

## Utilizarea prevăzută

Pentru determinarea cantitativă directă a colesterolului cu lipoproteine cu densitate scăzută (LDL-C) în serul sau plasma umană cu ajutorul analizatoarelor Yumizen C230 și Yumizen C240. Doar pentru diagnostic *in vitro*. **Rx Only.**

## Rezumat

Lipoproteinele plasmatice sunt particule de formă sferică, care conțin cantități variate de colesterol, trigliceride, fosfolipide și proteine. Fosfolipidele, colesterolul liber și proteinele formează suprafața exterioară a particulei de lipoproteină, în timp ce nucleul interior conține în mare parte colesterol esterificat și trigliceride. Aceste particule au rolul de a solubiliza și transporta colesterolul și trigliceridele în fluxul sanguin.

Proporțiile relative ale proteinelor și lipidelor determină densitatea acestor lipoproteine plasmatice și oferă o bază pentru clasificarea lor.<sup>1</sup> Aceste clase sunt: lipoproteine cu densitate foarte scăzută (VLDL), lipoproteine cu densitate scăzută (LDL) și lipoproteine cu densitate mare (HDL). Numeroase studii clinice au indicat că aceste clase diferite de lipoproteine au efecte variate.<sup>2-4</sup> Toate studiile indică colesterolul LDL ca factor cheie în patogeniza aterosclerozei și a bolii coronariene (BAC),<sup>2-8</sup> în timp ce colesterolul HDL are deseori un efect protector. Chiar și în intervalul normal al concentrațiilor de colesterol total, poate apărea o creștere a colesterolului LDL cu un risc asociat de BAC.<sup>4</sup>

De-a lungul anilor s-a utilizat o varietate de metode pentru determinarea sau estimarea colesterolului LDL. Ecuația Friedewald, într-o varietate de forme, a fost folosită cel mai frecvent pentru estimarea colesterolului LDL. Cu toate acestea, utilitatea sa este limitată și acuratețea sa a fost pusă la îndoială. Determinarea colesterolului LDL prin beta-cuantificare este recunoscută ca metodă de referință, dar procedura este atât de greoaie încât relativ puține laboratoare folosesc această metodă. O metodă recentă care utilizează imunosepararea a devenit populară. Totuși, această metodă necesită încă pretratarea probei înainte de determinarea colesterolului, ceea ce o face inadecvată pentru automatizarea completă a procedurii. Metoda prezentată aici asigură determinarea directă a colesterolului LDL într-un reactiv lichid stabil din două componente, care este ușor de adaptat la majoritatea analizatoarelor chimice automate.

## Compoziția reactivului

| Componente | Aspectul | Ingrediente  |
|------------|----------|--|
| Reactiv 1  | Lichid   | Soluție tampon MES (pH 6,3)  |
|            |          | Detergent 1<br>Colesterol esterază<br>Colesterol oxidază<br>Peroxidază<br>4-aminoantipirină<br>Oxidaza acidului ascorbic<br>Conservant |
| Componente | Aspectul | Ingrediente  |
| Reactiv 2  | Lichid   | Soluție tampon MES (pH 6,3)  |
|            |          | Detergent 2<br>N,N-bis (4-sulfobutil)-m-Toluidin-disodiu (DSBmT)<br>Conservant   |

Colesterol oxidază din *Nocardia* sp., colesterol esterază din *Pseudomonas* sp., peroxidază din hrean, oxidaza acidului ascorbic din *Cucurbita* sp.

## Principiul

Reactivul autoLDL™ Cholesterol este o metodă stabilă în două părți, lichidă, pentru măsurarea directă a nivelurilor de LDL-C din ser sau plasmă. Metoda depinde de proprietățile unui detergent unic, care elimină necesitatea oricăror etape de pretratare sau centrifugare neautomată. Acest detergent

(Reactivul 1) solubilizează numai particulele de lipoproteine non-LDL. Colesterolul eliberat este consumat de colesterol esterază și colesterol oxidază într-o reacție care nu formează culoare. Un al doilea detergent (Reactivul 2) solubilizează particulele LDL rămase, iar un agent de cuplare cromogen permite formarea culorii. Reacția enzimatică cu LDL-C în prezența agentului de cuplare produce culoare, care este proporțională cu cantitatea de colesterol LDL prezentă în probă.

