
P-Kolesterol med cobas c 501/701

Medicinsk bakgrund

Analys-/bestämningsprincip

Miljöaspekter

Apparatur och tillbehör

Bipacksedel

Kemikalier och/eller reagens

Kalibratorer/kalibrering

Kontrollprover/kontroller

Provtagning och provhantering

Förberedelser

Utförande

Beräkning

Instrumentparametrar

Bedömning

Metodvalidering

Interferenser

Svarsrutiner

Referensintervall

Ersatta metoder

Referenser

Justeringstabell

Medicinsk bakgrund

Av det kolesterol som finns i plasma är omkring 70 % förestrat med långkedjiga fettsyror, medan ca 30 % är oförestrat, s.k. fritt kolesterol. Både förestrat och oförestrat kolesterol ingår i bestämningen av P-kolesterol. Huvuddelen av plasmakolesterol (60-70 %) transporteras i LDL-fraktionen, medan 25-35 % återfinns i HDL. Mindre mängder kolesterol finns i kylomikroner och VLDL.

Hyperkolesterolemi är en av de viktigaste kardiovaskulära riskfaktorerna. Uttalad ökning av plasmakolesterol förklaras huvudsakligen av ökning i LDL-kolesterol medan lätt hyperkolesterolemi inte sällan kan tillskrivas en ökning av HDL-halten. Förhöjt plasmakolesterol beroende på förhöjd LDL-koncentration ses vid familjär hyperkolesterolemi, familjär dyslipoproteinemi samt ofta vid familjär kombinerad hyperlipidemi. Måttlig till uttalad ökning av LDL-halten uppträder sekundärt vid åtskilliga tillstånd, framför allt hypotyreos, leversjukdomar och njursjukdomar.

Bestämning av kolesterol, HDL-kolesterol, triglycerider och beräkning av LDL-kolesterol i plasma ingår i utredning av primära och sekundära hyperlipoproteinemier och vid bedömning av kardiovaskulär risk, se även avsnittet bedömning.

LDL-kolesterol beräknas enligt Friedewalds formel under förutsättning att triglycerider i serum/plasma är < 4 mmol/L:

$$\text{LDL-Kolesterol} = \text{Kolesterol} - \text{HDL-Kolesterol} - 0,45 \times \text{fS/P-Triglycerider}.$$

Non-HDL kolesterol beräknas enligt formeln: Totalkolesterol – HDL-kolesterol, och är ett bättre mått på den totala aterogena bördan än LDL-kolesterol. Non-HDL kolesterol har i många studier visat sig vara bättre på att förutsäga risk för kardiovaskulär sjukdom än LDL-kolesterol, särskilt hos patienter med diabetes, metabolt syndrom och/eller hypertriglyceridemi.

Pleuravätska

Pleuravätska med mjölkaktigt utseende kan antingen bero på högt cellantal eller kyllothorax. Om det rör sig om celler ska vätskan bli klar efter centrifugering. Vid kyllothorax finns ökat antal kylomikroner med högt triglyceridinhåll. Triglycerider > 1,2 mmol/L tyder på förekomst av kylomikroner. Vid triglycerider < 0,55 mmol/L är sannolikheten mycket låg för kyllothorax. Vid sk pseudokyllothorax är det framförallt kolesterolhalten som är ökad (exsudat) och triglyceridhalten är oftast låg. Vid gränsfall kan lipoproteinelfores behöva utföras för att bekräfta eller utesluta förekomst av kylomikroner.

Pl-Triglycerider ingår tillsammans med Pl-Kolesterol och Pl-Leukocyter i Pl-Kyllothoraxutredning som beställs via ROS.

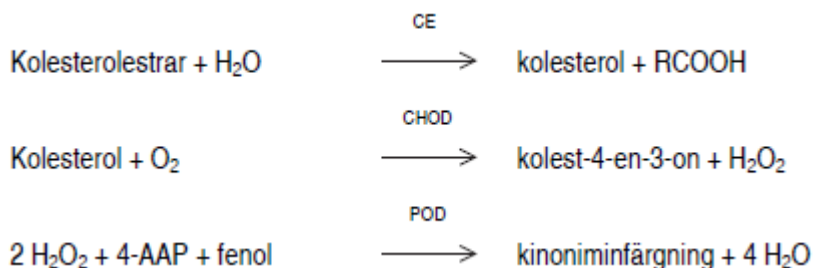
Analys-/bestämningsprincip

Enzymatisk, kolorimetrisk metod.

1-punkt med en ökning i reaktionsriktning.

