

HDL-C Immuno FS*

Reagenz für die quantitative In-vitro-Bestimmung von HDL-Cholesterin in Serum oder Plasma an photometrischen Systemen

Bestellinformation

Bestell-Nr.	Packungsgröße	
1 3521 99 10 021	R1 5 x 20 mL + R2 1 x	25 mL
1 3521 99 10 026	R1 5 x 80 mL + R2 1 x	100 mL
1 3521 99 10 023	R1 1 x 800 mL + R2 1 x	200 mL
1 3521 99 10 704	R1 8 x 50 mL + R2 8 x	12,5 mL
1 3521 99 10 917	R1 8 x 60 mL + R2 8 x	15 mL
1 3521 99 10 930	R1 4 x 20 mL + R2 2 x	10 mL

Zusammenfassung [1,2]

Cholesterin ist ein Bestandteil von Zellmembranen und eine Vorstufe für Steroidhormone und Gallensäuren, der von Körperzellen synthetisiert und mit der Nahrung aufgenommen wird. Cholesterin wird im Plasma über Lipoproteine, Komplexe aus Lipiden und Apolipoproteinen, transportiert. Es gibt vier Klassen von Lipoproteinen: Lipoproteine hoher Dichte (high density lipoproteins: HDL), Lipoproteine niedriger Dichte (low density lipoproteins: LDL), Lipoproteine sehr geringer Dichte (very low density lipoproteins: VLDL) und Chylomikronen. Während LDL zum Cholesterintransport zu den peripheren Zellen beiträgt, ist HDL für den Abtransport von Cholesterin aus den Zellen zuständig. Die vier Lipoproteinklassen zeigen unterschiedliche Beziehungen mit koronarer Atherosklerose auf: LDL Cholesterin trägt zur Bildung arteriosklerotischer Plaques in der Arterienintima bei und korreliert stark mit koronarer Herzkrankheit (KHK) und der damit zusammenhängenden Mortalität. Auch bei Gesamtcholesterinwerten innerhalb der Referenzbereiche weisen erhöhte LDL-Cholesterin-Konzentrationen auf ein erhöhtes Risiko hin. HDL-Cholesterin hat einen schützenden Effekt, da es die Plaquebildung erschwert; es zeigt einen indirekten Zusammenhang zur Prävalenz der koronaren Herzkrankheit. Daher stellen niedrige HDL-Cholesterinwerte einen unabhängigen Risikofaktor dar. Die Bestimmung des Gesamtcholesterins wird für Screening-Zwecke genutzt, während für eine bessere Risikoabschätzung die zusätzliche Bestimmung von HDL- und LDL-Cholesterin notwendig ist. In den letzten Jahren zeigten mehrere klinische Studien, die Diät, Änderung von Lebensgewohnheiten und/oder verschiedene Medikamente (insbesondere HMG CoA Reduktaseinhibitoren [Statine]) benutzten, dass die Senkung von Gesamtcholesterin und LDL-Cholesterin das Risiko für koronare Herzkrankheit drastisch reduziert.

Methode

Die Bestimmung von HDL-Cholesterin wurde früher mit zeitaufwendigen Präzipitationsmethoden durchgeführt [3]. HDL-C Immuno FS ist eine homogene Methode zur Bestimmung von HDL-Cholesterin ohne Zentrifugationsschritte. Antikörper gegen menschliche Lipoproteine werden zur Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen mit LDL, VLDL und Chylomikronen verwendet, so dass nur HDL-Cholesterin durch eine enzymatische Cholesterinmessung selektiv bestimmt wird [4].