HDL, VLDL, -----> HDL solubilizat, -----> HDL consumat, VLDL,  
Chilomicroni VLDL, Chilomicroni Chilomicroni  
(Fără culoare)

Detergent/React1 Detergent/React2  
LDL -----> Non-solubilizat -----> Solubilizat  
LDL Coolesterol LDL Coolesterol

Colesterol esterază  
Colesterol oxidază

LDL solubilizat -----> + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  
Coolesterol

Peroxidază

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + DSBmT + 4-AA -----> Dezvoltare culoare  
(Măsurat bicromatic la 546 și 660nm)

## Prepararea reactivului

Reactiv 1: Reactivul 1 este gata de utilizare.

Reactiv 2: Reactivul 2 este gata de utilizare.

## Depozitarea și stabilitatea reactivilor

Dacă sunt depozitați la 2-8°C, toți reactivii sunt stabili până la data de expirare de pe etichetă.

## Precauții

1. Reactivul este doar pentru diagnostic *in vitro*.
2. Nu îl aspirați cu pipeta trăgând cu gura.
3. Toate specițiile utilizate în acest test trebuie considerate potențial infecțioase. Trebuie utilizate măsurile de precauție universale aplicate în unitatea dumneavoastră pentru manipularea și eliminarea materialelor în timpul testării și după testare.
4. Nu utilizați reactivii după data de expirare imprimată pe eticheta setului.

## Recoltarea și depozitarea specițiilor

Specițiile recomandate sunt serul, plasma tratată cu EDTA sau plasma heparinizată. Nu este necesar ca pacienții să nu mănânce înainte de recoltarea sângelui.

Ser: Colectați sânge integral prin puncție venoasă și lăsați să se coaguleze. Centrifugați și eliminați serul cât mai curând posibil după recoltare (în interval de 3 ore).<sup>10</sup>

Plasmă: Specițiile pot fi colectate în EDTA sau heparină. Centrifugați și eliminați plasma cât mai curând posibil după recoltare (în interval de 3 ore).<sup>10</sup>

Dacă nu sunt analizate imediat, specițiile pot fi depozitate la 2-8°C până la 5 zile. Dacă specițiile trebuie depozitate pentru mai mult de 5 zile, acestea pot fi congelate la -80°C.

## Interacțiuni

Toate studiile de interferență au fost efectuate conform procedurilor recomandate în ghidul NCCLS nr. EP7-P pentru testarea interferențelor în chimia clinică.<sup>12</sup> S-a constatat că nivelurile de hemoglobină până la 400 mg/dL, nivelurile de bilirubină până la 20 mg/dL și nivelurile de trigliceride până la 1 500 mg/dL prezintă o interferență neglijabilă (<5%) în cazul acestei metode. Probele cu niveluri de substanțe interferente mai mari decât limitele superioare trebuie diluate cu ser fiziologic înainte de testare. Înmulțiți rezultatul obținut din diluția manuală cu

# Pointe autoLDL™ Cholesterol Set de reactivi

factorul de diluție corespunzător. Pentru o prezentare completă a interferenței substanțelor asupra nivelurilor serice de colesterol LDL, consultați Young, et al.<sup>13</sup>

## Materiale furnizate

| autoLDL™ Cholesterol Set de reactivi |              |
|--------------------------------------|--------------|
| Nr. catalog                          | 12-L7574-162 |
| Reactiv 1                            | 3 x 40 mL    |
| Reactiv 2                            | 3 x 14 mL    |

## Materiale necesare, dar nefurnizate

1. Analizorul Yumizen C230 / Yumizen C240
2. Manualul de utilizare al analizorului Yumizen C230 / Yumizen C240
3. Soluție de calibrare Pointe autoHDL/LDL™, Cat. Nr. H7545-CAL
4. Soluții de control Pointe Lipid, număr catalog L7580-18

## Procedură

Mai jos se află un exemplu general al procedurii de testare autoLDL™ pentru un analizor automat. Toate aplicațiile pentru analizoare trebuie validate în conformitate cu recomandările NCEP și CLIA.<sup>10</sup> Pentru asistență pentru aplicații pe analizoare automate, contactați Departamentul de asistență tehnică al HORIBA Medical la (800)445-9853.

