

Uso previsto

Determinazione quantitativa diretta del colesterolo lipoproteico a bassa densità (LDL-C) nel siero o nel plasma umano utilizzando gli analizzatori Yumizen C230 e Yumizen C240. Esclusivamente per fini diagnostici *in vitro*. **Solo su prescrizione.**

Sommario

Le lipoproteine plasmatiche sono particelle sferiche che contengono quantità variabili di colesterolo, trigliceridi, fosfolipidi e proteine. I fosfolipidi, il colesterolo libero e le proteine costituiscono la superficie esterna della particella lipoproteica, mentre il nucleo interno contiene soprattutto colesterolo e trigliceridi esterificati. Queste particelle servono a solubilizzare e trasportare il colesterolo e i trigliceridi nel flusso ematico.

Le proporzioni relative di proteine e lipidi determinano la densità di queste lipoproteine plasmatiche e servono come base per la loro classificazione.¹ Le varie classi sono: lipoproteine a bassissima densità (VLDL), lipoproteine a bassa densità (LDL) e lipoproteine ad alta densità (HDL). Numerosi studi clinici hanno evidenziato che le diverse classi di lipoproteine hanno effetti diversi.²⁻⁴ Gli studi indicano concordemente il colesterolo LDL come fattore chiave nella patogenesi dell'arteriosclerosi e della malattia coronarica (CAD),²⁻³ mentre il colesterolo HDL è stato spesso osservato avere un effetto protettivo. Anche all'interno di un range normale di concentrazioni di colesterolo totale, può verificarsi un aumento del colesterolo LDL con un rischio associato di CAD.⁴

Nel corso degli anni sono stati impiegati diversi metodi per la determinazione, o la stima, del colesterolo LDL. L'equazione di Friedewald, in varie forme, è stata la più utilizzata per la stima del colesterolo LDL. Tuttavia, la sua utilità è limitata e la sua accuratezza è stata messa in discussione. Il metodo di riferimento è la determinazione del colesterolo LDL mediante beta-quantificazione, ma la procedura è talmente macchinosa che sono relativamente pochi i laboratori che la utilizzano. Recentemente si è diffuso un metodo che utilizza l'immunoseparazione. Tuttavia, questo metodo richiede ancora un pre-trattamento del campione prima di misurare il colesterolo, il che lo rende inadatto alla completa automazione della procedura. Il metodo qui presentato permette di determinare direttamente il colesterolo LDL in un reagente liquido stabile con due componenti, procedura facilmente adattabile alla maggior parte degli analizzatori chimici automatizzati.

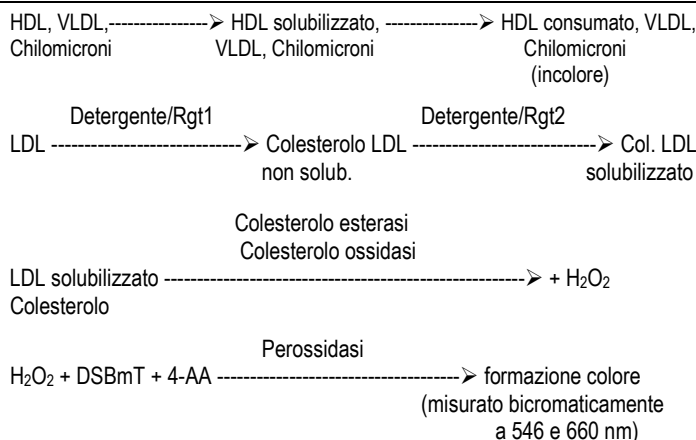
Composizione dei reagenti

Componenti	Aspetto	Ingredienti
Reagente 1	Liquido	Tampone MES (pH 6,3) Detergente 1 Colesterolo esterasi Colesterolo ossidasi Perossidasi 4-Amminoantipirina Acido ascorbico ossidasi Conservanti
Componenti	Aspetto	Ingredienti
Reagente 2	Liquido	Tampone MES (pH 6,3) Detergente 2 N,N-bis (4-sulfobutile)- m-Toluidina-disodio (DSBmT) Conservanti

Colesterolo ossidasi da *Nocardia* sp., Colesterolo esterasi da *Pseudomonas* sp., Perossidasi da rafano, Acido ascorbico ossidasi da *Cucurbita* sp.

