

REF 10211-4 4 x 29 ml / 10 ml

COLESTEROLO HDL (HDL)

Flaconi ciascuno contenente 29 ml di reagente R1 e 10 ml di reagente R2.

USO PREVISTO

Il reagente per HDL EasyRA è indicato per la misurazione quantitativa del colesterolo delle lipoproteine ad alta densità nel siero o plasma umani, utilizzando l'analizzatore chimico MEDICA EasyRA® in laboratori clinici.

Solo per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale.

Questo test per il colesterolo HDL è stato certificato dal CRMLN (Cholesterol Reference Method Laboratory Network).

RIEPILOGO E SPIEGAZIONE

Le lipoproteine solubilizzano e trasportano il colesterolo e altri lipidi nel sangue. Ci sono diverse classi di lipoproteine che manifestano effetti diversi sul cuore e sul sistema cardiovascolare.¹ La presenza di quantità elevate di lipoproteine ad alta densità (HDL) è associata ad una diminuzione del rischio di patologie coronariche e può anche costituire un fattore protettivo. La misurazione del colesterolo HDL (HDL) è utile nella diagnosi precoce e nel trattamento dei disturbi metabolici dei lipidi e delle lipoproteine. Livelli bassi di colesterolo HDL sono stati fortemente associati all'aumento del rischio di patologie cardio-coronariche.^{2,3} Pertanto, la determinazione del colesterolo HDL serico è utile nell'individuazione dei pazienti ad alto rischio. L'Adult Treatment Panel del NCEP (National Cholesterol Education Program) raccomanda che in tutti gli adulti di 20 anni e oltre venga eseguito un profilo delle lipoproteine a digiuno (colesterolo totale, colesterolo LDL e HDL, trigliceridi) ogni cinque anni per controllare il rischio di patologie cardio-coronariche.⁴ Il metodo di riferimento per il colesterolo HDL è l'analisi di Abell-Kendall.⁵ Tuttavia, poiché il metodo di riferimento richiede ultra-centrifugazione e precipitazione e non può essere completamente automatizzato, sono stati sviluppati metodi omogenei (diretti). Questo metodo è basato sull'accelerazione della reazione della colesterolo ossidasi con il colesterolo non HDL non esterificato e la dissoluzione selettiva dell'HDL mediante un detergente specifico (cioè il metodo "Detergente selettivo di accelerazione").

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

Questo metodo di analisi diretta per misurare il colesterolo HDL implica la rimozione di altre lipoproteine non HDL attraverso la reazione selettiva da parte del reagente 1. Nella seconda fase, il detergente selettivo nel reagente 2 solubilizza specificamente il colesterolo HDL che in seguito reagisce con un cromogeno per sviluppare un colore che possa essere letto otticamente a 600 nm. L'intensità del colore alla massima assorbanza a 600 nm è proporzionale alla concentrazione di colesterolo HDL nel campione.

REAGENTI

REAGENTE PER HDL (R1)

Tampone di Good	
Colesterolo ossidasi (E. Coli)	< 1.000 U/L
Perossidasi (Rafano)	< 1.300 ppg U/L
Sale bisodico di N,N-bis (4-sulfobutil)-m-toluidina (DSBmT)	< 1 mM
Acceleratore	< 1 mM
Conservante	< 0,06%

Reagente per HDL (R2)

Tampone di Good	
Colesterolo esterasi (pseudomonas sp.)	< 1.500 U/L
4-amminioantipirina	< 1 mM
Detergente	< 2%
Rallentatore	< 0,15%
Conservante	< 0,06%
Acido ascorbico ossidasi (curcubita sp.)	< 3.000 U/L

PRECAUZIONI

1. Seguire sempre buone prassi di sicurezza di laboratorio quando si maneggiano reagenti di laboratorio. (CLSI, GP17-A2).
2. I reagenti contengono meno dello 0,1% di azoturo di sodio, che potrebbe reagire con le tubature in rame e piombo formando accumuli altamente esplosivi di azidi metallici. Per informazioni su rischi, pericoli e sicurezza fare riferimento alle schede di sicurezza (SDS).
3. Come per qualunque altra procedura di test diagnostico, i risultati devono essere interpretati alla luce dei risultati prodotti da altri test e dello stato clinico del paziente.
4. Non utilizzare cuvette lavate.