Denna metod är baserad på bestämningen av Δ^4 -kolestenon efter enzymatisk klyvning av kolesterolestrar med kolesterolesteras, omvandling av kolesterol med kolesteroloxydas och följande mätning av den vätesuperoxid som bildats (Trinder-reaktion).

Kolesterolestrar klyvs med kolesterolesteras och ger fritt kolesterol och fettsyror (se reaktionsformel nedan). Kolesteroloxydas katalyserar sedan oxidationen av kolesterol till cholest-4-en-3-on och väteperoxid. I närvaro av peroxidas påverkar den bildade väteperoxiden oxidativkopplingen av fenol och 4-aminofenazon och bildar en rödfärgad kinonimininfärgning.



Färgintensiteten hos den bildade färgen står i direkt proportion till kolesterolkoncentrationen. Den bestäms genom att mäta ökningen i absorbans vid 700/505 nm.

Miljöaspekter

Kalibratorer och kommersiella kontroller innehåller humanplasma. Dessa är kontrollerade mot HIV och hepatit B och funna negativa, men eftersom dessa metoder ej är helt säkra bör alla kalibratorer och kontroller behandlas som humana prover.

För utförlig information om delar av reagensinnehåll se produktregister i kemikaliehanteringssystemet KLARA på Lisa:

http://www.port.se/alphaquest/app_lin/pcmain.cfm.

Apparatur och tillbehör

cobas c 501/701

Roche Diagnostics
Scandinavia AB

Bipacksedel

Bipacksedlar från kontroller och kalibratorer sparas (om ny lot) i separata pärmar på sektionen. Information förmedlas till metodansvarig för analysen. Annan information från firman sätts in i metodloggboken eller sparas på G-mappen. Alla nya lotnummer ska skrivas in i QM.

Kemikalier och/eller reagens

Kolesterol (CHOL2) Reagens

Roche Diagnostics
Scandinavia AB

Innehåller

R1: (position B och C (US))	PIPES-buffert	225 mmol/L, pH 6,8
(position B (ViN/LiM))	Mg ²⁺	10 mmol/L
	Natriumcholat	0,6 mmol/L
	4-aminofenazon	≥ 0,45 mmol/L
	Fenol	≥ 12,6 mmol/L
	Fetthaltig alkoholpolyglykolet	3 %
	Kolesterolesteras (Pseudomonas spec.)	≥ 25 µkat/L
	Kolesterooloxidas (E.Coli)	≥ 7,5 µkat/L
	Peroxidas (pepparrot)	≥ 12,5 µkat/L
	Stabilisatorer	
	Konserveringsmedel	

En reagensförpackning räcker till 2100 analyser (US), 400 analyser (ViN/LiM).

OBS Varning! Reagenset innehåller komponenter som är irriterande för hud och ögon. Tvätta hud och skölj ögon om de kommit i kontakt med reagenset. Använd lämplig skyddsutrustning.

Utförande

US: Reagenset är klart att använda. Placera i rotor **A**.

OBS Ta av korkarna på reagenskassetten innan isättning i instrumentet och undvik skumbildning. Sätt i kassetten med den vita delen av RFID-etiketten åt vänster (RFID-etiketten sitter ovanpå reagenset). Vilken plats i reagensrotorn den sätts i spelar ingen roll. Gör en "Reagens registrering", se apparatbeskrivning.

ViN: Reagenset är klart att använda. Reagenskassetter kan laddas under drift. Sätt i kassetten med streckkoden åt höger i kassettporten. Kassetten laddas in automatiskt av instrumentet.

Hållbarhet

Oöppnad förpackning	Till utgångsdatum vid 2-8°C
Öppnad förpackning kyld i instrumentet	4 veckor (US) 8 veckor (ViN/LiM)

DiluentRoche Diagnostics
Scandinavia AB**Innehåller**

NaCl 9 %

US: Reagenset är klart att använda. Placera i rotor **A**.**OBS** Ta av korkarna på reagenskassetten innan isättning i instrumentet och undvik skumbildning. Sätt i kassetten med den vita delen av RFID-etiketten åt vänster (RFID-etiketten sitter ovanpå reagenset). Vilken plats i reagensrotorn den sätts i spelar ingen roll. Gör en "Reagens registrering", se apparatbeskrivning.**ViN:** Reagenset är klart att använda. Reagenskassetter kan laddas under drift. Sätt i kassetten med streckkoden åt höger i kassettporten. Kassetten laddas in automatiskt av instrumentet.**Hållbarhet**

Öppnad förpackning Till utgångsdatum vid 2-8°C

Öppnad förpackning kyld i instrumentet 4 veckor (US)
12 veckor (ViN/LiM)**Kalibratorer/kalibrering****Calibrator for automated systems (C.f.a.s)**Roche Diagnostics
Scandinavia AB**Spårbarhet**

Denna metod har standardiserats enligt Abell/Kendall och även med isotopspädning/masspektrometri.