Prinzip

LDL, VLDL, Chylomikronen $\xrightarrow{\text{Anti-human } \beta\text{-Lipoprotein-Antikörper}}$
Antigen-Antikörper-Komplexe + HDL

HDL-Cholesterin + H₂O + O₂ $\xrightarrow{\text{CHE \& CHO}}$
Cholest-4-en-3-on + Fettsäure + H₂O₂

H₂O₂ + F-DAOS + 4-Aminoantipyrin $\xrightarrow{\text{POD}}$ Blauer Komplex + H₂O

Reagenzien

Bestandteile und Konzentrationen

R1:	Goods Puffer	pH 7,0	25 mmol/L
	4-Aminoantipyrin		0,75 mmol/L
	Peroxidase (POD)		2000 U/L
	Ascorbatoxidase		2250 U/L
Anti-human β -Lipoprotein-Antikörper (Schaf)			
R2:	Goods Puffer	pH 7,0	30 mmol/L
	Cholesterinesterase (CHE)		4000 U/L
	Cholesterinoxidase (CHO)		20000 U/L
	N-Ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxy-4-fluoroanilin, Natriumsalz (F-DAOS)		0,8 mmol/L

Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

Die Reagenzien sind bei 2–8 °C bis zum Ende des auf der Packung angegebenen Verfallsmonats verwendbar, wenn nach dem Öffnen der Flaschen Kontaminationen vermieden werden. Reagenzien lichtgeschützt aufbewahren und nicht einfrieren!

Hinweis: Es sollte erwähnt werden, dass gelegentlich auftretende Verfärbungen die Messung nicht beeinflussen, solange die Extinktion der vorgemischten Reagenzien (4 Teile R1 + 1 Teil R2) bei 600 – 700 nm unter 0,03 liegt.

Haltbarkeit im Gerät: 4 Wochen bei 2 – 8 °C

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Reagenz 1: Achtung. Enthält: Gemisch aus: 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1). H317 Kann allergische Hautreaktionen verursachen. H412 Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. P273 Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P280 Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/ Augenschutz tragen. P302+P352 Bei Berührung mit der Haut: Mit viel Wasser/Seife waschen. P333+P313 Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
- Die Reagenzien enthalten tierisches Material. Behandeln Sie das Produkt als potentiell infektiös gemäß allgemein anerkannter Vorsichtsmaßnahmen und guter Laborpraxis.
- In sehr seltenen Fällen kann es bei Proben von Patienten mit Gammopathien zu verfälschten Ergebnissen kommen [8].
- N-Acetylcystein (NAC), Acetaminophen- und Metamizol-Medikation führt zu falsch niedrigen Ergebnissen in Patientenproben.
- Beachten Sie bitte die Sicherheitsdatenblätter und die notwendigen Vorsichtsmaßnahmen für den Gebrauch von Laborreagenzien. Für diagnostische Zwecke sind die Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Patientenvorgeschichte, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.
- Nur für professionelle Anwendung!

Entsorgung

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Vorbereitung der Reagenzien

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

Zusätzlich benötigte Materialien

NaCl-Lösung 9 g/L
Übliche Laborausrüstung

Probenmaterial

Serum, Heparin-Plasma [5]

Haltbarkeit:	2 Tage	bei	20 – 25 °C
	7 Tage	bei	4 – 8 °C
	3 Monate	bei	-20 °C

Kontaminierte Proben verwerfen. Nur einmal einfrieren.

Testschema für Analysenautomaten

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Wellenlänge	600/700 nm (bichromatische Messung)
Schichtdicke	1 cm
Temperatur	37 °C
Messung	Gegen Reagenzienleerwert (RLW)

	Reagenzienleerwert	Probe oder Kalibrator
Probe oder Kalibrator	-	2,4 µL
Reagenz 1	240 µL	240 µL
Mischen, 5 Min. bei 37 °C inkubieren, Extinktion E1 ablesen, dann zufügen:		
Reagenz 2	60 µL	60 µL
Mischen, 5 Min. bei 37 °C inkubieren, Extinktion E2 ablesen.		

$$\Delta E = (E2 - E1) \text{ Probe oder Kalibrator}$$

Berechnung

Mit Kalibrator

$$\text{HDL-C [mg/dL]} = \frac{\Delta E \text{ Probe}}{\Delta E \text{ Kalibrator}} \times \text{Konz. Kalib. [mg/dL]}$$

Umrechnungsfaktor

$$\text{HDL-C [mg/dL]} \times 0,02586 = \text{HDL-C [mmol/L]}$$

Kalibratoren und Kontrollen

Für die Kalibrierung von automatisierten photometrischen Systemen muss der DiaSys TruCal Lipid Kalibrator verwendet werden. Die Kalibratorwerte sind rückverfolgbar auf NIST-SRM®-1951 Level 2. Für die interne Qualitätskontrolle sollte eine DiaSys TruLab L Kontrolle gemessen werden. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall einer Abweichung bei der Kontrollwiederfindung festlegen.