ISTRUZIONI PER LA MANIPOLAZIONE, LA CONSERVAZIONE E LA STABILITÀ DEL REAGENTE

Il reagente viene fornito pronto all'uso. Il reagente in confezione chiusa si mantiene stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta se conservato ad una temperatura di 2 - 8° C. Il reagente rimane stabile on-board nel vano reagenti refrigerato nell'analizzatore chimico Medica EasyRA per il numero di giorni programmati sul chip RFID del flacone del reagente. Non usare il reagente qualora questo si presenti torbido od opaco o nel caso in cui non riesca a recuperare i valori noti di controllo del siero.

PRELIEVO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI/STABILITÀ⁵

Il campione richiesto è costituito da siero o plasma fresco prelevato dal paziente in seguito a 12-14 ore di digiuno. I campioni di plasma devono essere prelevati usando litio-eparina come anticoagulante. Eliminare il siero o plasma appena possibile dopo la raccolta (entro 3 ore). Se le analisi non vengono ultimate entro 14 ore, è possibile conservare il siero fino a 7 giorni a 2 - 8° C. Se i campioni devono essere conservati oltre 1 settimana prima di analizzarli, è possibile congelarli a < -70° C fino a 3 mesi. I campioni possono essere congelati una sola volta. Fare riferimento a CLSI H18-A per ulteriori istruzioni sulla raccolta, il trattamento e la conservazione dei campioni.

PROCEDURA

Materiale fornito

Flacone di reagente per HDL Medica, REF 10211

Ulteriore materiale necessario

Calibratore HDL Medica, REF 10653

Medica EasyQC® Chimica/Elettroliti – Livello A, REF 10793

Medica EasyQC Chimica/Elettroliti – Livello B, REF 10794

Flacone per analisi colorimetrica di precisione Medica, REF 10764

Flacone di detergente Medica – Chimica e ISE, REF 10660, oppure

Flacone di detergente Medica – Chimica, REF 10661

Istruzioni per l'uso

Il reagente viene fornito pronto all'uso. Rimuovere il tappo e collocare il reagente nel piatto reagenti dell'analizzatore EasyRA situato nell'area reagenti. La stabilità on-board (60 giorni massimo) è programmata sul chip RFID del flacone del reagente.

Nota: verificare che non sia presente schiuma all'interno del collo del flacone dopo aver rimosso il tappo e aver collocato il flacone sull'analizzatore. Qualora fosse presente schiuma, rimuoverla con un tampone o una pipetta monouso prima di eseguire il test. Usare pipette monouso o tamponi diversi per i reagenti R1 e R2.

Calibrazione

Per la calibrazione dell'analisi si consiglia il Calibratore HDL Medica (REF 10653). L'intervallo di calibrazione (30 giorni massimo) è programmato sul chip RFID posto sul flacone del reagente. Ogni qual volta il numero di lotto del reagente cambia o si verifica uno spostamento nei valori di controllo qualità è necessario eseguire nuovamente la calibrazione. Il valore del calibratore per il colesterolo HDL è stato assegnato mediante procedure riconducibili al NRS/CHOL (National Reference System for Cholesterol).

Controllo qualità

Si consiglia di eseguire due livelli di controllo del siero umano (normale e anomalo) con l'analisi quotidianamente quando vengono eseguiti test su pazienti e ogni qual volta il lotto di reagenti cambia. Il mancato raggiungimento dell'intervallo corretto di valori nel test del materiale di controllo può essere indice di deterioramento del reagente, malfunzionamento dello strumento o errori procedurali. Quando viene utilizzato il materiale di controllo qualità, il laboratorio deve inoltre attenersi alla normativa locale, nazionale e federale in materia di controllo di qualità.