$37^{\circ}\text{C}$                        $37^{\circ}\text{C}$   
 Probă + Reactiv 1 → Reactiv 2 → Măsurare (Diferență Diferență  
 3 uL    300 uL    5 min.    100 uL    5 min.    între 660 nm și 546 nm)



Rezultat LDL-C

## Parametrii testului

|               |             |                   |                     |
|---------------|-------------|-------------------|---------------------|
| Test:         | LDL         | Chimie:           | auto LDL Colesterol |
| Nr. chimie:   | 224         | Denumire:         | LDL Colesterol      |
| Tip reacție:  | Punct final | Direcție reacție: | Pozitivă            |
| Undă primară: | 546 nm      | Undă secundară:   | 670 nm              |
| Zecimal:      | 0           | Tip probă:        | Ser                 |
| Timp martor:  |             | Timp reacție:     | 16 18               |
| Unitate:      | mg/dL       | Timp de incubare: | 18                  |

|           | Vol. probă | Aspirat | Diluant | Vol. reactiv | Diluant |
|-----------|------------|---------|---------|--------------|---------|
| Standard; | 3          | uL      | uL      | 180 uL       | uL      |
| Redus;    |            | uL      | uL      | 60 uL        | uL      |
| Crescut;  |            | uL      | uL      | uL           |         |

|  |   |                             |
|--|---|-----------------------------|
| Interval linearitate (Standard); 0-370 | Limită linearitate:                     |                             |
| Interval linearitate (Redus):          | Depleția substratului:                  |                             |
| Interval linearitate (Crescut):        | Absorbanță martor amestecat: - 40000    | 40000                       |
| Absorbanță martor R1:                  | - 40000                                 | 40000                       |
| Reacție martor                         | - 40000                                 | 40000                       |
| Chimie twin:                           | Stabilitate în instrument: 30 Zi (zile) | Limită de alarmă reactiv: 5 |

| Verificare prozonă: |     |      |
|---------------------|-----|------|
| Q1:                 | Q2: | Q3:  |
| Q4:                 | PC: | ABS: |

Utilizare rezultat cantitativ:

Interval:

Marcaj:

Decalaj pantă:

Decalaj  
1

pantă  
0

Unitate  
g/dL

Tratare prealabilă:

Vol. probă pretrată:

uL

Vol. reactiv pretratat:

uL

Interval de referință:

Tip probă:

Sex:

Interval de vârstă:

Interval de referință:

Interval critic:

Unitate:

## Parametri configurare calibrare

Chem: LDL

Setare calibrare

Model matematic: Liniar în două puncte

Factor: Repetări: 2

Limite de acceptanță

Timp Cal: 336 hr.

Dif. pantă: SD:

Sensibilitate:

| Soluție de calibrare | Conc. | Poz | Nr. lot |
|----------------------|-------|-----|---------|
| Apă                  | 0,0   | W   |         |
| HDL LDL Cal          | *     | *   |         |
|                      |       |     |         |
|                      |       |     |         |

Repetabilitate:

\* Definit de utilizator

Coef. Deter:

Calib. automată

Timp Cal

## Limitări

1. Nu trebuie utilizate anticoagulante care conțin citrat.
2. Protejați reactivii de lumina solară directă.
3. Probele cu valori peste 370 mg/dL pe analizoarele din seria Yumizen 200 trebuie diluate 1:1 cu soluție salină și reanalizate. Înmulțiți rezultatul cu doi.

## Calibrarea

Este necesară soluție autoHDL/LDL™ Cholesterol pentru calibrare. Valorile soluției de calibrare au fost atribuite prin proceduri care pot fi urmărite conform Sistemului național de referință pentru colesterol (NRS/CHOL). Consultați prospectul soluției de calibrare autoHDL/LDL™ Cholesterol pentru instrucțiuni. Dacă rezultatele soluției de control sunt în afara limitelor, procedura trebuie recalibrată.

## Controlul calității

Fiabilitatea rezultatelor testelor trebuie monitorizată în mod obișnuit cu materiale de control care reproduc în mod rezonabil performanța probelor pacienților.<sup>10</sup> Materialele de control al calității sunt destinate doar utilizării ca indicatori de acuratețe și precizie. Recuperarea valorilor soluțiilor de control în intervalul corespunzător ar trebui să fie criteriul utilizat în evaluarea performanței viitoarelor analize. Soluțiile de control trebuie procesate în fiecare tură de lucru în care se efectuează teste de LDL-C. Recomandăm insistent ca fiecare laborator să își stabilească propria frecvență de determinare a soluției de control. Cerințele privind controlul calității trebuie stabilite în conformitate cu reglementările locale, statale și/sau federale sau cu cerințele de acreditare.

