

## Usso previsto

Determinazione quantitativa del colesterolo lipoproteico ad alta densità- nel siero o nel plasma umano utilizzando l'analizzatore Yumizen C560. 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. La funzione di queste particelle lipoproteiche è veicolare 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. Le varie classi sono: chilomicroni, lipoproteine a bassissima densità (VLDL), lipoproteine a bassa densità (LDL) e lipoproteine ad alta densità (HDL). Numerosi studi clinici hanno evidenziato che le particelle lipoproteiche hanno effetti diversi sul rischio di malattia coronarica.<sup>2</sup> Il ruolo delle particelle HDL nel metabolismo dei lipidi riguarda principalmente l'assorbimento e il trasporto del colesterolo dal tessuto periferico al fegato. Si tratta di un processo noto come trasporto inverso del colesterolo ed è stato individuato come meccanismo cardioprotettivo.<sup>3</sup> Bassi livelli di HDL-C sono stati ripetutamente associati a un aumento del rischio di coronaropatia e di patologie a carico delle arterie coronarie.<sup>4-9</sup> In virtù di ciò, la misurazione del colesterolo HDL nel siero si è affermata come strumento utile per identificare i pazienti ad alto rischio. Il programma nazionale di prevenzione sul colesterolo NCEP raccomanda che tutti gli adulti di età pari o superiore a 20 anni si sottopongano a test dei livelli di colesterolo totale e di colesterolo HDL almeno ogni 5 anni, in modo da effettuare uno screening del rischio di malattia coronarica.<sup>9</sup>

Il metodo di riferimento del CDC per il colesterolo HDL utilizza l'ultracentrifugazione seguita da precipitazione chimica per separare le HDL dalle altre lipoproteine. Infine, si esegue la misurazione del colesterolo mediante dosaggio di Abell-Kendall modificato.<sup>10</sup> Si tratta, tuttavia, di un metodo troppo dispendioso in termini di tempo e lavoro per essere utilizzato nelle analisi di routine.<sup>11</sup> Tradizionalmente, la maggior parte dei laboratori utilizzava uno dei diversi metodi per la precipitazione e la rimozione selettiva di LDL e VLDL, seguita dalla misurazione enzimatica dell'HDL-C nella frazione surnatante.<sup>10</sup> Poiché quasi tutti questi metodi richiedevano fasi di separazione manuale, le misurazioni del colesterolo HDL non potevano essere completamente automatizzate. Inoltre, a causa della diluizione del campione la determinazione enzimatica risultava avere una bassa sensibilità. È per questo che i dosaggi di routine del colesterolo HDL richiedevano tempi piuttosto lunghi e offrivano una scarsa riproducibilità.

## Principio

Il test liquido del colesterolo autoHDL™ è un metodo omogeneo per misurare direttamente i livelli di colesterolo HDL nel siero senza la necessità di pre-trattamento o centrifugazione off-line. Il sistema viene fornito in un formato a due reagenti. Il primo reagente contiene  $\alpha$ -ciclodestrina e destrano solfato per stabilizzare LDL, VLDL e chilomicroni. Il secondo reagente contiene enzimi modificati con PEG che reagiscono selettivamente con il colesterolo presente nelle particelle HDL. Quindi, viene misurato solo il colesterolo HDL.

## Reagenti

R1:  $\alpha$ -ciclodestrina 0,5 mM, destrano solfato 0,5g/L, cloruro di magnesio 2,0mM, HSDA 0,3 g/L, tampone, pH 7,0  $\pm$  0,1, conservante.

R2: POD >15.000 U/L, PEG-CO >5.000U/L, PEG-CE >800 U/L, 4-amminoantipirene 0,5 g/L, tampone, pH 7,0  $\pm$  0,1, tensioattivo, conservante.

HSDA = Sodio N-(2-idrossi-3-solfopropil)-3,5-dimetossilina

PEG-CO = Colesterolo ossidasi da Nocardia sp.

PEG-CE = Colesterolo esterasi da Pseudomonas

POD = Perossidasi da rafano

## 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

Se conservati a 2-8°C, i reagenti sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta del kit. Studi condotti dal produttore hanno dimostrato che, dopo essere stati inseriti nell'apposito caricatore refrigerato (2-10°C), i reagenti restano stabili per 30 giorni; tuttavia, la stabilità del reagente può variare in base alle condizioni dei singoli laboratori.

## Precauzioni e pericoli

1. Per fini diagnostici *in vitro*.
2. Non pipettare per bocca.
3. 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.
4. Non utilizzare il reagente oltre la data di scadenza riportata sulla confezione.

## Pericoli:

**R1 e R2:** Classificazione dei pericoli: Sostanza o miscela non pericolosa.

Icone: Non necessarie.

Parole segnale: Non necessarie.

Indicazioni di pericolo: Sostanza o miscela non pericolosa.

Consigli di prudenza: Sostanza o miscela non pericolosa.

**Consultare la Scheda di sicurezza del prodotto (SDS-H7545) disponibile chiamando il numero: 1-734-487-8300.**

## Raccolta e conservazione dei campioni

Si raccomanda di raccogliere siero, plasma trattato con EDTA o eparinizzato.