Innehåller

Frystorkat kalibreringsserum, humanbaserat (12 x 3 ml).

Beredning

Öppna flaskan försiktigt och tillsätt exakt 3,0 mL typ I-vatten/typ II-vatten. Blanda på rörvändare i 30 minuter. Undvik skumbildning.

Portionera upp 300 µl i eppendorfkoppar och frys in.

Utförande2-punktskalibrering. Kalibrering krävs vid reagenslotbyte samt efter **7 dagar i instrumentet (US)**.För utförande se apparatbeskrivning. För övrigt se [Metodkontroll QM-rutiner med flödesschema](#).**Hållbarhet**

Öppnad förpackning Till utgångsdatum vid 2-8°C

Uppspädd kalibrator 8 h i rumstemp., 2 dygn i kylskåp,
1 månad i frys

Kontrollprover/kontroller

Intern kvalitetskontroll

Se respektive apparatbeskrivning.

Löpande kontrollanalys och tekniskt godkännande

Löpande kontroller hanteras och tekniskt godkännande sker enligt [Metodkontroll](#), [kontrollhantering](#), [Klinisk farmakologi](#), [Klinisk immunologi och transfusionsmedicin](#), [Klinisk kemi](#).

Periodvis sammanställning

Precision

Alla interna kontroller överförs till QM-systemet där medelvärde, SD och CV beräknas.

Riktighet

Efter varje analystillfälle av extern kontroll erhålls en sammanställning där vårt resultat redovisas avseende vår position i jämförbar metodgrupp. Resultaten från denna kontroll införs i QM.

Resultatet av varje enskilt instruments jämförelse mot mentorinstrumentet finns tillgängligt i QM under respektive instrument.

Extern kvalitetskontroll

Kontrollen analyseras på samma sätt som ett patientprov. Se [Externa kontrollprogram](#), [Klinisk kemi](#) och [Klinisk farmakologi](#).

Mentorinstrument deltar i extern kvalitetssäkring. För övriga instrument sker jämförelse mot mentorinstrument med patientprovskick enligt [Metodkontroll](#), [kontrollhantering](#), [Klinisk farmakologi](#), [Klinisk immunologi och transfusionsmedicin](#), [Klinisk kemi](#).

Provtagning och provhantering

Vid provtagning för bestämning av P-LDL och triglycerider ska patienten i regel vara fastande minst 10 h. Vid bestämning av enbart P-HDL, kolesterol och non-HDL kolesterol behöver patient inte vara fastande.

Ta blodprov i vakuumrör innehållande separationsgel och litiumheparin. Serum och EDTA-plasma kan också användas.

Centrifugeras inom 12 h från provtagning.

Centrifugerat primärrör (med gel) hållbart minst 30 h vid 2-8 °C.

Vid längre tids förvaring ska plasma avskiljas och kan då förvaras upp till 5 dygn vid 2-8 °C.

Vid förvaring > 5 dygn ska plasma avskiljas och frysas (-20 °C).

Hållbarheten i okorkade rör, förvarade i rumstemperatur, är acceptabel i max 6 h.

Undantag är kapillärt tagna prover (fr. a. barnprover), där hållbarheten bedöms till max 2 h.

Underlaget för hållbarhetstest finns under ALAT-fliken i dokumentskåpet på Klinisk kemi US.

Pleuravätska

Tag prov i sterilt plaströr med gul kork.

Provet bör lämnas till laboratoriet inom 30 min från provtagning (eftersom Pl-Leukocyter ingår i paketet). Hållbarheten för Pl-Kolesterol är minst 5 dygn.

Notera utseende före centrifugering, skriv kommentar i FlexLab. Färdiga kommentarer kan användas: KEM122 - Kem129.

Blanda om röret före analys. Om koagel eller mycket sedimenterade cellrester kan provet behöva centrifugeras och pipetteras av för att sedan blandas och analyseras.

Därefter centrifugeras provet vid 2400 g i 5 min, eller 1800 g i 10 min. samt utseendet bedöms och noteras i flexlab.

Kontakta jourhavande läkare inom Klinisk Kemi för utlåtande. Observera att kontakt tas direkt. Provet behöver som regel inte stå 24 timmar innan utlåtagandet görs. Förvara provet i kylskåp.

