PISHTAZTEB Zaman DIAGNOSTICS

CE

LDL-Cholesterol

(Direct Method)

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

اهمیت بالینی:

کلسترول موجود در LDL را LDL-C می نامند 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 بیماری های آترواسکلروز در نظر گرفته می شود، در سطح وسیعی جهت تشخیص هیپرلیپدمیا سنجش می شود. با این حال در گزارش سالانه کمیته تحقیقاتی هیپرلیپدمیای 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 می باشد. در فرمول فرایدوالد غلظت LDL-C براساس غلظت کلسترول تام، HDL و تری گلیسیرید محاسبه می شود که فاقد صحت است. روش مرجع برای اندازه گیری LDL-C استفاده از اولترا سانتریفیوژ می باشد. به دلیل اینکه این روش نیاز به تجهیزات خاص و زمان زیادی دارد، در آزمایشگاه های روتین استفاده نمی شود. بههمین دلیل امروزه روش سنجش مستقیم LDL-C بصورت وسیع استفاده می شود.

اساس آزمایش:

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

Reaction1:

$$\left\{\begin{array}{l}\text{HDL}\\ \text{LDL}\\ \text{Chylomicrons}\end{array}\right. \xrightarrow{\text{Detergent 1}} \text{Cholesterol micelles}$$

$$\text{Cholesterol micelles} \xrightarrow{\text{Cholesterol esterase,Cholesterol oxidase}} H_2O_2$$

$$H_2O_2 + 4-\text{Aminoantipyrine} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{No color development}$$

$$\text{LDL} \xrightarrow{\text{Detergent 1}} \text{LDL}$$

Reaction 2:

$$\text{LDL} \xrightarrow{\text{Detergent 2}} \text{Cholesterol micelles}$$

$$\text{Cholesterol micelles} \xrightarrow{\text{Cholesterol esterase,Cholesterol oxidase}} H_2O_2$$

$$H_2O_2 + 4-\text{Aminoantipyrine} + \text{DSBmT} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{Color development (Purple} - \text{red)}$$

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	Goods buffer با pH 6/3	50mmol/L
	4- آمینوآنتی‌پیرین	0/5 mmol/L
	Detergent 1	----
	کلسترول استراز	1200 U/L
	کلسترول اکسیداز	1200 U/L
	پروکسیداز	1200 U/L
R2	DSBmT	1 mmol/L
	Detergent 2	----
	Goods buffer با pH 6/3	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 مادهٔ نگهدارنده (Preservative)استفاده شده است، لذا به هیچ عنوان از دهان برای کار با پیپت 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 صورتی‌که در دمای 8 °C - 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 نورمستقیم خودداری شود.

آماده‌سازی معرف‌ها:

معرف‌های R1 و R2 به صورت مایع بوده و آمادهٔ 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	
در دمای 8°C - 2	1 روز
در دمای -20°C	7 روز

شرکت پیشتاز طب زمان، آدرس: ایران، تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن ، پلاک 1،**تلفن**:021-42197000
فکس:021-42197007، **پست الکترونیکی**:info@pishtazteb.com

ویرایش مرداد ماه 1395

روش کار:

مواد و لوازم مورد نیاز:

1- محلول‌های کار

2- تجهیزات معمول مورد استفاده در آزمایشگاه

3-لیپید کالیبراتورشرکت پیشتاز طب با شماره کاتالوگ PTCC6002 برای کالیبر کردن و لیپید 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

	بلانک	کالیبراتور/نمونه/کنترل
معرف 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:		
معرف 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:

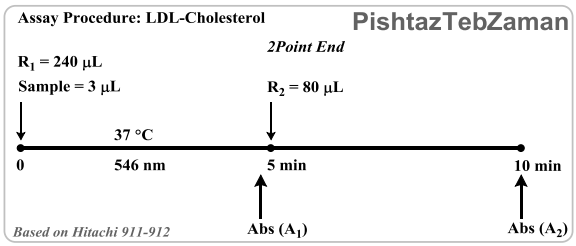
$$\Delta A = A2 - A1$$

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

ضریب تبدیل واحد:

LDL-C (mg/dL) × 0.02586 = LDL-C (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 محدودهٔ 1 - 450 mg/dL را دارا است.

حساسیت (حداقل میزان قابل اندازه‌گیری):

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

میزان دقت (Precision):

Intra-assay (n = 20)			
	Mean (mg/dL)	SD (mg/dL)	CV%
نمونه 1	68/7	0/63	0/92
نمونه 2	99/8	0/84	0/84

Inter-assay (n = 20)			
	Mean (mg/dL)	SD (mg/dL)	CV%
نمونه 1	69/2	0/83	1/2
نمونه 2	101/2	0/99	0/98

محدودیت‌ها و تداخلات:

بیلی‌روبین کونژوگه تا غلظت20 mg/dL، بیلی‌روبین غیرکونژوگه تا غلظتmg/dL 20، اسید آسکوربیک تا غلظت mg/dL 50، تری‌گلیسیرید تا غلظتmg/dL 1500، اینترالیپید تا غلظت 5٪ و هموگلوبین تا غلظت500mg/dLتداخلی 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:

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

بهتر 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: SeiichiroTarui), 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-Mg^{2+} Method. ClinChem, 1998; 44: 1242-1250.

شرکت پیشتاز طب زمان، آدرس: ایران، تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن ، پلاک 1، **تلفن:**021-42197000

فکس:021-42197007، **پست الکترونیکی:**info@pishtazteb.com

ویرایش مرداد ماه 1395