Siero: prelevare il sangue intero mediante puntura venosa e lasciarlo coagulare. Dopo il prelievo, centrifugare e rimuovere il siero appena possibile (entro 3 ore).<sup>10</sup>

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

Se non vengono analizzati subito, i campioni possono essere conservati a 2-8°C per 1 settimana. Ove fosse necessario conservarli per più di 1 settimana, li si può riporre in frigorifero per 1 mese al massimo. In previsione di periodi di conservazione per un periodo variabile da 1 mese a 2 anni, conservare i campioni a -70°C.<sup>10</sup>

# Kit reagenti Colesterolo autoLDL™ Pointe

## Interferenze

Tutti gli studi sulle interferenze sono stati eseguiti applicando le procedure raccomandate dalle linee guida NCCLS n. EP7-P.<sup>12</sup> Si è visto che livelli di emoglobina fino a 100 mg/dl e di bilirubina fino a 20mg/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. Per una rassegna degli effetti dei farmaci sui livelli sierici di colesterolo HDL si rimanda al lavoro di Young.<sup>13</sup>

## Materiali in dotazione

Kit reagenti liquidi per colesterolo autoHDL™

## Materiali necessari non in dotazione

1. Calibratore per colesterolo autoHDL/LDL
2. Controlli per colesterolo HDL
3. Analizzatore Yumizen C560
4. Manuale utente per l'analizzatore Yumizen C560

## Procedura

Tutte le applicazioni dell'analizzatore devono essere convalidate secondo le raccomandazioni NCEP e CLIA.<sup>10</sup> Per ricevere assistenza sulle applicazioni degli analizzatori automatici, contattare il servizio di assistenza tecnica.

## Limitazioni

1. Non utilizzare anticoagulanti contenenti citrato.
2. Proteggere i reagenti dalla luce solare diretta.
3. Conservare i reagenti come indicato nelle rispettive istruzioni.
4. I campioni con valori superiori a 150 mg/dl 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 autoHDL/LDL™ sono stati assegnati mediante procedure tracciabili dal Sistema Nazionale di Riferimento per il Colesterolo (NRS/CHOL). Per istruzioni, consultare il foglietto illustrativo del calibratore per colesterolo autoHDL/LDL™. Se i risultati del controllo risultano fuori range, potrebbe essere necessario effettuare una ricalibrazione. Gli studi sulla stabilità della calibrazione condotti dal produttore mostrano che, in condizioni operative classiche, la curva di calibrazione resta stabile per almeno 14 giorni.

## Controllo qualità

L'affidabilità dei risultati di analisi va monitorata regolarmente con materiali di controllo che riproducano adeguatamente le caratteristiche dei campioni dei pazienti.<sup>10</sup> I materiali per il controllo qualità sono utilizzabili solo per monitorare accuratezza e precisione. Il National Cholesterol Education Program (NCEP) Lipid Standardization Panel (LSP) raccomanda di utilizzare due livelli di controlli, uno nell'intervallo di normalità (35-65 mg/dl) e uno con concentrazioni che possono richiedere un intervento (<35mg/dl). È opportuno definire un intervallo di valori di colesterolo HDL accettabili per i controlli, eseguendo analisi ripetute. 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 materiali per il controllo qualità sono utilizzabili solo per monitorare accuratezza e precisione. I controlli vanno eseguiti in ogni turno in cui si effettuano analisi del colesterolo HDL. 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 con i requisiti di accreditamento.

## Risultati

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

$\text{mg/dL} \times 0,02586 = \text{mmol/L colesterolo HDL}$

## Valori attesi

I valori attesi per il colesterolo HDL sierico sono<sup>14</sup>:

Uomini: 30-70 mg/dl

Donne: 30-85 mg/dl

Si raccomanda a tutti i laboratori di definire un proprio intervallo di valori attesi.

Secondo il NCEP, valori HDL maggiori o uguali a 35 mg/dl sono considerati auspicabili e valori maggiori o uguali a 60 mg/dl sono considerati in grado di offrire una certa protezione contro le patologie coronariche. Valori inferiori a 35 mg/dl sono considerati un fattore di rischio indipendente significativo per patologie coronariche.<sup>9</sup>

## Caratteristiche delle prestazioni

1. Intervallo di analisi: 2-150 mg/dl
2. Accuratezza: Studi comparativi tra l'utilizzo del metodo autoLDL™ su analizzatori Yumizen C560 e analizzatori simili hanno prodotti i seguenti risultati:

Metodo	HDL
N	81
HDL medio (mg/dL)	51,2
Intervallo (mg/dL)	5-140
Deviazione standard	29,0
Analisi di regressione	$y = 0,982x + 0,4$
Coefficiente di correlazione	0,9975

3. Precisione: La precisione intragiornaliera del reagente liquido autoLDL™ è stata determinata in base a una modifica del documento EP5-T2-15 dell'NCCLS utilizzando analizzatori Yumizen C560.

