

Kit reagenti Colesterolo autoHDL™ Pointe

Uso previsto

Determinazione quantitativa del colesterolo lipoproteico ad alta densità nel siero o nel plasma umano utilizzando gli analizzatori Yumizen C230 e Yumizen C240. 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 primaria di queste particelle è 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: 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.² 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.³ Bassi livelli di HDL-C sono stati ripetutamente associati a un aumento del rischio di coronaropatia e di patologie a carico delle arterie coronarie.⁴⁻⁹ 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.⁹

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.¹⁰ Si tratta, tuttavia, di un metodo troppo dispendioso in termini di tempo e lavoro per essere utilizzato nelle analisi di routine.¹¹ Tradizionalmente, la maggior parte dei laboratori utilizzava uno dei vari metodi per la precipitazione e la rimozione selettiva di LDL e VLDL, seguita dalla misurazione enzimatica dell'HDL-C nella frazione surmatante.¹⁰ 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 i dosaggi di routine del colesterolo HDL richiedevano tempi piuttosto lunghi e presentavano una scarsa riproducibilità.

Principio

Il test liquido del colesterolo autoHDL™ è un metodo omogeneo per misurare direttamente i livelli di HDL-C 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 α -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: α -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-amminopiridone 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

I reagenti restano stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta se conservati a 2-8°C.

Precauzioni

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.

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).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 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 da 1 mese a 2 anni, conservare i campioni a -70°C.¹⁰

Interferenze

Tutti gli studi sulle interferenze sono stati eseguiti applicando le procedure raccomandate dalle linee guida NCCLS n. EP7-P.¹² 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.¹³

Materiali in dotazione

Kit reagenti liquidi per colesterolo autoHDL™

N. catalogo **12-H7545-162**

Reagente 1 3 x 40 ml

Reagente 2 3 x 14 ml

Materiali necessari non in dotazione

1. Calibratore per colesterolo autoHDL/LDL Pointe, numero di catalogo H7545-CAL
2. Controlli per colesterolo HDL Pointe
3. Analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
4. Manuale utente per gli analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240

Procedura

Di seguito è riportato un esempio generale della procedura di analisi con il test autoHDL™ su un analizzatore automatico. 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.

		37°C		37°C		
Campione +	Reagente 1	---->	Reagente 2	---->	Misura (diff. abs)	
4ul	300ul	5min.	100ul	5min.	tra 700nm & 600nm)	
					V	
						Risultati HDL-C

Kit reagenti Colesterolo autoHDL™ Pointe

Parametri di analisi

Analisi:	HDL	Sostanza chim.: Colesterolo AUTO HDL
N. chim:	218	Nome etichetta: Colesterolo HDL
Tipo reazione:	Endpoint	Direzione reazione: positiva
Lungh. d'onda prim.:	546 nm	Lungh. d'onda sec. 670 nm
Decimale:	0,1	Tipo campione: siero
T. bianco:		T. reazione: 2 18
Unità:	mg/dl	T. incubazione: 18

Vol. campione	Aspirato	Diluente	Vol. reagente	Diluente
Standard; 3	ul	ul	ul 180	ul
Decremento:	uL	uL	uL 60	uL
Incremento:	ul	ul	ul	

Intervallo linearità (standard);	Limite linearità:			
Intervallo linearità (decremento):	Esaurim. substrato:			
Intervallo linearità (incremento):	Assorb. bianco mix: -40000 40000			
Assorb. bianco R1:	-40000	40000	Stabilità in macchina:	30
Giomof				
Risposta bianco	-40000	40000	Limite allarme reagente:	5

Controllo eff. prozona:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Risultato qualitativo:
Intervallo: Val. fuori norma:

Pendenza Offset:
Pendenza 1 Offset 0 Unità mg/dL

Tratt. preliminare:
Vol. campione pretratt.: ul Vol. reagente pretratt.: ul

Intervallo rif.:
Tipo campione: Sesso: Intervallo età: Intervallo rif.: Intervallo critico: Unità:

Parametri di configurazione della calibrazione

Analisi chim. HDL	
Impostazioni calibr.	
Modello mat.: Lineare a 2 punti	
Fattore: Repliche: 2	
Limiti accettabilità	
T. calibr.: 336 h	
Diff. pendenza: DS:	
Sensibilità: Ripetibilità:	*Def. utente
Coeff. deter.:	
Calibr. autom.	
T. calibr.	

Calibratore	Conc.	Pos.	N. lotto:
acqua	0,0	W	
HDL/LDL Cal	*	*	

Limitazioni

- Non utilizzare anticoagulanti contenenti citrato.
- Proteggere i reagenti dalla luce solare diretta.
- Conservare i reagenti come indicato sulle rispettive istruzioni.
- 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 per colesterolo 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, sarà necessario effettuare una ricalibrazione.

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 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 HDL-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 SI, moltiplicarle per 0,02586.

Valori attesi

I valori attesi per il colesterolo HDL sierico sono¹⁴:

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 di colesterolo 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.⁹

Caratteristiche delle prestazioni

Intervallo di analisi: 2-150 mg/dl

Accuratezza: Studi comparativi tra l'utilizzo del metodo per colesterolo autoLDL™ su analizzatori Yumizen serie 200 e analizzatori simili hanno prodotti i seguenti risultati:

Metodo	Colesterolo autoHDL™
N	36
Colesterolo HDL medio	61
Intervallo (mg/dL)	30-124
Deviazione standard (mg/dl)	22
Analisi di regressione	y = 0,958x + 2,6
Coefficiente di correlazione	R=0,982

Precisione:

La precisione intra-giornaliera del reagente liquido per colesterolo autoHDL™ è stata determinata in base a una modifica del documento EP5-T2.¹⁵ dell'NCCLS utilizzando analizzatori Yumizen serie 200. Gli studi sulla precisione intragiornaliera hanno prodotto i seguenti risultati:

Campione	BASSA	ALTA
N	20	20
Colesterolo HDL medio (mg/dl)	28	108
Deviazione standard (mg/dl)	0,5	0,7
Coefficiente di variazione (%)	1,8	0,7

Anche la precisione inter-giornaliera è stata determinata applicando una modifica del protocollo EPT-T2 del NCCLS¹⁷. Gli studi sulla precisione inter-giornaliera hanno prodotto i seguenti risultati:










Campione	BASSA	ALTA
N	20	20
Colesterolo HDL medio (mg/dl)	25	44
Deviazione standard (mg/dl)	1,0	2,1
Coefficiente di variazione (%)	3,9	3,9




Sensibilità: 2SD limite di rilevabilità (95% conf) = 0,365 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, 1990; 85:1234-41.
- Castelli, W.P., et al, Cholesterol and other lipids in coronary heart disease, Circulation, 55:767 (1977).
- Barr, D.P., Russ E.M., Eder 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).
- Williams, 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 atherosclerotic disease; New perspectives based on the Framingham study, Am. Intern. Med., 90:85 (1979).
- National Institute 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 DC, 1990, 3-104 thru 3-106.
- Tietz, N.W., Clinical Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1986, p.256.
- Documento NCCLS "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices" 2nd Ed. 1992.

Legenda

 Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)	 Codice lotto e gruppo
 N. catalogo	 Fabbricante
 Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	 Limiti di temperatura
 Consultare il manuale utente	Rx Only: utilizzare solo su prescrizione
 Marchio CE	 Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea

 12-H7545-162  Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188  

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

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.

Rev. 07/23 P803-H7545-MIN-IT