

## Utilizarea prevăzută

Pentru determinarea cantitativă directă a colesterolului cu lipoproteine cu densitate scăzută (LDL-C) în serul sau plasma umană cu ajutorul analizorului Yumizen C560. **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.

Proportțiile 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 patogeneza 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

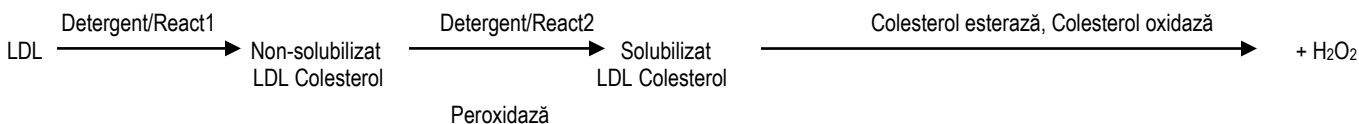
Componente	Aspectul	Ingrediente
Reactiv 1	Lichid	Soluție tampon MES (pH 6,3)
		Detergent 1, colesterol esterază, colesterol oxidază, peroxidază, 4-aminoantipirină, oxidaza acidului ascorbic, conservant
Componente	Aspectul	Ingrediente
Reactiv 2	Lichid	Soluție tampon MES (pH 6,3)
		Detergent 2, N,N-bis (4-sulfobutil)-m-Toluidin-disodiu, (DSBmT), 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, Chilomicroni → HDL solubilizat, VLDL, Chilomicroni → HDL consumat, VLDL, Chilomicroni (fără culoare)



$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{DSBmT} + 4\text{-AA} \xrightarrow{\text{Peroxidază}} \text{Dezvoltare culoare (măsurat bicromatic la 546 și 660nm)}$

## 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 indicată pe etichetă. Studiile producătorului au arătat că reactivul este stabil timp de 30 de zile dacă este amplasat la frigider, în caruselul pentru reactivi (2-10°C), totuși stabilitatea reactivului poate varia în funcție de condițiile individuale ale laboratorului.

## 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.

## Pericole:

**R1 și R2:** Clasificarea pericolelor: Nu este substanță periculoasă sau amestec periculos.

**Pictogramă și cuvânt de avertizare:** Nu este necesară.

# Pointe autoLDL™ Cholesterol Set de reactivi

Fraze de pericol: Nu este substanță periculoasă sau amestec periculos.

Fraze de precauție: Nu este substanță periculoasă sau amestec periculos.

**Consultați fișa cu date de securitate a acestui produs (SDS-L7574) disponibilă prin apel la 1-734-487-8300.**

## Recoltarea și depozitarea speci­menelor

Specimenele 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: Speci­menele 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, speci­menele pot fi depozitate la 2-8°C până la 5 zile. Dacă speci­menele 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 1380 mg/dL prezintă o interferență neglijabilă (<10%) 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 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

Reactiv R1 autoLDL, reactiv R2 autoLDL

## Materiale necesare, dar nefurnizate

1. Soluție de calibrare autoHDL/LDL™, Cat. Nr. H7545-CAL
2. Analizorul Yumizen C560
3. Manualul de utilizare Yumizen C560
4. Soluții de control pentru lipide, număr catalog L7580-18

## Procedură

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.

## Limitări

1. Nu trebuie utilizate anticoagulante care conțin citrat.
2. Protejați reactivii de lumina solară directă.
3. Probele cu valori peste 650 mg/dL pe analizorul Yumizen C560 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, poate fi necesară recalibrarea testului. În condiții de funcționare tipice, studiile producătorului privind stabilitatea calibrării au indicat că curba de calibrare va fi stabilă timp de cel puțin 14 zile.

## 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 specifice

- Interval test: 0-650 mg/dL.
- Corelare: S-a realizat un studiu comparativ între Yumizen C560 și un analizor similar cu această metodă, cu următoarele rezultate:

Metodă	LDL
N	80
LDL mediu (mg/dL)	105,4
Interval (mg/dL)	8-238
Abaterea standard	53,4
Analiza regresiei	$y = 1.086x - 5.8$
Coeficient de corelare	0,9841

- Precizie: S-au realizat studii de precizie în urma unei modificări a liniilor directe incluse în documentul NCCLS EP5-T2.<sup>12</sup>

Probă	În cursul zilei			Total		
	REDUSĂ	MEDIE	RIDICATĂ	REDUSĂ	MEDIE	RIDICATĂ
N	20	20	20	40	40	40
Medie	183,0	251,7	538,6	188,2	257,6	563,2
Abaterea standard	1,4	1,6	9,6	9,8	12,5	26,0
Coeficient de variație (%)	0,8%	0,6%	1,8%	5,2%	4,8%	4,6%

- Sensibilitate: 2 SD limita de detecție (CI 95%) = 0 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.

**Pointe  
autoLDL™ Cholesterol  
Set de reactivi**

**PARAMETRI CHIMICI**

Chem:	LDL	Nr.:	224	Tip probă:	Ser
Chimie:	Colesterolul autoLDL			Denumire:	LDL
Tip reacție:	Punct final			Direcție reacție:	Pozitiv
Undă primară:	546			Undă secundară:	660
Unitate:	mg/dL			Zecimal	0
Timp martor:	47      48			Timp reacție:	80      82
	Volum probă	Aspirat	Diluant	Volum reactiv	Diluant
Standard:	1,5 uL	--- uL	--- uL	R1: 120 uL	--- uL
Redus:	--- uL	--- uL	--- uL	R2: 40 uL	-- uL
Crescut:	--- uL	--- uL	--- uL	R3: --- uL	-- uL
	<input type="checkbox"/> Probă martor	<input checked="" type="checkbox"/> Reprocesare automată		R4: --- uL	--- uL
<b><u>Ajustare pantă/decalaj</u></b>					
Pantă: 1		Decalaj: 0			

Interval linearitate (Standard)	0	650	Limită linearitate:
Interval linearitate (Redus)	---	---	Depleția substratului:
Interval linearitate (Crescut)	---	---	Absorbanță martor amestecat:
Absorbanță martor R1:	---	---	Timp fără capac
Reacție martor:	---	---	Limită de alarmă reactiv:
Chimie twin:			<input type="checkbox"/> Extensie enzimatică liniară
<input type="checkbox"/> Verificare prozonă		<input type="radio"/> Verificare viteză	<input type="radio"/> Adăugare antigen
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:
PC:	ABS:		