	Bestell-Nr.	Packungsgröße
TruCal Lipid	1 3570 99 10 045	3 x 2 mL
TruLab L Level 1	5 9020 99 10 065	3 x 3 mL
TruLab L Level 2	5 9030 99 10 065	3 x 3 mL

Leistungsmerkmale

Messbereich

Der Test ist zur Messung von HDL-C-Konzentrationen von 1 – 180 mg/dL (0,03 – 4,7 mmol/L) geeignet. Wird dieser Bereich überschritten, sollen die Proben 1 + 2 mit NaCl-Lösung (9 g/L) verdünnt und das Ergebnis mit 3 multipliziert werden.

Spezifität/Interferenzen

Es treten keine Interferenzen mit Ascorbinsäure bis 50 mg/dL, Bilirubin bis 40 mg/dL, Hämoglobin bis 500 mg/dL und Lipämie bis 1200 mg/dL Triglyceride auf. Weitere Informationen zu Interferenzen finden Sie bei Young DS [6].

Testempfindlichkeit/Nachweisgrenze

Die untere Nachweisgrenze ist 1 mg/dL. (0,03 mmol/L)

Präzision (n = 20)

In der Serie	Mittelwert [mg/dL]	Standardabweichung [mg/dL]	VK [%]
Probe 1	20,4	0,17	0,81
Probe 2	56,0	0,41	0,73
Probe 3	125	1,03	0,82

Von Tag zu Tag	Mittelwert [mg/dL]	Standardabweichung [mg/dL]	VK [%]
Probe 1	44,0	0,83	1,88

Methodenvergleich

Bei einem Vergleich von DiaSys HDL-C Immuno FS (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit 100 Proben folgende Ergebnisse erhalten:

$$y = 1,05 x + 0,571 \text{ mg/dL}; r = 0,995$$

Referenzbereiche [7]

Richtlinien des National Cholesterol Education Program (NCEP):

Niedriges HDL-Cholesterin (Haupttrisikofaktor für KHK):
< 40 mg/dL (< 1,04 mmol/L)

Hohes HDL-Cholesterin ("negativer" Riskofaktor für KHK):
≥ 60 mg/dL (≥ 1,55 mmol/L)

Ein Reihe von Faktoren tragen zu einem niedrigen HDL-Cholesterinspiegel bei: z.B. Übergewicht und Fettleibigkeit, Rauchen, körperliche Inaktivität, Medikamente wie Betablocker und progestationale Präparate, genetische Faktoren.

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln.

Literatur

1. Rifai N, Bachorik PS, Albers JJ. Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 809-61.
2. Recommendation of the Second Joint Task Force of European and other Societies on Coronary Prevention. Prevention of coronary heart disease in clinical practice. Eur Heart J 1998; 19: 1434-503.
3. Wiebe DA, Warnick GR. Measurement of high-density lipoprotein cholesterol. In: Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, eds. Handbook of lipoprotein testing. Washington: AACC Press, 1997: p.127-44.
4. Nauck M, Maerz W, Wieland H. New immunoseparation-based homogenous assay for HDL-cholesterol compared with three homogenous and two heterogeneous methods for HDL-cholesterol. Clin Chem 1998; 44: 1443-51.
5. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 22-3.
6. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
7. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). NIH Publication No. 02-5215; September 2002.
8. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007; 45(9): 1240-1243.

Hersteller



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Straße 9 65558 Holzheim Deutschland