Intra-giorn.				Totale			
Campione	BASSA	MEDIA	ALTA	Campione	BASSA	MEDIA	ALTA
N	20	20	20	N	40	40	40
Media	32,6	67,7	135,6	Media	32,8	67,4	132,6
Deviazione standard	0,6	0,7	0,8	Deviazione standard	6,6	0,6	1,2
Coefficiente di variazione (%)	1,8%	1,1%	0,6%	Coefficiente di variazione (%)	1,9%	1,8%	5,0%

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

### Riferimenti bibliografici

1. Gotto A.M., Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia, Hospital practice, 23:Suppl.1.4 (1988).
2. 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).
3. 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, 1990; 85:1234-41.
4. Castelli, W.P., et al, Cholesterol and other lipids in coronary heart disease, Circulation, 55:767 (1977).
5. Barr, D.P., Russ E.M., Eder H.A., Protein-lipid relationships in human plasma, Am. J. Med. 11:480 (1951).
6. Gordon, T., et al, High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease, Am. J. Med., 62:707 (1977).
7. Williams, P., Robinson D., Baily A., High density lipoprotein and coronary risk factor, Lancet, 1:72 (1979).
8. Kannel W.B., Castelli W.P, Gordon, T., Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease; New perspectives based on the Framingham study, Am. Intern. Med., 90:85 (1979).
9. National Institute on Health publication No. 93-3095, September 1993.
10. 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).
11. 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.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation Protocol Number 7, Vol.4, No. 8, June 1984.
13. Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 3<sup>rd</sup>. Ed., AACC Press, Washington DC, 1990, 3-104 thru 3-106.
14. Tietz, N.W., Clinical Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1986, p.256.
15. Documento NCCLS "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices" 2<sup>nd</sup> Ed. 1992.

# Kit reagenti Colesterolo autoLDL™ Pointe

## PARAMETRI CHIMICI

Analisi chim.:	HDL	N.	218	Tipo campione:	Siero
Denominazione:	Colesterolo autoHDL			Nome etichetta:	HDL
Tipo reazione:	T. fisso			Direzione reazione:	Positiva
Lungh. d'onda prim.:	605			Lungh. d'onda sec.:	660
Unità:	mg/dL			Decimale	0
T. bianco:	47    49			T. reazione:	51    82
	Vol. campione	Aspirato	Diluyente	Vol. reagente	Diluyente
Standard:	2.0 ul	--- ul	--- ul	R1:	120 ul    --- ul
Decremento:	--- ul	--- ul	--- ul	R2:	40 ul    -- ul
Incremento:	--- ul	--- ul	--- ul	R3:	--- ul    -- ul
	<input type="checkbox"/> Bianco camp.	<input checked="" type="checkbox"/> Ripetiz. automat.		R4:	--- ul    --- ul
<b><u>Regolazione pendenza/ Offset</u></b>					
Pendenza: 1		Offset: 0			

Intervallo linearità (standard)	2	150	Limite linearità:
Intervallo linearità (decremento)	---	---	Esaurim. substrato:
Intervallo linearità (incremento)	---	---	Assorb bianco mix:
Assorb. bianco R1:	---	---	T. apertura
Risp. bianco:	---	---	Limite allarme reag.:
Doppia chim.:			<input type="checkbox"/> Est. Lineare enzimi
<input type="checkbox"/> Controllo eff. prozona		<input type="radio"/> Controllo livello	<input type="radio"/> Aggiunta antigene
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:
PC:	ABS:		

**PAMETRI DI CALIBRAZIONE**

<b>Definizione calibratore</b>						
Calibratore:	*			N. lotto:	*	
Data di scadenza:	*					
<b>Caricatore</b>						
		<b>Pos.</b>				
Caricatore campioni 1		*				
Caricatore campioni 2						
Caricatore campioni 3						
<b>Reagente/calibrazione</b>						
<u>Calibratore</u>	<u>Pos.</u>	<u>N. lotto</u>	<u>Data scad.</u>	<u>Analisi</u>	<u>Conc.</u>	<u>Unità</u>
Acqua	W	*	*	HDL	0	mg/dL
autoHDL/LDL Calibrator	*	*	*	HDL	*	mg/dL
<b>Configurazione calibrazione</b>						
Analisi chim.:		HDL				
<u>Impostazioni calibr.</u>						
Modello mat.:	lineare a 2 punti					
Fattore:		Repliche: 2				
<u>Limiti accettabilità</u>						
T. calibr.:	336	h				
Diff. pendenza:	---	DS:		---		
Sensibilità:	---	Ripetibilità:		---		
Coeff. deter.:	---					
<u>Calibr. autom.</u>						
<input type="checkbox"/> Cambio fiasco	<input type="checkbox"/> Cambio lotto	<input type="checkbox"/> Ora cal.				

Si raccomanda di analizzare quotidianamente due livelli di materiale di controllo.

\* Indica un parametro definito dall'utente.

**REF** 14-H7545-300

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

**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.

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


**Legenda**


Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)



Codice lotto e gruppo



N.



Fabbricante



Limitazioni di temperatura



Consultare il manuale di istruzioni