

REF 10224-4 4 x 29 mL / 10 mL

CHOLESTÉROL LDL (LDL)

Chaque cartouche contient un volume utilisable de 29 mL de réactif R1 et 10 mL de réactif R2.

UTILISATION PRÉVUE

Le réactif LDL EasyRA permet de mesurer la quantité de cholestérol à lipoprotéines de basse densité dans le sérum ou le plasma humain, grâce à l'analyseur chimique Medica EasyRA® dans les laboratoires cliniques. La mesure des LDL permet le diagnostic et le traitement de troubles lipidiques (tels que le diabète sucré), de l'athérosclérose et d'autres maladies hépatiques et rénales. Pour diagnostic *in vitro* uniquement. Réservé à un usage professionnel.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Les lipoprotéines se solubilisent et transportent le cholestérol et d'autres lipides dans le sang. Il existe plusieurs classes de lipoprotéines, responsables de différents effets sur le cœur et le système cardiovasculaire¹. Le dosage du cholestérol LDL contribue au diagnostic précoce ainsi qu'au traitement des troubles du métabolisme des lipides et des lipoprotéines. Les études mettent toutes en exergue le cholestérol LDL comme facteur clé de la pathogenèse de l'athérosclérose et des maladies coronariennes²⁻⁸. Le NCEP (Adult Treatment Panel of the National Cholesterol Education Program – Panel de traitement chez l'adulte du Programme national d'éducation sur le cholestérol) recommande que l'ensemble des adultes de plus de 20 ans effectue, tous les cinq ans, un bilan des lipoprotéines à jeun (cholestérol total, cholestérol LDL, cholestérol HDL et triglycérides) afin d'identifier les profils à risque de maladies cardiovasculaires⁴. Même dans la norme des valeurs des concentrations en cholestérol total, on peut noter une augmentation du cholestérol LDL avec un risque accru de maladies coronariennes⁹.

PRINCIPE DE LA PROCÉDURE

La méthode directe du dosage du cholestérol LDL implique l'élimination de lipoprotéines non-LDL à l'aide d'une solubilisation et d'une réaction sélectives par le réactif R1 dans un produit incolore. Dans un second temps, le détergent sélectif du réactif R2 solubilise le cholestérol LDL de manière sélective. Ce dernier réagit ensuite avec un chromogène pour former une coloration pouvant être lue, à l'aide d'une méthode optique, à 550 nm. L'intensité de la coloration a une absorbance maximale de 550 nm, et est proportionnelle à la concentration en cholestérol LDL de l'échantillon.

RÉACTIFS

REACTIF R1 (DETERGENT REAGISSANT A LA SOLUBILISATION DES LDL) :

Tampon	
Détergent 1	< 1,0 %
Cholestérol estérase	< 1 500 U/l
Cholestérol oxydase	< 1 500 U/l
Peroxydase (raifort)	< 1 300 ppg U/l
Oxydase ascorbique	< 3 000 U/l
Conservateur	

RÉACTIF R2 (DÉTERGENT RÉAGISSANT AU CHROMOGÈNE LDL) :

Tampon	
Détergent 2	< 1,0 %
N, N-bis(4-sulphobutyl)-m-toluidine-disodique (DSBmT)	< 1 mM
Conservateur	

PRÉCAUTIONS

1. Les bonnes pratiques de sécurité en laboratoire doivent être respectées lors de la manipulation des réactifs de laboratoire. (CLSI, GP17-A2).
2. Les réactifs contiennent moins de 0,1 % d'azoture de sodium. Néanmoins, cette substance peut réagir violemment au contact du plomb et du cuivre contenus dans le système de plomberie, et former des azides métalliques explosifs. Consulter la fiche de données de sécurité pour obtenir des informations sur les risques, les dangers et la sécurité.
3. Comme pour toute procédure de test diagnostique, l'interprétation des résultats doit tenir compte des résultats de tous les autres tests ainsi que de l'état clinique du patient.
4. Ne pas utiliser de cuvettes abîmées.

INSTRUCTIONS CONCERNANT LA MANIPULATION, LE STOCKAGE ET LA STABILITÉ DU RÉACTIF

Le réactif est fourni prêt à l'emploi. Le réactif non ouvert est stable jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette, à condition d'être stocké entre 2 et 8 °C. Le réactif ouvert, conservé à bord de l'analyseur EasyRA dans le compartiment réfrigéré du réactif, est stable pendant le nombre de jours programmés dans la puce RFID sur la cartouche de réactif. Ne pas utiliser le réactif s'il est trouble ou nuageux, ou s'il ne parvient pas à retrouver les valeurs de contrôle sérique connues. NE PAS CONGELER

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS, STOCKAGE/STABILITÉ

Des échantillons de sérum ou de plasma frais issu de patients à jeun depuis 12 à 14 heures sont nécessaires au dosage. Les échantillons de plasma doivent être prélevés en utilisant de l'héparine de lithium comme anticoagulant. Extraire le sérum ou le plasma le plus tôt possible après le prélèvement (dans les 3 heures). Si les dosages ne sont pas réalisés dans les 14 heures qui suivent, le sérum peut être conservé jusqu'à 5 jours entre 2 et 8 °C. Si les échantillons doivent être stockés plus de 5 jours avant le dosage, ils peuvent être congelés à une température inférieure à -80 °C. Les échantillons ne peuvent être congelés qu'une seule fois. Consulter le document H18-A du CLSI pour plus d'informations sur le prélèvement, la manipulation et le stockage des échantillons.

