

## Reagenz zur quantitativen In-vitro-Bestimmung von HDL-Cholesterin im Blut

HDL 321

**Best. Nr.** HDL 321  
**Inhalt:** 20 Tests  
 20 Pipettenspitzen, 500µL

Zusätzlich erforderlich:  
 CHO 142 zur Bestimmung des Gesamt-Cholesterins

**Methode**  
 Cholesterin-Bestimmung im Überstand nach Fällung der LDL und VLDL mittels Polywolframsäure (PWS) und Magnesiumionen<sup>1)</sup>

**Probenmaterial**  
 Kapillarblut oder venöses EDTA-Blut (frisch)  
 Kapillarblut sofort in das Reaktionsgefäß "R" geben.  
 Haltbarkeit der Probe im Reaktionsgefäß "R":  
 bei +15 bis +25°C: 6 Stunden

**Reagenz**  
 Inhalt / Konzentrationen der gebrauchsfertigen Lösung:

- Startreagenz (Kappen in der PE-Flasche)  
 Cholesterinoxidase (CHOD) aus Brevibacterium > 350 U/L,  
 Peroxidase (POD) > 4kU/L, 4-Aminophenazon 0,20 mmol/L
- Puffer (vorpipettiert in Rundküvetten)  
 Lipoproteinlipase/Cholesterinesterase aus Mikroorg. >1200 U/L,  
 4-Chlorphenol 13,5 mmol/L, Natriumazid <0,1 %, Triton X-100 < 1%, PIPES-Puffer  
 pH 7,6, 113 mmol/L
- Fällungsreagenz (Reaktionsgefäße "R")  
 Natriumchlorid 154 mmol/L, Magnesiumchlorid 18,9 mmol/L,  
 Phosphorwolframsäure 0,26 mmol/L

**Sicherheitshinweis**  
 Die Pufferlösung (Rundküvette) enthält Natriumazid (< 0,1 %) und Triton X-100 (< 1%). Verschlucken, Berührung mit der Haut und Schleimhäuten vermeiden. Ein Sicherheitsdatenblatt wird auf Anforderung zur Verfügung gestellt.<sup>2)</sup>

**Lagerung und Haltbarkeit**  
 Die Reagenzien sind bei +2°C bis +8°C bis zu dem auf der Packung angegebenen Verfalldatum haltbar.  
 Schraubkappen erst unmittelbar vor der Messung aus dem Behälter entnehmen.

**Messbedingungen**  
 Messgerät: Vario Photometer Diaglobal

Messwellenlänge: 520nm  
 Temperatur: Raumtemperatur

Zusätzlich erforderlich: Minizentrifuge

**Messbereich**  
 10 - 120 mg/dL (0,1 - 3,1 mmol/L)

**Hinweis**  
 Die Messung des Gesamt- und HDL-Cholesterins erfolgt gemeinsam im Menü <CHO/HDL>. Hierbei können die bei der HDL-Bestimmung anfallenden Wartezeiten zur Bestimmung des Gesamt-Cholesterins genutzt werden.

Neben Einzelmessungen sind auch kleine Serien (bis n = 6) durchführbar.

- Arbeitsanleitung**
- 60µL Kapillarblut aus der Fingerbeere oder dem Ohrläppchen entnehmen und in das Reaktionsgefäß "R" mit vorpipettiertem Fällungsreagenz stellen. Durch kräftiges Schütteln das Blut in die Reagenzlösung überführen.
  - Reaktionsgefäß "R" 5 Minuten stehen lassen.
  - In Minizentrifuge einsetzen und 5 Minuten zentrifugieren.
  - 500µL Überstand mit Pipette entnehmen, in eine Rundküvette HDL 321 pipettieren.
  - Auf diese Rundküvette Kappe mit Startreagenz aufschrauben und mischen.  
 Nach 5 Minuten ist die Küvette (= Analysenküvette) messbereit.
  - Test <CHO/HDL> anwählen.
  - Zunächst Gesamt-Cholesterin bestimmen, siehe Packungsbeilage CHO 142.
  - Anschließend HDL-Cholesterin messen:
  - Nullpunkt mit einer unbearbeiteten Einzeltestküvette HDL 321 aus der Testpackung einstellen.
  - Küvette entfernen.
  - Die vorbereitete Analysenküvette nach 5 Minuten in das Photometer einsetzen.
  - Ergebnis ablesen.

**Berechnung**  
 Konzentration c des HDL-Cholesterins im Plasma:  
 $c \text{ (mg/dL)} = F1 \times \text{Ext} \times 1 / (1 - \text{HCT})$

F1 = Berechnungsfaktor, HCT = Hämatokrit  
 Die Berechnungsformel ist im Vario Photometer einprogrammiert. Der HCT-Wert muß nicht gesondert ermittelt werden, da bei der Bestimmung des Gesamt-Cholesterins eine Messgröße anfällt, die dem HCT-Wert proportional ist und von der Gerätesoftware für die HDL-Berechnung genutzt wird.

