

REF			
PT50541	R1] 2 × 45 ml,	R2] 2 × 15 ml	Hitachi 911-912-S Series
PT505411	R1] 2 × 90 ml,	R2] 2 × 30 ml	Hitachi 911-912-L Series
PT50641	R1] 2 × 45 ml,	R2] 2 × 15 ml	Hitachi 917 Series
PT50737	R1] 2 × 45 ml,	R2] 2 × 15 ml	BT Series
PT10041	R1] 1 × 45 ml,	R2] 1 × 15 ml	MPR

LDL-Cholesterol

(Direct Method)

محتویات کیت:

REF	PT50541	PT505411	PT50641	PT50737	PT10041
	R1] 2 × 45ml	R1] 2 × 90 ml	R1] 2 × 45 ml	R1] 2 × 45ml	R1] 1 × 45ml
	R2] 2 × 15ml	R2] 2 × 30 ml	R2] 2 × 15 ml	R2] 2 × 15ml	R2] 1 × 15 ml

ترکیب معرفها:

معرف	اجزاء	غلظت
R1	pH 6/3 Goods buffer	50mmol/L
	4- آمینوآنتی پیرین	0/5 mmol/L
	Detergent 1	----
	کلسترول استراز	1200 U/L
	کلسترول اکسیداز	1200 U/L
R2	پروکسیداز	1200 U/L
	DSBmT	1 mmol/L
	Detergent 2	----
	pH 6/3 Goods buffer	50mmol/L

نکات ایمنی و هشدارها:

از این کیت تنها برای مصرف در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی می‌توان استفاده نمود. در معرف‌های این کیت از پروکلین 300 به عنوان ماده نگهدارنده (Preservative) استفاده شده است، لذا به هیچ عنوان از دهان برای کار با پیبت استفاده نشود و از تماس مستقیم محلول‌ها با دست و چشم‌ها خودداری شود و در صورت تماس بلافاصله با آب فراوان شسته شود. کلیه هشدارهای معمول آزمایشگاه، در هنگام کار با محلول‌ها رعایت گردد. در صورت نیاز به راهنمایی- های ایمنی در خصوص هر یک از مواد (MSDS) می‌توانید با شرکت تماس حاصل فرمایید.

شرایط نگهداری و پایداری معرفها:

معرف‌ها در صورتی که در دمای °C 8 - 2 به دور از نور مستقیم نگهداری شوند تا پایان تاریخ انقضاء درج شده بر روی برچسب کیت پایدار و قابل استفاده خواهند ماند. از آلوده شدن معرف‌ها و نگهداری آنها در دمای انجماد یا در معرض نور مستقیم خودداری شود.

آماده‌سازی معرفها:

معرف‌های R1 و R2 به صورت مایع بوده و آماده مصرف می‌باشند.

جمع‌آوری و نگهداری نمونه‌ها:

سرم، پلاسما

بهتر این است که سرم یا پلاسمای جدا شده در همان روز آزمایش شود.

پایداری LDL در نمونه‌ها	
1 روز	در دمای °C 8 - 2
7 روز	در دمای °C -20

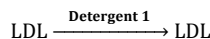
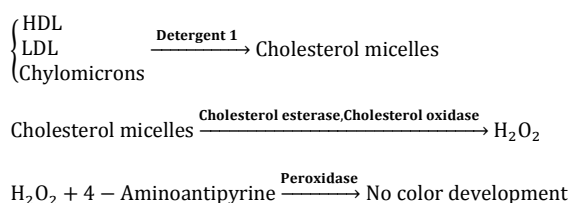
اهمیت بالینی:

کلسترول موجود در LDL را LDL-C می‌نامند و غلظت بالای LDL-C بعنوان یکی از ریسک فاکتورهای آترواسکلروز، بویژه بیماری قلبی عروقی شناخته شده است. بطور عمومی غلظت کلسترول تام که بعنوان یکی از فاکتورهای خطر بیماری‌های آترواسکلروز در نظر گرفته می‌شود، در سطح وسیعی جهت تشخیص هیپرلیپیدمیا سنجش می‌شود. با این حال در گزارش سالانه کمیته تحقیقاتی هیپرلیپیدمیا اولیه وابسته به وزارت بهداشت و رفاه ژاپن در سال 1986، آمده است که ارتباط بین غلظت LDL-C و بیماری ایسکمیک قلبی بارزتر از ارتباط بین غلظت کلسترول تام و این بیماری می‌باشد. در فرمول فرایدوالد غلظت LDL-C براساس غلظت کلسترول تام، HDL و تری گلیسرید محاسبه می‌شود که فاقد صحت است. روش مرجع برای اندازه گیری LDL-C استفاده از اولترا سانتریفیوژ می‌باشد. به دلیل اینکه این روش نیاز به تجهیزات خاص و زمان زیادی دارد، در آزمایشگاه‌های روتین استفاده نمی‌شود. به همین دلیل امروزه روش سنجش مستقیم LDL-C بصورت وسیع استفاده می‌شود.

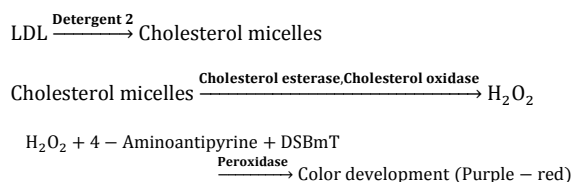
اساس آزمایش:

هر لیپوپروتئین دارای ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی متفاوتی است و واکنش‌های متفاوتی با دترجنت‌ها می‌دهد. در این کیت، از همین ویژگی متفاوت لیپوپروتئین‌ها استفاده شده و دو نوع دترجنت بصورت ترکیبی مورد استفاده قرار گرفته است. دترجنت 1 که در واکنش اول بکار می‌رود، به غیر از LDL ساختار سایر لیپوپروتئین‌ها شامل شیلومیکرون، HDL و VLDL را تغییر می‌دهد. در حضور دترجنت 1، کلسترول اکسیداز و کلسترول استراز جهت مصرف لیپوپروتئین‌ها به غیر از LDL استفاده می‌شود. دترجنت 2 که در واکنش دوم بکار می‌رود، باعث تسریع واکنش آنزیماتیک برای تمام لیپوپروتئین‌ها می‌شود. در این واکنش، افزایش رنگ ناشی از LDL باقیمانده از واکنش اول است.

Reaction 1:



Reaction 2:



روش کار:

مواد و لوازم مورد نیاز:

- 1- محلول‌های کار
- 2- تجهیزات معمول مورد استفاده در آزمایشگاه
- 3- لیبید کالیبراتور شرکت پیشتاز طب با شماره کاتالوگ PTCC6002 برای کالیبر کردن و لیبید کنترل‌های 1 و 2 این شرکت به ترتیب با شماره کاتالوگ-های PTC0003 و PTC0004 جهت کنترل.
- 4- سرم فیزیولوژی (محلول NaCl با غلظت 9 گرم در لیتر)

روش دستی:

شرایط کار:

دما:	37 °C
طول موج:	546 nm
قطر کووت:	1 cm
اندازه‌گیری:	اندازه‌گیری در مقابل بلانک معرف

معرف	بلانک	کالیبراتور/نمونه/کنترل
R1	900 میکرولیتر	900 میکرولیتر
کالیبراتور/نمونه/کنترل	---	10 میکرولیتر
مخلوط کرده، به مدت 5 دقیقه در دمای 37 درجه سانتی گراد انکوبه کنید، خوانش اول (A1) را انجام دهید، سپس:		
R2	300 میکرولیتر	300 میکرولیتر
مخلوط کرده، به مدت 5 دقیقه در دمای 37 درجه سانتی گراد انکوبه نمایید، خوانش دوم (A2) را انجام دهید.		