Preliminär svar får lämnas under kvällar, nätter och helger om det efterfrågas från kund. Analysresultat samt kommentarer om utseende lämnas då ut tillsammans med angivna referensgränser. Ange i FlexLab att prel.svar lämnats.

För ViN och LiM gäller att provet kan skickas till US direkt efter inspektion före centrifugering eller efter analys. Vid dag före helgdag (em) tas kontakt med jourhavande läkare när provet kommer. Man kan då ta ställning till om provet måste skickas till US eller om utseendet efter centrifugering kan bedömas via telefon eller m h a bild som skickas via mail.

Förberedelser

Provet centrifugeras 10 minuter vid 1800 g (RCF) alternativt 5 minuter vid 2400 g (RCF). För transportbanan på US gäller 2500 g (RCF) i 10 minuter.

Utförande

Se respektive apparatbeskrivning.

Beräkning

Om provet är utanför mätintervallet omanalyseras provet automatiskt och resultatet beräknas av cobas c 501/701. (spädning 1:10).

Om resultatet ändå larmas ska provet beställas om i instrumentet med en högre spädning än den automatiska. Resultatet beräknas av cobas c 501/701.

Instrumentparametrar

Se respektive apparatbeskrivning.

Bedömning

Bestämning av Kolesterol, HDL-kolesterol, triglycerider och beräkning av LDL-kolesterol och/eller non-HDL-kolesterol i serum/plasma bör ingå i utredning av primära och sekundära hyperlipoproteinemier och vid bedömning av kardiovaskulär risk. Lipidstatus bör dock ej analyseras under det akuta insjuknandet i hjärtinfarkt då sänkningar ses av både HDL och LDL. Provet taget under första dagen av insjuknandet alt. tidigast en månad efter infarkten är att föredra.

Målvärdet för LDL-kolesterol vid sekundärprevention är lägre än vad övre referensgränsen anger. Målvärdet varierar mellan 1,8 och 3,0 mmol/L beroende på förekomst av andra riskfaktorer för hjärtkärlsjukdom. Målvärdet för non-HDL kolesterol kan variera mellan 2,6 och 3,8 mmol/L. Detta motsvarar då målvärdet för LDL + 0,8 mmol/L [5]. Målvärdet för LDL-kolesterol bör individualiseras och baseras på risk enligt rekommendationer från EAS/ESC och SCORE diagrammet (risk för död inom 10 år i hjärt-kärlsjukdom). För måttlig risk (SCORE 1-5 %) gäller målvärde <3,5 mmol/L, för hög risk (SCORE 5-10 %) gäller målvärde <2,5 mmol/L och för mycket hög risk (SCORE > 10 %) gäller målvärde <1,8 mmol/L. Vid sekundärprevention (tidigare hjärt-kärlsjukdom), diabetes med andra riskfaktorer eller komplikationer samt vid uttalad njursjukdom (ej dialyspatienter) ingår patienten i gruppen "mycket hög risk" [6,7].

Metodvalidering

Precision (total mätosäkerhet)

Se metodvalideringar i dokumentskåp samt internt kvalitetssystem (QM). Kontrollnivå och mätosäkerhet för metoden finns i QM.

Riktighet

För cobas c 501 (ViN/LiM) och cobas c 701 (US) är jämförelse utförd mot mentorn Advia 1800 (US). Se respektive metodvalidering.

Mätområde

0,1 – 20,7 mmol/L. Automatisk omkörning vilket utökar mätområdets övre gräns (spädning 1:10) till 207 mmol/L. Se även rubriken Beräkning.

Detektionsgräns

Nedre detektionsgräns är 0,1 mmol/L enligt metodblad.

Interferenser

Enligt Roches metodblad:

Ikterus: Ingen signifikant interferens vid ett I-index på upp till 16 för konjugerat och 14 för okonjugerat bilirubin, ungefärlig koncentration: 274 µmol/L och 239 µmol/L. Om I-index är > 20 lämnas svaret ut med kommentaren "Ikteriskt, ger lägre värde".

Hemolys: Ingen signifikant interferens vid ett H-index på upp till 700 för hemoglobin, ungefärlig koncentration 7 g/L. Om H-index är >700 ersätts svaret med kommentaren "hemolys".

Lipemi (intralipid): Ingen signifikant interferens vid ett L-index på upp till 2000. Det är dålig korrelation mellan L-index (motsvarar turbiditet) och triglyceridkoncentration.

Läkemedel: Ingen interferens påvisades för terapeutiska koncentrationer vid användning av vanliga läkemedelspaneler.