PROCEDURE

Matériel fourni

Cartouche de réactif LDL Medica, REF 10224

Matériel auxiliaire nécessaire

Étalon LDL Medica, REF 10655

Medica EasyQC®, Niveau A – Chimie/Électrolytes, REF 10793

Medica EasyQC, Niveau B – Chimie/Électrolytes, REF 10794

Cartouche de colorant pour test de précision Medica, REF 10764

Cartouche de nettoyant Medica – Chimie et électrodes sélectives, REF 10660 *ou*

Cartouche de nettoyant Medica – Chimie, REF 10661

Mode d'emploi

Le réactif est fourni prêt à l'emploi. Retirer le bouchon et placer le réactif dans le plateau de l'analyseur EasyRA, situé dans le compartiment approprié de la cartouche. La stabilité du réactif à bord (60 jours maximum) est programmée dans la puce RFID sur la cartouche de réactif.

Remarque : vérifier l'absence de mousse au niveau des collets de la cartouche après avoir retiré les bouchons et placé la cartouche sur l'analyseur. S'il y a de la mousse, procéder à son élimination à l'aide d'un écouvillon ou d'une pipette jetable avant d'effectuer le test. Utiliser des écouvillons ou pipettes jetables différents pour R1 et R2.

Étalonnage

Étalon LDL Medica, REF 10655 est recommandé pour étalonner le dosage. L'intervalle d'étalonnage (30 jours maximum) est programmé dans la puce RFID sur la cartouche de réactif. Un nouvel étalonnage doit être effectué à chaque changement de numéro de lot de réactifs ou en cas d'écart entre les valeurs du contrôle de qualité. La valeur de l'étalon du cholestérol LDL a été attribuée selon des procédures disponibles auprès du NRS/CHOL (National Reference System for Cholesterol).

Contrôle de qualité

Il est recommandé d'inclure deux niveaux de contrôle (normal et anormal) à base de sérum humain quotidiennement lors des tests patient et à chaque changement de numéro de lot de réactifs. Si les résultats du matériel de contrôle du dosage ne correspondent pas à l'intervalle de valeurs attendues, cela peut indiquer la présence d'une dégradation du réactif, d'un mauvais fonctionnement de l'instrument ou d'erreurs survenues au cours de la procédure. Le laboratoire doit respecter les réglementations locales, d'état et fédérales en matière de contrôle de qualité, lorsqu'il en utilise le matériel.

Résultats

Une fois le dosage terminé, l'analyseur EasyRA calcule la concentration en LDL à partir du rapport entre l'absorbance corrigée de l'échantillon à déterminer et l'absorbance corrigée de l'étalon, multiplié par la valeur de l'étalon.

LDL (mg/dL) =

$$\frac{[(A_{U_{550}} - A_{U_{700}}) - (A_{R_{BIK_{550}}} - A_{R_{BIK_{700}}})] - [(A_{U_{550}} - A_{U_{700}})_{SBIK} - (A_{R_{BIK_{550}}} - A_{R_{BIK_{700}}})_{SBIK}] \times dF}{[(A_{C_{550}} - A_{C_{700}}) - (A_{R_{BIK_{550}}} - A_{R_{BIK_{700}}})] - [(A_{C_{550}} - A_{C_{700}})_{SBIK} - (A_{R_{BIK_{550}}} - A_{R_{BIK_{700}}})_{SBIK}] \times dF} \times \text{Valeur de l'étalon}$$

Où A_U et A_C représentent respectivement les valeurs d'absorbance de l'inconnu et de l'étalon. $A_{R_{BIK}}$ correspond à l'absorbance du blanc du réactif, $SBIK$ au blanc de l'échantillon, et « Cal Value » à la concentration en LDL de l'étalon (mg/dL ou mmol/l). La réaction étant modifiée sous l'ajout, dans un deuxième temps, du réactif R2, un facteur de correction de dilution (dF) est intégré au calcul.

VALEURS ATTENDUES⁶

Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir son propre intervalle de valeurs attendues, compte tenu des différences qui existent entre les instruments, les laboratoires et les populations locales.