Risultati

Dopo aver completato l'analisi, l'analizzatore EasyRA estrapola la concentrazione di HDL dal rapporto tra l'assorbanza corretta del campione sconosciuto e l'assorbanza corretta del calibratore moltiplicato per il valore del calibratore.

$$\text{HDL (mg/dl)} = \frac{[(A_{U_{600}} - A_{U_{700}}) - (A_{R_{Bk_{600}}} - A_{R_{Bk_{700}}})] - [(A_{U_{600}} - A_{U_{700}}) \text{SBlk} - (A_{R_{Bk_{600}}} - A_{R_{Bk_{700}}}) \text{SBlk}] \times dF}{[(A_{C_{600}} - A_{C_{700}}) - (A_{R_{Bk_{600}}} - A_{R_{Bk_{700}}})] - [(A_{C_{600}} - A_{C_{700}}) \text{SBlk} - (A_{R_{Bk_{600}}} - A_{R_{Bk_{700}}}) \text{SBlk}] \times dF} \times \text{Cal Value}$$

Dove A_U e A_C indicano rispettivamente i valori di assorbanza del campione sconosciuto e del calibratore; $A_{R_{Bk}}$ indica l'assorbanza del bianco reagente; SBlk indica il bianco reagente; e "Cal Value" indica la concentrazione di HDL nel calibratore (mg/dl). Poiché il volume della reazione viene modificato dall'aggiunta ritardata del reagente R2, nel calcolo è compreso un fattore di correzione della diluizione (dF).

Valori attesi⁶

Si consiglia a ciascun laboratorio di stabilire il proprio intervallo di valori attesi, in quanto esistono differenze tra strumenti, laboratori e popolazioni locali.

Il NCEP (National Cholesterol Education Program) definisce una concentrazione di colesterolo HDL al di sotto dei 40 mg/dl come fattore di rischio indipendente significativo per la patologia coronarica. Allo stesso modo, le concentrazioni oltre i 60 mg/dl sono state denominate fattori di "rischio negativo", enfatizzando l'effetto protettivo del colesterolo HDL.

Limiti procedurali (ad es. se il campione è al di sopra dell'intervallo di misura)

Evitare l'uso di campioni di siero o plasma fortemente emolizzati.

L'analizzatore chimico EasyRA evidenzia qualunque risultato al di sopra di 150 mg/dl come "LH" (linearità alta). Non programmare per tale test delle riesecuzioni automatiche per risultati al di sopra dell'intervallo lineare. L'intervallo lineare non può essere esteso oltre 150 mg/dl.

CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE⁷

Intervallo accettabile

L'intervallo accettabile è compreso tra 2 e 150 mg/dl.

Imprecisione/Correlazione (CLSI, EP9-A2)

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto del reagente per HDL Medica (y) su un analizzatore EasyRA con la prestazione del reagente per HDL (x) sull'analizzatore Roche COBAS MIRA*. I dati di seguito illustrati rappresentano le singole determinazioni ottenute sull'analizzatore EasyRA a fronte della media di due valori ripetuti ottenuti sull'analizzatore Roche COBAS MIRA.

Numero di campioni	61	Intervallo dei campioni	da 2 a 148 mg/dl
Pendenza	0,93	Intercetta y	1,8
Coefficiente di correlazione	0,9976	Equazione di regressione	$Y = 0,93 \cdot X + 1,8$

**Cobas Mira è un marchio registrato di Roche Diagnostics, INC., Indianapolis, IN.*

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto di campioni abbinati di siero (x) e plasma (y) trattati con litio-eparina con il reagente per HDL Medica sull'analizzatore EasyRA. I dati che seguono rappresentano una sola misurazione del plasma rispetto alla media di due valori replicati del siero.

