

ABX Pentra LDL Direct CP

REF A11A01638

REAGENT 1 28 mL

REAGENT 2 10 mL



IVD CE

HORIBA ABX SAS
Parc Euromédecine
Rue du Caducée
BP 7290
34184 Montpellier Cedex 4
FRANCE

■ Pentra C400

Reagente diagnostico per la determinazione quantitativa *in vitro* del colesterolo legato alle lipoproteine a bassa densità (LDL-C) in siero o plasma mediante colorimetria.

Versione dell'applicazione

Siero, plasma: C_LDL

1.xx

Uso previsto

ABX Pentra LDL Direct CP è un reagente diagnostico per la determinazione quantitativa *in vitro* del colesterolo legato alle lipoproteine a bassa densità (LDL-C) in siero e plasma umano basato su un dosaggio colorimetrico enzimatico. Le misurazioni delle lipoproteine vengono utilizzate nella diagnosi e nel trattamento delle alterazioni lipidiche, dell'aterosclerosi e delle diverse disfunzioni renali ed epatiche.

Aspetti di interesse clinico

Le lipoproteine del plasma sono particelle sferiche che contengono diverse quantità di colesterolo, trigliceridi, fosfolipidi e proteine. Il fosfolipide, il colesterolo libero e la proteina costituiscono la superficie esterna della particella lipoproteica, mentre il nucleo interno contiene soprattutto il colesterolo esterificato e i trigliceridi. Queste particelle servono a solubilizzare e trasportare il colesterolo e i trigliceridi nel sangue.

Le proporzioni relative di proteine e lipidi determinano la densità di queste lipoproteine e forniscono la base su cui avviare la loro classificazione (1). Sono presenti le seguenti classi: chilomicroni, VLDL (very low density lipoproteins) o lipoproteine a bassissima densità, LDL (low density lipoproteins) o lipoproteine a bassa densità e HDL (high density lipoproteins) o lipoproteine ad alta densità. Vari studi clinici hanno dimostrato che le diverse classi di lipoproteine presentano tratti distintivi molto marcati e

influiscono diversamente sul rischio di patologia cardiaca coronarica (2, 3, 4). Tutti gli studi individuano il colesterolo LDL quale fattore principale nella patogenesi dell'aterosclerosi e dell'arteriopatia coronarica (CAD) (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8), mentre è emerso l'effetto protettivo del colesterolo HDL. Anche entro i limiti di normalità delle concentrazioni di colesterolo totale, un aumento del colesterolo LDL può verificarsi in concomitanza con un aumento del rischio di CAD (4).

Metodo

L'analisi mediante **ABX Pentra LDL Direct CP** è un metodo omogeneo di misurazione diretta dei livelli di LDL-C nel siero e nel plasma che evita di ricorrere a procedure di pretrattamento o centrifugazione off-line. Il metodo prevede l'uso di due reagenti e dipende dalle proprietà di un unico detergente. Il detergente (Reagente 1) consente di solubilizzare soltanto le particelle delle proteine diverse dalle LDL. Il colesterolo rilasciato viene consumato dalla colesterolo esterasi e dalla colesterolo ossidasi in una reazione che non genera colori. Un secondo detergente (Reagente 2) solubilizza le particelle di LDL restanti, mentre un accoppiatore cromogenico consente la formazione di colori. La reazione dell'enzima con il colesterolo LDL in presenza dell'accoppiatore produce un colore proporzionale alla quantità di LDL-C presente nel campione.

Reagents

ABX Pentra LDL Direct CP è pronto per l'uso.

ABX Pentra LDL Direct CP

Reagente 1 (R1):

Tampone	
Detergente 1	< 1,0%
Colesterolo esterasi	< 1500 U/L
Colesterolo ossidasi	< 1500 U/L
Perossidasi	< 1300 ppg U/L
4-amminoantipirina (4-AAP)	< 0,1%
Acido ascorbico ossidasi	< 3000 U/L
Conservante	

Reagente 2 (R2):

Tampone pH 6,3	
Detergente 2	< 1,0%
N,N-bis(4-solfobutil)-toluidina, disodio (DsBmT)	< 1,0 mmol/L
Conservante	

ABX Pentra LDL Direct CP deve essere utilizzato in conformità alle presenti indicazioni. Il produttore non garantisce le prestazioni in caso di utilizzo non conforme.