I mycket sällsynta fall kan **gammopati**, särskilt typ IgM (Waldenströms makroglobulinemi), orsaka icke tillförlitliga resultat.

Svarsrutiner

Svar lämnas med 1 decimals noggrannhet.

T ex 4,2 mmol/L

Resultat <0,10 mmol/L svaras ut som "< 0,10 mmol/L".

För Pleura-kolesterol lämnas läkarutlåtande. Medicinskt godkännande krävs för att svaret ska gå ut.

Referensintervall

Plasma

< 2 mån.	1,8 – 3,2 mmol/L
2 mån – 2 år	1,8 – 4,5 mmol/L
2 – 12 år	3,1 – 5,2 mmol/L
12 – 18 år	3,1 – 6,0 mmol/L
18 – 30 år	2,9 – 6,1 mmol/L
31 – 50 år	3,3 – 6,9 mmol/L
> 50 år	3,9 – 7,8 mmol/L

Källa: Vuxenreferensintervall enligt NORIP [3]. Barnreferensområdena enligt studie med eget material MAS (Ref. Per Simonsson).

Pleuravätska

<2,0 mmol/L

Källa: Beräknat utifrån 0,3 * P-Kolesterol (övre ref. gräns medel kvinnor, män < 50 år). Exsudat innehåller oftast högre koncentrationer. Vid pseudokylthorax ses ofta Pl-Kolesterol > 5 mmol/L [7].

Ersatta metoder

Klinisk kemi US

S-Kolesterol (1979)
fS-Kolesterol, fS-HDL-kolesterol med Multistat Plus
S-Kolesterol med SMAC
S-Kolesterol med Chem 1
P-Kolesterol med Hitachi 717 (1989)
P-Kolesterol med Hitach 917 (1996)
P-Kolesterol med Advia 1650 (2002)
P-Kolesterol med Advia 1800 (2007)

Klinisk kemi VIN

S-Kolesterol med LKB
S-Kolesterol med Greiner 300 (1978)
S-Kolesterol med RA-XT (1988)
S-Kolesterol med Chem 1 (1989)
S/P-Kolesterol med Hitachi 911 (1993)
P-Kolesterol med Advia 1650 (2002)
P-Kolesterol med Advia 1800 (2014)

Klinisk kemi LiM

P-Kolesterol med Vitros 250 (1999)
P-Kolesterol med Konelab 20 (2001)
P-Kolesterol med Advia 1650 (2007)
P-Kolesterol med Advia 1200 (2011)

Referenser

1. Siedel J, et al. Reagent for the enzymatic determination of serum total cholesterol with improved lipolytic efficiency. *Clin.Chem* 1983; **29**: 1075.
2. Nilsson-Ehle P, Berggren Söderlund M, Theodorsson E (red.). *Laurells Klinisk Kemi i praktisk medicin*. 9:e uppl. 2012.
3. Simonsson P, Mårtensson A, Rustad P *Läkartidningen* 2004; **101**(10):901.
4. Charlton-Menys V. et al. Targets of Statin Therapy: LDL Cholesterol, Non-HDL Cholesterol, and Apolipoprotein B in Type 2 Diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS). *Clin.Chem* 2009; **55**(3):473-480.
5. Željko Reiner et al. guidelines: ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS) *Eur Heart J* (2011) **32**(14): 1769-1818.
6. Wiklund O. Lika huvudbudskap i riktlinjer för lipider för hjärt-kärlprevention. *Läkartidningen* 2014; 111 CSFW
7. Hooper C, Lee YCG, Maskell N, Investigation of a unilateral pleural effusion in adults: British Thoracic Society pleural disease guideline 2010, *Thorax*, 2010, **65** (Suppl 2); ii4-ii17
8. Metodblad CHOL2, Roche Diagnostics, 2016-12, v 7,0.
9. Metodblad Calibrator for automated systems, Roche Diagnostics, 2016-08, v 10.0.
10. Traceability and Uncertainty, Roche Diagnostics, 2015-06.

Justeringsstabell

Version	Avsnitt samt principiellt vad som ändrats	Ansvarig
1	Dokumentet överfört från Platina till Dokumenta.	C Sundström
2	Medicinsk bakgrund: Lagt till info om Kylothoraxutredning Provtagning och provhantering: Uppdaterat info om Pl-Kolesterol Referensintervall: Lagt till referensgräns för Pl-Kolesterol Referenser: Uppdaterat.	E Landberg M Skala
3	Begränsning av läsrättighet till laboratoriemedicin	C Sundström