

Uso previsto

Determinazione quantitativa diretta del colesterolo lipoproteico a bassa densità (LDL-C) nel siero o nel plasma umano utilizzando l'analizzatore Yumizen C560. **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),²⁻⁸ 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 poter eseguire la misura del colesterolo e questo lo rende inadatto alla completa automazione della procedura. Il metodo qui presentato permette di determinare direttamente il colesterolo LDL in un reagente liquido stabile a due componenti, una procedura facilmente adattabile alla maggior parte degli analizzatori chimici automatizzati.

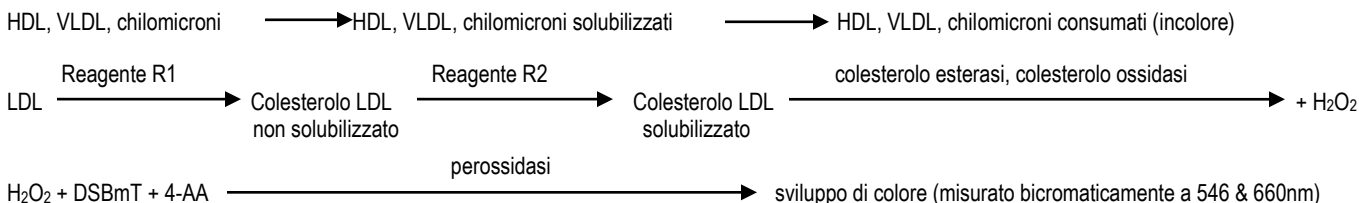
Composizione dei reagenti

Componenti	Aspetto	Ingredienti
Reagente 1	Liquido	Tampone MES (pH 6,3)
		Detergente 1, Colesterolo esterasi, Colesterolo ossidasi, Perossidasi, 4-aminoantipirina, Acido ascorbico ossidasi, Conservante
Componenti	Aspetto	Ingredienti
Reagente 2	Liquido	Tampone MES (pH 6,3)
		Detergente 2, N,N-bis (4-sulfobutil)-m-toluidina-disodio, (DSBmT), Conservante

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 incolore. 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

Se conservati a 2-8°C, i reagenti sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta. 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

1. Il reagente può essere utilizzato esclusivamente a 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 i reagenti oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta del kit.

Pericoli:

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

Icone e parole segnaletiche: 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-L7574) disponibile chiamando il numero: 1-734-487-8300.

Kit reagenti Colesterolo autoLDL™ Pointe

Raccolta e conservazione dei campioni

Si raccomanda l'uso di campioni di siero, plasma trattato con EDTA o eparinizzati. 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 1380 mg/dl hanno un'interferenza trascurabile (<10%) 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

Reagente autoLDL R1, Reagente autoLDL R2

Materiali necessari non in dotazione

1. Calibratore autoHDL/LDL™, n. cat. H7545-CAL
2. Analizzatore Yumizen C560
3. Manuale utente per l'analizzatore Yumizen C560
4. Controllo lipidico, numero di catalogo L7580-18

Procedura

Tutte le applicazioni dell'analizzatore devono essere convalidate secondo le raccomandazioni NCEP e CLIA.¹⁰ Per assistenza sulle applicazioni degli analizzatori automatici, contattare l'assistenza tecnica di HORIBA Medical al numero (800) 445-9853.

Limitazioni

1. Non utilizzare anticoagulanti contenenti citrato.
2. Proteggere i reagenti dalla luce solare diretta.
3. I campioni con valori superiori a 650 mg/dl sullo Yumizen C560 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™. 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.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 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

<u>Colesterolo LDL</u>	<u>Classificazioni</u>
<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- 650 mg/dL.
- Correlazione: È stato condotto uno studio comparativo tra l'impiego dell'analizzatore Yumizen C560 e di un analizzatore simile per l'applicazione del metodo. I risultati sono riportati nella tabella sottostante:

Metodo	LDL
N	80
LDL medio (mg/dL)	105,4
Intervallo (mg/dL)	8-238
Deviazione standard	53,4
Analisi di regressione	$y = 1.086x - 5.8$
Coefficiente di correlazione	0,9841

- Precisione: Gli studi sulla precisione sono stati condotti seguendo una modifica delle linee guida contenute nel documento EP5-T2 dell'istituto NCCLS.¹²

Campione	Intra-giorn.			Totale		
	BASSA	MEDIA	ALTA	BASSA	MEDIA	ALTA
N	20	20	20	40	40	40
Media	183,0	251,7	538,6	188,2	257,6	563,2
Deviazione standard	1,4	1,6	9,6	9,8	12,5	26,0
Coefficiente di variazione (%)	0,8%	0,6%	1,8%	5,2%	4,8%	4,6%

- Sensibilità: 2SD limite di rilevabilità (95% conf) = 0 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.
- Documento NCCLS "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices" 2nd Ed. 1992.

Kit reagenti Colesterolo autoLDL™ Pointe

PARAMETRI CHIMICI

Analisi chim.:	LDL	N.	224	Tipo campione:	Siero
Denominazione:	Colesterolo autoLDL			Nome etichetta:	LDL
Tipo reazione:	End Point			Direzione reazione:	Positiva
Lungh. d'onda prim.:	546			Lungh. d'onda sec.:	660
Unità:	mg/dL			Decimale	0
T. bianco:	47 48			T. reazione:	80 82
	Vol. campione	Aspirato	Diluyente	Vol. reagente	Diluyente
Standard:	1.5 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
<u>Regolazione pendenza/ Offset</u>					
	Pendenza: 1		Offset: 0		

Intervallo linearità (standard)	0	650	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

Definizione calibratore

Calibratore: * N. lotto: *
Data di scadenza: *

Caricatore

Pos.

Caricatore campioni 1
Caricatore campioni 2
Caricatore campioni 3

*

Reagente/calibrazione

<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	*	*	LDL	0	mg/dL
Calibr.autoHDL/LDL	*	*	*	LDL	*	mg/dL

Configurazione calibrazione

Analisi chim.: LDL

Impostazioni calibr.

Modello mat.: Two-Point Linear

Fattore: Repliche: 2

Limiti accettabilità

T. calibr.: 336 h
Diff. pendenza: --- DS: ---
Sensibilità: --- Ripetibilità: ---
Coeff. deter.: ---

Calibr. autom.

Cambio flacone Cambio lotto Ora cal.

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

* Indica un parametro definito dall'utente.

REF 14-L7574-320



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) **LOT** Codice lotto e gruppo **REF** N. catalogo

 Fabbricante  Limitazioni di temperatura

 Consultare il manuale di istruzioni