Manipolazione

1. Rimuovere entrambi i coperchi della cassetta.
2. Eliminare l'eventuale schiuma utilizzando una pipetta di plastica.
3. Collocare un coperchio protettivo, Rif. GBM0969, sul reagente 1 e sul reagente 2.
4. Collocare la cassetta nel comparto refrigerato dei reagenti di Pentra C400.

Calibratore

Ai fini della calibrazione, utilizzare gli elementi descritti di seguito.

ABX Pentra LDL Cal (A11A01678) (non incluso)
2 x 1 mL (liofilizzato)

Controllo ^a

Ai fini del controllo qualità interno, utilizzare gli elementi descritti di seguito:

- **ABX Pentra N MultiControl** (1300054414) (non incluso)
10 x 5 mL (liofilizzato)

- **ABX Pentra P MultiControl** (1300054415) (non incluso)
10 x 5 mL (liofilizzato)

Analizzare ogni controllo quotidianamente e/o dopo una calibrazione.

La frequenza dei controlli e i limiti di fiducia devono essere conformi alle istruzioni di laboratorio e alle direttive specifiche del singolo paese. Per l'analisi dei materiali di controllo della qualità, attenersi alle disposizioni nazionali, regionali e locali. I risultati devono essere compresi nel range dei limiti di fiducia definiti. Ciascun laboratorio è tenuto a fissare una procedura da seguire nel caso in cui i risultati oltrepassino detti limiti di fiducia.

Materiali necessari non in dotazione ^a

- Analizzatore automatico di chimica clinica: Pentra C400
- Calibratore: **ABX Pentra LDL Cal** (A11A01678)
- Controlli:
 - ABX Pentra N MultiControl** (1300054414)
 - ABX Pentra P MultiControl** (1300054415)
- Soluzione detergente: **ABX Pentra Deproteinizer CP** (A11A01754), 29 mL
- Attrezzature standard per laboratorio.

Campione ^b

La popolazione a cui è destinato questo dispositivo è la popolazione generale.

Tipi di campioni

- Siero.
- Plasma in litio eparina.

Gli anticoagulanti non riportati nell'elenco non sono stati testati da HORIBA Medical. Il loro utilizzo con questa analisi è pertanto sconsigliato.

I suddetti campioni devono essere prelevati da pazienti a digiuno da 12-14 ore.

Stabilità (9)

- Siero: prelevare il sangue mediante venipuntura e farlo coagulare. Centrifugare e rimuovere il siero quanto prima dopo il prelievo (entro 3 ore).
- Plasma: centrifugare e rimuovere il plasma quanto prima dopo il prelievo (entro 3 ore).

^aModifica: il controllo è stato rimosso.

^bModifica: modifica del paragrafo "Campione".

ABX Pentra LDL Direct CP

- A 20-25°C: 1 giorno
- A 4-8°C: 7 giorni
- A -20°C: 3 mesi

Range di riferimento (10) ^c

Ogni laboratorio deve determinare i propri range di riferimento. I valori forniti in questo documento sono puramente indicativi.

Per la prevenzione e la gestione delle cardiopatie coronariche viene utilizzata la classificazione dei pazienti del National Cholesterol Education Program (NCEP).

Colesterolo-LDL	Classificazione
< 130 mg/dL (< 3,36 mmol/L)	Auspicabile
130 - 159 mg/dL (3,36 - 4,11 mmol/L)	Limite rischio elevato
160 mg/dL (4,14 mmol/L)	Rischio elevato

La sensibilità e la specificità clinica, il valore predittivo positivo e il valore predittivo negativo non vengono comunemente riportati per questo analita. Ciò è in gran parte dovuto al fatto che questo analita non è l'unico indicatore per lo scopo previsto e la decisione di trattamento del paziente. Per arrivare a una diagnosi e a un corso di trattamento, è necessario utilizzare i risultati di altri esami clinici di laboratorio di routine insieme ad altre informazioni diagnostiche e alla valutazione delle condizioni del paziente da parte del medico curante.

Conservazione e stabilità^d

Stabilità prima dell'apertura:

Stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta se conservato a una temperatura di 2-8°C. Conservare lontano dalla luce.

Stabilità dopo l'apertura:

Vedere il paragrafo "Prestazioni con Pentra C400".

Non congelare.

Gestione dei rifiuti

Attenersi alle disposizioni locali.

^c Modifica: aggiunta di informazioni.

^d Modifica: modifica della conservazione e della stabilità.

^e Modifica: modifica delle precauzioni di carattere generale.

^f Modifica: aggiunta di un capitolo.

