιορίζεται υπολογιστικά από το σύνολο της CH, της HDL-CH και των τριγλυκεριδίων χρησιμοποιώντας τον τύπο του Friedewald. Ο τύπος όμως του Friedewald προϋποθέτει αναλογία μεταξύ της CH των VLDL και των τριγλυκεριδίων. Όμως ο παράγων αυτός δεν ισχύει εάν η συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων είναι μεγαλύτερη των φυσιολογικών ορίων. Επιπλέον ακόμη και με πολύ μικρές ποσότητες χυλομικρών ή ανωμάλων λιποπρωτεϊνών τα λαμβανόμενα αποτελέσματα είναι χαμηλότερα των πραγματικών

Ο άμεσος προσδιορισμός της LDL-CH ακολουθεί δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο η χοληστερόλη που περιέχεται στις HDL, τις VLDL και στα χυλομικρά διασπάται από το σύστημα των ενζύμων χοληστερόλυ εστεράση (CE) και χοληστερόλυ οξειδάση (CO) και το παραγόμενο H₂O₂ καταστρέφεται. Αντίθετα το κλάσμα των LDL προστατεύεται από ειδικούς διαβρέκτες και δεν είναι προσβάσιμο από τα ένζυμα. Σε δεύτερο στάδιο αποδεσμεύεται η χοληστερόλη των LDL, υφίσταται την επίδραση του ενζυμικού συστήματος CE/CO και το παραγόμενο H₂O₂ παρουσία υπεροξειδάσης (POD) αντιδρά με χρωστική προς έγχρωμο προϊόν. Η αύξηση της απορρόφησης στα 510 nm είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της χοληστερόλης στο κλάσμα των LDL στο δείγμα.

CH-Εστέρες + H₂O \xrightarrow{CE} **CH + Λιπαρά οξέα**

CH_{ολική} + O₂ \xrightarrow{CO} **Προϊόν + H₂O₂**

2H₂O₂ + Αμινοφαιναζόνη \xrightarrow{POD} **έγχρωμο προϊόν**
+ **Φαινολικό παράγωγο** + **4H₂O**

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ

Ανδρες : 49-172 mg/dl
Γυναίκες : 63-167 mg/dl

Επίπεδα σε σχέση με επικινδυνότητα :

Επιθυμητά επίπεδα : <130 mg/dl
Αυξημένος κίνδυνος : 130-159 mg/dl
Μεγάλος κίνδυνος : >160 mg/dl

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Αντιδραστήριο R₁
Αντιδραστήριο R₂
Calibrator R₄

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Τα αντιδραστήρια χρησιμοποιούνται ως έχουν. Η ανασύσταση του Calibrator γίνεται με την ποσότητα του νερού που αναγράφεται στο φιαλίδιο.

ΤΕΛΙΚΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ

Ρυθμιστικό διάλυμα Goods 100 mM, CE 0,6 U/ml, CO 0,38 U/ml, POD 1U/ml, catalase 0,2 U/ml, NaN₃ < 0,001%, αμινοφαιναζόνη 1mM, N- (2-υδρόξυ-3-σουλφοπροπύλ) -3,5 - διμεθόξυανιλίνη (χρωμογόνο) 0,45mM.

ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Αναγράφεται στο set, σε θερμοκρασία 2-10°C. Επί του αναλυτού (έως 12 C) τα αντιδραστήρια R₁ και R₂ είναι σταθερά για ένα μήνα.

Το Calibrator μετά την ανασύσταση του διατηρείται 10 ημέρες σε θερμοκρασία 2-10 C χωρίς να καταψυχθεί, ή διαχωρίζεται σε μικρά δείγματα τα οποία διατηρούνται στους -20 C μέχρι την χρήση τους.

ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΜΕΝΟ ΔΕΙΓΜΑ

Ορός ή πλάσμα (να μην χρησιμοποιηθεί αντιπηκτικό EDTA) Σταθερότητα LDL στο δείγμα, 7 ημέρες στους 2-10 C.

ΓΡΑΜΜΙΚΟΤΗΤΑ

Μέχρι 1000 mg/dl ανάλογα με τον τύπο του αναλυτή

CALIBRATOR

Calibrator biosis (παρέχεται με το kit).

Η ανασύσταση του Calibrator γίνεται με την ποσότητα του νερού που αναγράφεται στο φιαλίδιο. Μετά την ανασύσταση το calibrator διαχωρίζεται σε μικρά δείγματα τα οποία διατηρούνται στους -20°C μέχρι την χρήση τους.

ΟΡΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ (Δεν παρέχονται με το kit)

Bionorm, Biopath

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Freideward et. al. Clin Chem 1972,18: 499-502
- Rifai et. al. Clin Chem 1992, 38: 150-160
- Tiez, NW, 3rd ed. WB Saunders Co 1995: 404-407.

ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ

R₁ : 2x30ml R₂ : 1x20ml Calibrator
R₁ : 2x15ml R₂ : 1x10ml Calibrator

ΤΕΧΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Γραμμικότητα (Linearity): Η Αντίδραση είναι γραμμική στην περιοχή συγκεντρώσεων από 1-1000 mg/dl

Αναλυτική ευαισθησία - όριο ανίχνευσης (Sensitivity):

Το όριο ευαισθησίας του προσδιορισμού υπολογίστηκε ότι αντιστοιχεί με 1 mg/dl

Πιστότητα (Precision):

Επαναληψιμότητα (Repeatability):

A. Δεδομένα εντός του αυτού κύκλου ανάλυσης:

Αριθμός δειγμάτων	Μέση Τιμή	SD mg/dl	CV %
13	95,3	1,84	1,9
13	99,6	2,39	2,39
13	144,9	2,75	1,9

Αναπαραγωγιμότητα (Reproducibility):

B. Δεδομένα διαφόρων κύκλων και ημερών ανάλυσης:

Αριθμός δειγμάτων	Μέση Τιμή	SD mg/dl	CV %
13	86,9	5,25	6,04
13	111,2	4,0	3,6
13	130	4,99	3,8

Παρεμποδισεις - αλληλεπιδράσεις (Interference):

Δεν παρουσιάζουν σημαντική αναστολή μέχρι τα αναφερόμενα όρια

Παρεμποδιστής	Έκφραση σε	Όρια mg/dl
Αιμόλυση	Αιμοσφαιρίνη	~1500
Θολερότητα	Τριγλυκερίδια	~1200
Ίκτερος	Χολερυθρίνη	~40

Ανάλυση παλινδρόμησης (Regression Analysis):

Μέθοδος: Γραμμική παλινδρόμηση (Linear Regression)

Αριθμός Δειγμάτων : 92

Σχέση : $y = 4,6 + 0,940 x$

Όπου y η παρούσα μέθοδος και x παρεμφερής μέθοδος προσδιορισμού.

Συντελεστής συσχέτισης $r=0,998$