Numero di campioni	70	Intervallo dei campioni	da 1,62 a 14,71 mg/dl
Pendenza	0,9854	Intercetta y	-0,0643
Correlazione	0,9891	Equazione di regressione	$Y = 0,9854 \cdot X - 0,0643$

La precisione del metodo è stata verificata tramite il confronto con il DCM (Designated Comparison Method) del colesterolo HDL usando 40 campioni freschi presso un laboratorio CRLMN. Per tale metodo è stato emesso un certificato di tracciabilità che indica un bias $\leq 3\%$ rispetto al metodo di riferimento e un coefficiente di variazione (CV) $\leq 3\%$.

Imprecisione (CLSI, EP5-A2)

Le misurazioni duplicate di ciascuno dei tre livelli di materiale di controllo qualità sono stati analizzate due volte al giorno per 20 giorni. Da questi dati sono state determinate sia la precisione intra-serie che quella totale.

Imprecisione intra-serie:

Livello QC mg/dl	SD intra-serie mg/dl	CV intra-serie %
33,2	0,65	1,96
64,6	0,96	1,49
39,6	0,80	2,02

Imprecisione totale:

Livello QC mg/dl	SD imprecisione totale mg/dl	CV imprecisione totale %
33,2	0,84	2,52
64,6	1,41	1,92
39,6	1,20	3,10

Linearità (CLSI, EP6-A)

Lineare da 2 a 150 mg/dl, basata sulla regressione lineare $Y = 1,026 \cdot X + 1,741$. L'intervallo lineare non può essere esteso oltre 150 mg/dl.

Sostanze interferenti (CLSI, EP7-A)

Cambiamenti inferiori al 10% del valore sono stati classificati come "interferenze non significative".

In livelli fino a 500 mg/dl di emoglobina non sono state riscontrate interferenze significative.

In livelli fino a 30 mg/dl di bilirubina non sono state riscontrate interferenze significative.

In livelli fino a 1.000 mg/dl di trigliceridi non sono state riscontrate interferenze significative (usando Intralipid*).

*Intralipid è un marchio registrato di Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young fornisce un elenco di medicinali e altre sostanze che interferiscono con i test chimici clinici.^{8,9}

RIFERIMENTI

1. 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).
2. Castelli, W.P. et al., HDL Cholesterol and other lipids in coronary heart disease, Circulation, 55:767 (1977).
3. Romm PA., et al., Relation of Serum Lipoprotein Cholesterol Levels to Presence and Severity of Angiographic Coronary Artery Disease. Am. J. Cardiol. (1991) 67: 479-483.
4. Special Communication, Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III), JAMA Vol 285:19, 2486-2497 (2001).
5. Warnick G.; Russell, Wood, Peter D., National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol: Executive Summary, Clin Chem, 41:10, 1427-1433 (1995).
6. Gordon T., et al., High Density Lipoprotein as a Protective Factor against Coronary Heart Disease: The Framingham Study. Am J. Med. (1977) 62: 707-714.
7. Dati in archivio presso Medica.
8. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
9. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC: AACC Press; 1997.

Parametri dell'analisi EasyRA (HDL)

Lunghezza d'onda principale (nm)	600
Lunghezza d'onda secondaria (nm)	700
Tipo di reazione	Punto finale (2)
Direzione di reazione	Aumento
Bianco reagente	Sì (con ciascuna calibrazione)
Bianco campione	Sì
Tempo di reazione	10,4 min
Intervallo di calibrazione (massimo)	30 giorni
Stabilità on-board del reagente	60 giorni

Siero/plasma

Volume del campione (µl)	2,5
Volume del diluente 1 (µl)	15
Volume del diluente 2 (µl)	20
Volume del reagente R1 (µl)	250
Volume del reagente R2 (µl)	83
Posizioni decimali (predefinite)	0
Unità (valori predefiniti)	mg/dl
Linearità	da 2 a 150 mg/dl