Precauzioni di carattere generale ^e

- Il reagente può essere utilizzato esclusivamente da esperti a fini diagnostici *in vitro*. Per uso in laboratorio.
- Solo per l'uso previsto.
- Questo reagente è classificato come non pericoloso in conformità alla direttiva (CE) 1272/2008.
- **Reagente 1 (R1):**
Avvertenza: questo reagente è derivato da sostanze di origine animale. Deve pertanto essere trattato come potenzialmente infetto e deve essere manipolato con la dovuta cautela in conformità alle buone pratiche di laboratorio (11).
 - Non pipettare con la bocca.
 - Non rabboccare i reagenti.
 - Non ingerire. Evitare il contatto con la cute e con le membrane mucose.
 - Rispettare le precauzioni per l'uso standard di laboratorio.
 - Le cassette di reagenti sono monouso e devono essere eliminate in conformità alle disposizioni locali.
 - Consultare la scheda di sicurezza specifica del reagente.
 - Non utilizzare il prodotto se vi sono segni evidenti di deterioramento biologico, chimico o fisico.
 - Non utilizzare il prodotto in caso di mancato rispetto delle condizioni di conservazione raccomandate, inclusa la temperatura.
 - L'operatore deve essere formato da un rappresentante HORIBA Medical prima di provare a utilizzare il dispositivo.
 - L'utente è tenuto a verificare che il presente documento faccia riferimento al reagente utilizzato.
 - Per l'assistenza tecnica, contattare il numero +33 (0)4 67 14 15 16.
 - Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo dovrà essere segnalato al produttore e all'autorità competente dello stato in cui si trova l'operatore e/o il paziente.

Prestazioni con Pentra C400

Variabilità da un lotto all'altro ^f

Il recupero di campioni (siero e plasma) eseguito durante il rilascio QC di tre lotti consecutivi di reagente mostra

ABX Pentra LDL Direct CP

che la variabilità tra i lotti rientra entro i limiti delle specifiche: < 10%.

Siero, plasma

I dati sulle prestazioni di seguito elencati sono rappresentativi delle prestazioni con i sistemi HORIBA Medical.

La conformità del dosaggio agli standard di laboratorio CRMLN non è stata testata né certificata.

Numero di analisi: 100 analisi

Stabilità del reagente caricato

Una volta aperta, la cassetta dei reagenti collocata nel comparto refrigerato di Pentra C400 è stabile per 97 giorni.

Volume del campione: 2,4 µL/test

Limite di rilevabilità ^g

Il limite di rilevabilità viene determinato in base al protocollo CLSI (NCCLS), EP17-A2 (12) ed equivale a 0,0259 mmol/L (1,00 mg/dL).

Limite di quantizzazione ^h

Il limite di quantizzazione viene determinato in base al protocollo CLSI (NCCLS), EP17-A2 (12) ed equivale a 0,04 mmol/L (1,55 mg/dL).

Accuratezza e precisione

Ripetibilità (precisione intra-serie)

Ripetibilità in conformità alle indicazioni fornite nel protocollo Valtec (13) con campioni testati 20 volte:

- 2 controlli
- 3 campioni (livelli bassi / medi / alti)

	Valore medio mmol/L	Valore medio mg/dL	CV %
Campione di controllo 1	1,58	61,26	1,01
Campione di controllo 2	1,94	75,08	2,82
Campione 1	2,88	111,26	0,91

	Valore medio mmol/L	Valore medio mg/dL	CV %
Campione 2	3,66	141,45	1,00
Campione 3	4,94	191,16	0,63

Riproducibilità (precisione complessiva)

Riproducibilità in conformità alle indicazioni fornite nel protocollo CLSI (NCCLS), EP5-A2 (14) con campioni analizzati in duplice test per 20 giorni (2 serie al giorno):

- 2 controlli
- 2 campioni (livelli medi / alti)

	Valore medio mmol/L	Valore medio mg/dL	CV %
Campione di controllo 1	1,57	60,64	5,6
Campione di controllo 2	1,92	74,27	6,4
Campione 1	4,05	156,58	3,9
Campione 2	4,95	191,62	4,0

Intervallo di misurazione ⁱ

L'analisi ha confermato un intervallo di misurazione compreso tra 0,04 mmol/L (1,55 mg/dL) e 10 mmol/L (387 mg/dL).

La linearità del reagente è stata valutata fino a 10 mmol/L (387 mg/dL) secondo le raccomandazioni del protocollo CLSI (NCCLS), EP06-Ed2 (15).