**Qualitätssicherung**  
 Für die Qualitätssicherung empfehlen wir die Spezial-Kontrollserien der Firma Roche, [www.roche.de](http://www.roche.de):  
 PreciControl ClinChem Multi 1 / Multi 2 (4 x 5 mL)  
 Order-No.: 05 947 626 190 / 05 947 774 190  
 Methode: Fällung mit Phosphorwolframsäure und Magnesiumionen

Referenzwerte <sup>3)</sup>	Kein Risiko	Mäßiges Risiko	Hohes Risiko	
Männer	> 55	55 - 35	< 35	mg/dL
	> 1,45	1,45 - 0,90	< 0,90	mmol/L
Frauen	> 65	65 - 45	< 45	mg/dL
	> 1,68	1,68 - 1,15	< 1,15	mmol/L

**Zusammenfassung**  
 Die HDL (High density lipoproteins) sind für den Rücktransport von Cholesterin aus den peripheren Zellen in die Leber verantwortlich. Klinisch bedeutsam ist die Bestimmung des HDL-Cholesterins.

- Indikationen / Diagnostische Bedeutung:<sup>3)</sup>
- Früherkennung eines Arteriosklerose-Risikos (Bestimmung des antiatherogenen Cholesterinanteils)
  - Therapiekontrolle bei Behandlung mit lipidsenkenden Medikamenten
  - Erfolgskontrolle von Aktivitäten im Fitness- und Freizeitsport

Erhöhte HDL-Konzentrationen im Serum haben einen protektiven Effekt auf die koronare Herzkrankheit, während erniedrigtes HDL-Cholesterin, vor allem in Verbindung mit erhöhten Triglyceriden, das kardiovaskuläre Risiko erhöht. Bei der Behandlung mit lipidsenkenden Medikamenten muß eine Abnahme der HDL vermieden werden. Für die Prävention ist von Bedeutung, daß Ausdauersport zu einer Erhöhung des HDL-Cholesterins führt.

Zur Bestimmung stehen unterschiedliche Methoden (Ultraszintifugation, HPLC, Elektrophorese, Präzipitationsmethoden) zur Verfügung. Im Routinebetrieb haben insbesondere die Präzipitationsmethoden Bedeutung erlangt.  
 Der Diaglobal-Test HDL 321 wurde speziell für die Untersuchung von Kapillarblut entwickelt und ermöglicht die Bestimmung des HDL-Cholesterins vor Ort.

**Messprinzip**  
 VLDL (very low density lipoproteins) und LDL (low density lipoproteins) werden in der verdünnten Probe durch Polywolframsäure (PWS) und Magnesiumionen präzipitiert. Nach Zentrifugation, die zur Separation des Präzipitats und der Erythrocyten führt, wird das Überstand verbleibende HDL-Cholesterin bestimmt<sup>1)</sup>  
 Die Bestimmung erfolgt nach der CHOD-PAP-Methode. Bei der Ergebnisberechnung wird der Hämatokritwert der Probe berücksichtigt.

**Leistungsmerkmale**  
**Spezifität / Interferenzen<sup>4)</sup>**  
 Bilirubin (> 10 mg/dL) und starke Hämolyse (> 2,0 g/dL) stören.  
 Weitere Informationen s. Packungsbeilage CHO 142.  
 Bei Triglyceridwerten > 400 mg/dL (4,56 mmol/L) ist eine vollständige Präzipitation nicht mehr gewährleistet.

**Unpräzision**  
 Die Reproduzierbarkeit wurde mit venösem Humanblut überprüft.

In der Serie [n = 20]	Mittelwert [mg/dL]	Standard-Abweichung [mg/dL]	VK [%]
Probe 1 Probe 2	34,5 60,9	1,3 1,7	3,8 2,8
Unterbrochene Serie [n = 20]	Mittelwert [mg/dL]	Standard-Abweichung [mg/dL]	VK [%]
Probe 1 Probe 2	36,2 59,8	1,6 2,1	4,3 3,5

**Analytische Sensitivität**  
 Untere Nachweisgrenze: 10 mg/dL (0,5 mmol/L)

**Methodenvergleich**  
 Ein Vergleich des Diaglobal-Tests HDL 321 (y, Probenmaterial Blut) mit einem anderen, auf der PWS-Methode basierenden, kommerziell erhältlichen Test (x, Probenmaterial Plasma) ergab nach dem Verfahren von Passing/Bablok<sup>5)</sup> die Korrelation:  
 $y = 0,947x + 3,29$   
 $r = 0,990$

n = 40  
 Konzentrationsbereich: 30,0 - 110 mg/dL

**Hinweise zur Entsorgung**  
 Abfallschlüsselnummer 180106:  
 Küvetten mit Reagenz gelten als Sonderabfall. Reagenz nicht in Oberflächenwasser oder die Kanalisation gelangen lassen.  
 Entsorgung gemäß den behördlichen Vorschriften.  
 Nichtkontaminierte und restentleerte Verpackungen können einer Wiederverwertung zugeführt werden.

- Literatur**
- Assmann G, Schriewer H, Schmitz G et al. Qualification of high density lipoprotein cholesterol by precipitation with phosphotungstic acid/MgCl<sub>2</sub>. Clin Chem 1983;29:2026-2030
  - <http://www.diaglobal.de/de/service/downloads/index.html>
  - Thomas L. Labor und Diagnose. 4.Aufl. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft 1995; 207
  - Sonntag O. Arzneimittelinterferenzen. Stuttgart, New York: Thieme Verlag, 1985:37
  - Passing H, Bablok W. A new biometric procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. J Clin Chem Clin Biochem. 1983; 21:709-720