محاسبات:

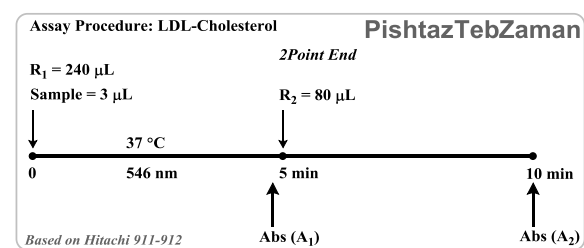
$$\Delta A = A2 - A1$$

$$LDL - C \text{ (mg/dL)} = \frac{\Delta A \text{ Sample}}{\Delta A \text{ Calibrator}} \times \text{Calibrator Conc. (mg/dL)}$$

ضریب تبدیل واحد:

$$LDL-C \text{ (mg/dL)} \times 0.02586 = LDL-C \text{ (mmol/L)}$$

روش دستگاهی:



Hitachi 911/912	
Mode	2Point End [10]
Temperature	37 °C
Main-wavelength	546 nm
Sub-wavelength	700 nm
Assay Points	[15][31]
Reaction direction	Increasing
R1 reagent volume	240 µL
R2 reagent volume	80 µL
Sample volume	3 µL
Calibration Type	Linear [2][2]
SD Limit	0.1
Duplicate Limit	300

ویژگی و کارایی کیت:

دامنه اندازه‌گیری (Linearity):

این کیت قابلیت اندازه‌گیری LDL-C در محدوده 450 mg/dL - 1 را دارا است.

حساسیت (حداقل میزان قابل اندازه‌گیری):

کمترین سطح قابل تشخیص LDL با دقت قابل قبول 1 میلی گرم بر دسی لیتر اندازه‌گیری شده است.

میزان دقت (Precision):

Intra-assay (n = 20)			
CV%	SD (mg/dL)	Mean (mg/dL)	
0.92	0.63	68.7	نمونه 1
0.84	0.84	99.8	نمونه 2
Inter-assay (n = 20)			
CV%	SD (mg/dL)	Mean (mg/dL)	
1.2	0.83	69.2	نمونه 1
0.98	0.99	101.2	نمونه 2

محدودیت‌ها و تداخلات:

بیلی‌روبین کونژوگه تا غلظت 20 mg/dL، بیلی‌روبین غیر کونژوگه تا غلظت 500 mg/dL، اسید آسکوربیک تا غلظت 50 mg/dL، تری‌گلیسیرید تا غلظت 1500 mg/dL، اینترلیپید تا غلظت 5٪ و هموگلوبین تا غلظت 500 mg/dL تداخلی در نتیجه آزمایش نشان نمی‌دهند.

مقایسه روش‌ها (Accuracy):

از مقایسه بین کیت LDL شرکت پیشتاز طب زمان (Y) با یک روش معتبر تجاری (X) بر روی 60 نمونه سرم و 76 نمونه پلاسما، نتایج زیر بدست آمد:

سرم:

$$y = 0.95x - 0.36, r = 0.992$$

پلاسما:

$$y = 1.01x - 4.03, r = 0.998$$

دامنه مرجع:

≤ 130 mg/dL	طبیعی
130 - 160 mg/dL	محدوده هشدار
> 160 mg/dL	غیرطبیعی

بهرتر این است که هر آزمایشگاه با توجه به اطلاعات آماری بیمارانش دامنه مرجعی مختص به خود را تعیین نماید. برای اهداف تشخیصی نتایج این تست باید با تاریخچه پزشکی بیمار، آزمایشات و دیگر یافته‌ها به‌طور همزمان بررسی شوند.

منابع:

- 1- Tarui S: Ministry of Health and Welfare Primary Hyperlipidemia Research Committee, 1986 Annual Report (Committee Leader: Seiichiro Tarui), 1987, 17-26.
- 2- Kanno T, et al. Journal of Medicine and Pharmaceutical Science, 1997; 37: 635-644
- 3- Guideline for Diagnosis and Treatment of Hyperlipidemia 2004, Japan Atherosclerosis Society, P4
- 4- Rifai N, et al, Analytical and clinical performance of a homogeneous enzymatic LDL-Cholesterol assay compared with the ultracentrifugation-dextran sulfate-Mg²⁺ Method. ClinChem, 1998; 44: 1242-1250.