Correlazione ^j

Campioni di pazienti: Siero

Numero di campioni paziente: 120

I campioni sono stati messi a confronto prendendo come riferimento un reagente disponibile in commercio in conformità alle indicazioni fornite nel protocollo CLSI (NCCLS), EP09c (16).

I valori presentano variazioni comprese tra 0,15 mmol/L (5,81 mg/dL) e 9,40 mmol/L (363,78 mg/dL).

Di seguito è riportata l'equazione per la linea allometrica ottenuta mediante la regressione di Passing-Bablok (17):

$$Y = 0,9541 X - 0,0081 \text{ (mmol/L)}$$

$$Y = 0,9541 X - 0,3140 \text{ (mg/dL)}$$

con coefficiente di correlazione $r^2 = 0,995$.

^gModifica: modifica del limite di rilevamento.

^hModifica: aggiunta di dati.

ⁱModifica: modifica dell'intervallo di misurazione.

^jModifica: modifica della correlazione.

ABX Pentra LDL Direct CP

Interferenze

Emoglobina:	Nessuna influenza significativa fino a 195 µmol/L (336 mg/dL).
Trigliceridi:	Nessuna influenza significativa fino a una concentrazione di trigliceridi di 5,69 mmol/L (497,88 mg/dL).
Bilirubina totale:	Nessuna influenza significativa fino a 500 µmol/L (29,3 mg/dL).
Bilirubina diretta:	Nessuna influenza significativa fino a 185 µmol/L (10,8 mg/dL).

Young fornisce altri limiti sotto forma di elenco di variabili preanalitiche e farmaci noti che possono influenzare questa metodologia (18, 19).

Stabilità della calibrazione

Il reagente viene calibrato il giorno 0. Per controllare la stabilità della calibrazione, vengono analizzati 2 campioni di controllo.

La durata della stabilità della calibrazione è di 14 giorni.

Nota: si consiglia di effettuare nuovamente la calibrazione quando si cambiano i lotti di reagente e quando i risultati dei controlli della qualità non rientrano nell'intervallo stabilito.

Fattore di conversione

mmol/L x 0,387 = g/L

mmol/L x 38,7 = mg/dL

Bibliografia

- Centers for Disease Control/National Institutes of Health Manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 1988. I have also seen this as: Richardson JH and Barkley WE. eds. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, HHS Publication No. (CDC) 84-8395, Washington, DC (1984).
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, Preparation and Testing of Reagent Water in the Clinical Laboratory - Third Edition; Approved Guideline NCCLS Document C3-A3 (1997).
- Gotto AM. Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia, Hospital Practice (1988) **23** (Suppl. 1): 4-13.
- Crouse JR, Parks JS, Schey HM, Kahl FR. Studies of low density lipoprotein molecular weight in human beings with coronary artery disease. J. Lipid Res. (1985) **26** (5): 566-574.
- Badimon JJ, 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**: 1234-1241.
- Castelli WP, Doyle JT, Gordon T, Hames CG, Hjortland MC, Hulley SB, Kagan A, Zukel WJ. HDL Cholesterol and other lipids in coronary heart disease. Circulation (1977) **55**: 767-772.
- Barr DP, Russ EM, Eder HA. Protein-lipid relationships in human plasma. Am. J. Med. (1951) **11**: 480.
- Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. Am. J. Med. (1977) **62**: 707-714.
- Guder WG, Zawta B. The Quality of Diagnostics Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag (2001): 22-23.
- Bachorik PS, Ross JW. National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of Low-Density Lipoprotein Cholesterol: Executive Summary, Clin. Chem. (1995) **41** (10): 1414-1420.
- Council Directive (2000/54/EC). Official Journal of the European Communities. No. L262 from October 17, 2000: 21-45.
- Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures. Approved Guideline, 2nd ed., CLSI (NCCLS) document EP17-A2 (2012) **32** (8).
- Vassault A, Grafmeyer D, Naudin C et al. Protocoles de validation de techniques (document B). Ann. Biol. Clin. (1986) **44**: 686-745.
- Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Method. Approved Guideline, CLSI (NCCLS) document EP5-A2 (2004) **24** (25).
- Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures. 2nd Edition, CLSI (NCCLS) guideline EP06-Ed2 (2020) **40** (16).
- Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. Approved Guideline, 3rd ed., CLSI (NCCLS) document EP09c (2018) **38** (12).
- Passing H, Bablok W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. (1983) **21**: 709-720.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th Edition, Washington, DC, AACC Press (2000).
- Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 2nd Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 120-132.