Principio

Il kit di reagenti per colesterolo autoLDL™ è un metodo stabile a base liquida, con due componenti, per la misurazione diretta dei livelli di LDL-C nel siero o nel plasma. Il metodo sfrutta le proprietà di un unico reagente, eliminando la necessità di un pre-trattamento o di una fase di centrifugazione fuori linea. Questo reagente (Reagente 1) solubilizza solo le particelle lipoproteiche non-LDL. Il colesterolo rilasciato viene utilizzato dalla colesterolo esterasi e dalla colesterolo ossidasi in una reazione non colorata. Un secondo reagente (Reagente 2) solubilizza le particelle LDL rimanenti e un coadiuvante cromogenico consente la formazione del colore. La reazione enzimatica con LDL-C in presenza del coadiuvante produce un colore proporzionale alla quantità di colesterolo LDL presente nel campione.



Preparazione dei reagenti

Reagente 1: Il reagente 1 è pronto per l'uso.

Reagente 2: Il reagente 2 è pronto per l'uso.

Conservazione e stabilità dei reagenti

I reagenti restano stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta se conservati a 2-8°C.

Precauzioni

- Il reagente può essere utilizzato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*.
- Non pipettare per bocca.
- Tutti i campioni da analizzare vanno considerati potenzialmente infetti. Per la manipolazione e lo smaltimento dei materiali durante e dopo i test è opportuno utilizzare le precauzioni universali applicabili nella propria struttura.
- Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta del kit.

Raccolta e conservazione dei campioni

Si consiglia di utilizzare campioni di siero, plasma trattato con EDTA o eparinizzato. Non è necessario che i pazienti siano digiuni prima del prelievo.

Siero: Prelevare il sangue intero mediante puntura venosa e lasciarlo coagulare. Centrifugare e rimuovere il siero appena possibile (entro 3 ore).¹⁰

Plasma: I campioni possono essere raccolti in EDTA o eparina. Centrifugare e rimuovere il plasma appena possibile (entro 3 ore).¹⁰

Se non vengono analizzati subito, i campioni possono essere conservati a 2-8°C per 5 giorni. Se è necessario conservare i campioni per più di 5 giorni, occorre congelarli a -80°C.

Interferenze

Tutti gli studi sulle interferenze sono stati eseguiti applicando le procedure raccomandate dalle linee guida NCCLS n. EP7-P per i test di interferenza in chimica clinica.¹² Si è visto che livelli di emoglobina fino a 400 mg/dl, di bilirubina fino a 20 mg/dl e di trigliceridi fino a 1500 mg/dl hanno un'interferenza trascurabile (<5%) sulla metodica. I campioni con livelli di interferenti superiori ai limiti massimi vanno diluiti con soluzione fisiologica prima di essere analizzati. Moltiplicare il risultato ottenuto per il rispettivo fattore di diluizione. Per una rassegna completa delle interferenze farmacologiche si rimanda a Young et al.¹³

Materiali in dotazione

Kit reagenti per colesterolo autoLDL™	
numero di catalogo	12-L7574-162
Reagente 1	3 X 40mL
Reagente 2	3 X 14mL

Materiali necessari non in dotazione

- Analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
- Manuale utente per gli analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
- Calibratore autoHDL/LDL™ Pointe, n. cat. H7545-CAL
- Controlli lipidici Pointe, numero di catalogo L7580-18

Procedura

Di seguito è riportato un esempio generale della procedura di analisi con il test autoLDL™ su un analizzatore automatico. Tutte le applicazioni dell'analizzatore devono essere validate secondo le raccomandazioni NCEP e CLIA.¹⁰ Per assistenza sulle

Kit reagenti Colesterolo autoLDL™ Pointe

applicazioni degli analizzatori automatici, contattare l'assistenza tecnica di HORIBA Medical al numero (800) 445-9853.