## Rezultate

Pentru a transforma unitățile convenționale în unități SI, înmulțiți unitățile convenționale cu 0,02586.

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

## Valori așteptate

Următoarele recomandări NCEP pentru clasificarea pacienților sunt sugerate pentru prevenirea și gestionarea bolii coronariene.<sup>8</sup>

**Clasificări colesterol LDL**

|                                  |                         |
|----------------------------------|-------------------------|
| <130 mg/dL (3,36 mmol/L)         | Dezirabil               |
| 130-159 mg/dL (3,36-4,11 mmol/L) | Borderline risc crescut |
| 160 mg/dL (4,14 mmol/L)          | Risc crescut            |

Recomandăm insistent ca fiecare laborator să își stabilească propriul interval de valori așteptate.

**Caracteristici de performanță**

**Interval test:** 0 - 370 mg/dL

**Acuratețe:** Studiile comparative între metoda reactivului Liquid autoLDL™ Cholesterol utilizată pe analizoarele din seria Yumizen 200 și un analizor similar au dat următoarele rezultate:

| Metodă                    | autoLDL™ Cholesterol |
|---------------------------|----------------------|
| N                         | 30                   |
| Colesterol LDL mediu      | 106                  |
| Interval (mg/dL)          | 50-159               |
| Abaterea standard (mg/dL) | 28                   |
| Analiza regresiei         | $Y=1,017x + 1,7$     |
| Coeficient de corelare    | $R=0,990$            |

**Precizie:**

Precizia pe parcursul zilei pentru reactivul autoLDL™ Cholesterol a fost determinată în urma unei modificări a documentului NCCLS EP5-T2<sup>17</sup> utilizându-se analizoare din seria Yumizen 200. Studiile de precizie pe parcursul zilei au generat următoarele rezultate:

| Probă                        | REDUSĂ | RIDICATĂ |
|------------------------------|--------|----------|
| N                            | 20     | 20       |
| Media LDL Colesterol (mg/dL) | 28     | 146      |
| Abaterea standard (mg/dL)    | 0,5    | 2,5      |
| Coeficient de variație (%)   | 1,7    | 1,7      |

Precizia de la o zi la alta a fost de asemenea determinată în urma unei modificări a documentului NCCLS EP5-T2.<sup>17</sup> Studiile de precizie de la o zi la alta realizate pe analizoarele din seria Yumizen 200 au generat următoarele rezultate:

| Probă                        | REDUSĂ | RIDICATĂ |
|------------------------------|--------|----------|
| N                            | 20     | 20       |
| Media LDL Colesterol (mg/dL) | 26     | 147      |
| Abaterea standard (mg/dL)    | 0,9    | 2,9      |
| Coeficient de variație (%)   | 3,3    | 2,0      |

**Sensibilitate:** Sensibilitate: 2 SD limita de detecție (CI 95%) = 0,627 mg/dL.

**Referințe**

- 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, Nr. 8, iunie 1984.
- Young, D.S. Effects of Drugs on clinical Laboratory Tests, 3<sup>rd</sup> 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.
- Documentul NCCLS „Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices”, Ed. a 2-a. 1992.

**Legendă simboluri**

|  |   |
|--|---|
| A se utiliza până la (AAAA-LL-ZZ)                                      | Cod lot și serie                                |
| Număr catalog  | Producător                                      |
| Dispozitiv medical pentru diagnostic <i>in vitro</i>                   | Limită de temperatură                           |
| Consultați instrucțiunile de utilizare                                 |   |
| <b>Rx Only:</b> Numai pentru utilizare pe bază de prescripție medicală |   |
| Marcaj CE  | Reprezentant autorizat în Comunitatea Europeană |

|              |  |  |  |
|--------------|--|--|--|
| 12-L7574-162 | Produs de HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand<br>5449 Research Drive Canton, MI 48188 |  |  |
|--------------|--|--|--|

Produs de HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand  
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Reprezentant autorizat în Europa:  
Obelis s.a.  
Boulevard Général Wahis 53  
1030 Bruxelles, BELGIA  
Tel: (32)2.732.59.54 Fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net

**Certificat pentru efectuarea reactivilor**

Reactivii Pointe sunt certificați ca fiind fabricați în conformitate cu parametrii specificați. Orice produs reactiv Pointe care nu îndeplinește specificațiile prin data de expirare indicată va fi remediat imediat fără niciun cost suplimentar.