Campione+ Reag. 1 → 37°C Reag. 2 → 37°C
3ul 300ul 5min. 100ul 5min. Misura (diff. abs)
tra 660nm & 546nm

↓
Risultati LDL-C

Parametri di analisi

Analisi:	LDL	Sostanza chim.: auto LDL Cholesterol
N. chim:	224	Nome etichetta: Colesterolo LDL
Tipo reazione:	Endpoint	Direzione reazione: positiva
Lungh. d'onda prim.:	546 nm	Lungh. d'onda sec. 670 nm
Decimale:	0	Tipo campione: siero
T. bianco:		T. reazione: 16 18
Unità:	mg/dl	T. incubazione: 18

Vol. campione	Aspirato	Diluente	Vol. reagente	Diluente
Standard; 3	ul	ul	180 ul	
Decremento:	ul	ul	60 ul	
Incremento:	ul	ul		

Intervallo linearità (standard); 0-370	Limite linearità:
Intervallo linearità (decremento):	Esaurim. substrato:
Intervallo linearità (incremento):	Assorb. bianco mix: - 40000 40000
Assorb. bianco R1: - 40000 40000	Stabilità in macchina: 30
Giorno/i	
Risposta bianco - 40000 40000	Limite allarme reagente: 5
Doppia chim.:	

Controllo eff. prozona:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Risultato qualitativo:
Intervallo: Val. fuori norma:

Pendenza Offset:
Pendenza Offset Unità
1 0 g/dl

Tratt. preliminare:	
Vol. campione pretratt.: ul	Vol. reagente pretratt.: ul

Intervallo rif.:					
Tipo campione:	Sesso:	Intervallo età:	Intervallo rif.:	Interval. critico:	Unità:

Parametri di configurazione della calibrazione

Analisi chim. LDL
Impostazioni calibr. Modello mat.: Lineare a 2 punti
Fattore: Repliche: 2
Limiti accettabilità
T. calibr.: 336 h
Diff. pendenza: DS:
Sensibilità:
Ripetibilità: * Def. utente
Coeff. deter.:
Calibr. autom. T. calibr.

Calibratore	Conc.	Pos.	N. lotto:
acqua	0,0	W	
HDL LDL Cal	*	*	

Limitazioni

- Non utilizzare anticoagulanti contenenti citrato.
- Proteggere i reagenti dalla luce solare diretta.
- I campioni con valori superiori a 370 mg/dl sull'analizzatore Yumizen serie 200 vanno diluiti con pari volume di soluzione fisiologica e nuovamente analizzati. Moltiplicare i risultati per 2.

Calibrazione

Per la calibrazione è necessario il calibratore per colesterolo autoHDL/LDL™. I valori del calibratore sono stati assegnati mediante procedure tracciabili dal Sistema Nazionale di Riferimento per il Colesterolo (NRS/CHOL). Per istruzioni, consultare il foglietto illustrativo del calibratore autoHDL/LDL™ per colesterolo. Se i risultati del controllo risultano fuori range, sarà necessario effettuare una ricalibrazione.

Controllo qualità

L'affidabilità dei risultati di analisi va monitorata regolarmente con materiali di controllo che riproducano adeguatamente le caratteristiche dei campioni dei pazienti.¹⁰ I materiali per il controllo qualità sono utilizzabili solo per monitorare accuratezza e precisione. Il criterio per valutare i futuri risultati di analisi è il fatto che i valori dei controlli rientrano nell'intervallo di accettabilità precedentemente definito. I controlli vanno eseguiti in ogni turno in cui si effettuano analisi del LDL-C. Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca la frequenza interna dei controlli. Il controllo qualità richiesto va eseguito in conformità con le normative locali, statali e/o federali o ai requisiti di accreditamento.

Risultati

Per trasformare le unità di misura convenzionali in unità del S.I., moltiplicarle per 0,02586.

Esempio: mg/dL x 0,02586 = mmol/L LDL-C

Valori attesi

Per la prevenzione e il trattamento delle cardiopatie coronariche si suggerisce di seguire le seguenti raccomandazioni NCEP per la classificazione dei pazienti:⁸

Colesterolo LDL	Classificazioni
<130mg/dl (3.36mmol/L)	auspicabile
130-159mg/dl (3.36-4.11mmol/L)	borderline per rischio elevato
160mg/dl (4.14mmol/L)	rischio elevato

Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca il proprio intervallo di normalità per la procedura.

Caratteristiche delle prestazioni

Intervallo di analisi: 0-370 mg/dl

Accuratezza: Sono stati condotti studi comparativi tra l'impiego di un analizzatore Yumizen serie 200 e analizzatori simili per l'applicazione del metodo. I risultati sono riportati nella tabella sottostante:

Metodo	Colesterolo autoLDL™
N	30
Colesterolo LDL medio	106
Intervallo (mg/dL)	50-159
Deviazione standard (mg/dl)	28
Analisi di regressione	$y = 1,017x + 1,7$
Coefficiente di correlazione	R=0,990

Precisione:

La precisione intra-giornaliera del reagente autoLDL™ per il colesterolo è stata determinata in base a una modifica del documento EP5-T2¹⁷ dell'NCCLS utilizzando analizzatori Yumizen serie 200. Gli studi sulla precisione intragiornaliera hanno prodotto i seguenti risultati:

Campione	BASSA	ALTA
N	20	20
Colesterolo LDL medio (mg/dl)	28	146
Deviazione standard (mg/dl)	0,5	2,5
Coefficiente di variazione (%)	1,7	1,7

Anche la precisione inter-giornaliera è stata determinata applicando una modifica del protocollo EPT-T2 del NCCLS¹⁷. Gli studi sulla precisione inter-giornaliera hanno prodotto i seguenti risultati:










Campione	BASSA	ALTA
N	20	20
Colesterolo LDL medio (mg/dl)	26	147
Deviazione standard (mg/dl)	0,9	2,9
Coefficiente di variazione (%)	3,3	2,0

Sensibilità: Sensibilità: 2SD limite di rilevabilità (95% conf) = 0,627 mg/dl.

Riferimenti bibliografici

- Gotto, A.M., Lipoprotein Metabolism and the etiology of Hyperlipidemia, Hospital practice, 23:Suppl. 1.4 (1988).
- Crouse, J.R., et al., Studies of Low Density Lipoprotein Molecular Weight in Human Beings with Coronary Artery Disease, J. Lipid Res., 26:566 (1985).
- Badimon, J.J., Badimon L., Fuester V., Regression of Atherosclerotic Lesions by High-density lipoprotein Plasma fraction in the Cholesterol-Fed Rabbit, Journal of Clinical Investigation, 85:1234-41 (1990).
- Castelli, W.P., et al., Cholesterol and other Lipids in coronary heart disease, Circulation, 55-767 (1977).
- Barr, D.P., Russ, E.M, Elder, H.A., Protein-Lipid Relationships in Human Plasma, Am. J. Med. 11:480 (1951).
- Gordon, T., et al, High Density Lipoprotein as a Protective Factor Against Coronary Heart Disease, Am. J. Med., 62:707 (1977).
- William, P., Robinson, D., Baily A., High Density Lipoprotein and Coronary Risk Factor, Lancet, 1:72 (1979).
- Kannel, W.B., Castelli W.P., Gordon, T., Cholesterol in the Prediction of Artherosclerotic Disease; New Perspectives Based on the Framingham Study, Am. Intern. Med., 90:85 (1979).
- National Institutes on Health Publication no. 93-3095, September 1993.
- Warnick, G. Russell, Wood Peter D., National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High Density Lipoprotein Cholesterol; Executive Summary, Clinical Chemistry, Vol. 41, No. 10, 1995.
- Grundy, S.M., et al, Summary of the Second Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel II) JAMA 1993, 269:23,3015-3023.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4, No. 8, June 1984.
- Young, D.S. Effects of Drugs on clinical Laboratory Tests, 3rd ed., AACC Press, Washington, D.C., 1990, 3-104 thru 3-106.
- Tietz, N.W., Clinical Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1986, p. 256.
- Carey, R., Gerber, C.C., Evaluation of Methods. In Kaplan LA, Pesce, A.J., eds. Clinical Chemistry: theory, analysis and correlation. Third Edition. St. Louis: The CV Mosby Company.
- Westgard, J.O., Carey, R.N., Wold, S., Criteria for judging precision and accuracy in method development and evaluation. Clinical Chemistry 1974:20:825-833.
- NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices" 2nd Ed. 1992.

Legenda

 Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)	 Codice lotto e gruppo
 N. catalogo	 Fabbricante
 Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	 Limiti di temperatura
 Consultare il manuale utente	Rx Only: utilizzare solo su prescrizione
 Marchio CE	 Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea

REF 12-L7574-162

 Prodotto da
 HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand
 5449 Research Drive Canton, MI 48188

IVD

 Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
 5449 Research Drive, Canton, MI 48188


Rappresentante autorizzato per l'Europa:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Bruxelles, BELGIO

tel: (32)2.732.59.54 fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net

Reagenti certificati

I reagenti Pointe sono certificati per essere stati prodotti conformemente ai parametri specificati. Se entro la data di scadenza un reagente Pointe dovesse risultare non conforme alle specifiche, sarà prontamente sostituito senza alcun addebito.

Rev. 11/23 P803-L7574-MIN-IT