Conformément aux directives du NCEP (National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III [ATP III]), l'intervalle des valeurs de référence pour les LDL dans le sérum est le suivant :

Cholestérol LDL – Cible principale du traitement

< 100	mg/dL	Taux optimal
100 - 129	mg/dL	Taux quasi optimal/plus qu'optimal
130 - 159	mg/dL	Taux limite
160 - 189	mg/dL	Taux élevé
> 190	mg/dL	Taux très élevé

Limites de la procédure

Éviter d'utiliser des échantillons de sérum ou de plasma fortement hémolysés et/ou ictériques.

L'analyseur EasyRA signale tout résultat supérieur à 540 mg/dL en Haute Linéarité « HL ». Si l'icône de « répétition » est sélectionnée par l'opérateur, l'échantillon peut être à nouveau testé avec la moitié (1/2) de son volume. Le calcul des résultats issus de la répétition du test prend en compte la diminution de la taille de l'échantillon. Cela aura pour conséquence d'allonger l'intervalle rapporté du dosage de LDL jusqu'à 1 080 mg/dL.

CARACTERISTIQUES DES PERFORMANCES⁷

REMARQUE : le test des LDL de Medica n'a pas été certifié ou testé par le CRLMN (Cholesterol Reference Method Laboratory Network).

Intervalle rapporté

L'intervalle rapporté est compris entre 6 et 540 mg/dL. Il est compris entre 6 et 1 080 mg/dL lorsque la moitié de l'échantillon est utilisée (dilution à 1:1).

Inexactitude/corrélation (CLSI, EP9-A2)

Le tableau suivant regroupe les données obtenues lors d'une comparaison de la performance entre le réactif LDL Medica (y) avec l'analyseur EasyRA et un réactif LDL (x) avec l'analyseur Roche COBAS MIRA*. Les données fournies ci-dessous correspondent à des dosages uniques obtenus sur l'analyseur EasyRA versus la moyenne des valeurs d'échantillons déterminés en double sur l'analyseur Roche COBAS MIRA.

Nombre d'échantillons	61	Intervalle d'échantillons	de 7 à 540 mg/dL
Courbe	0,9904	Intersection avec l'axe des Y	-0,3123
Coefficient de corrélation	0,9976	Équation de régression	$Y = 0,9904 \cdot X - 0,3123$

*Cobas Mira est une marque déposée de Roche Diagnostics, INC., Indianapolis, IN.

Le tableau suivant regroupe les données obtenues en comparant des échantillons équivalents de sérum (x) et de plasma avec héparine de lithium (y) à l'aide du réactif LDL Medica sur l'analyseur EasyRA. Les données ci-dessous comparent un dosage unique du plasma versus la moyenne des valeurs d'échantillons de sérum déterminées en double.

Nombre d'échantillons	70	Intervalle des échantillons	1,62 à 14,71 mg/dL
Courbe	0,9854	Intersection avec l'axe des Y	-0,0643
Coefficient de corrélation	0,9891	Équation de régression	$Y = 0,9854 \cdot X - 0,0643$

Imprécision (CLSI, EP5-A2)

Des mesures doubles de chacun des quatre niveaux du matériel de contrôle de qualité ont été testées deux fois par jour pendant 20 jours. L'imprécision totale et intra-série ont toutes deux été calculées à partir de ces données.

Imprécision intra-série :

Taux du contrôle de qualité mg/dL	DS intra-série mg/dL	CV intra-série %
193	2,11	1,1
133	1,59	1,2
83	0,99	1,2
49	0,70	1,4

Imprécision totale :

Taux du contrôle de qualité mg/dL	Imprécision totale DS mg/dL	Imprécision totale CV %
193	3,36	1,8
133	3,03	2,3
83	1,93	2,3
49	1,31	2,7

Linéarité (CLSI, EP6-A)

Linéarité comprise entre 6 to 540 mg/dL en fonction de la régression linéaire $Y = 1,00 \cdot X - 4,03$.

La linéarité peut aller au-delà de 540 mg/dL. L'analyseur chimique Medica EasyRA signale tout résultat supérieur à 540 mg/dL en Haute Linéarité « HL ». Si l'icône de « répétition » est sélectionnée par l'opérateur, l'échantillon peut être à nouveau testé avec la moitié (1/2) de son volume. Le calcul des résultats issus de la répétition du test prend en compte la diminution de la taille de l'échantillon. Cela aura effectivement pour conséquence d'allonger l'intervalle rapporté du dosage de LDL jusqu'à 1 080 mg/dL.

Limite de quantification (LQ) : 4,8 mg/dL (CLSI, EP17-A)

Substances interférentes (CLSI, EP7-A)

Une interférence inférieure à 10 % est désignée par « aucune interférence significative ».

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux d'hémoglobine allant jusqu'à 600 mg/dL.

Il existe une interférence significative au-dessus de 5,5 mg/dL de bilirubine. Ne pas utiliser d'échantillons icteriques.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de triglycérides allant jusqu'à 500 mg/dL (à l'aide du produit Intralipid*).

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux d'acide ascorbique allant jusqu'à 50 mg/dL.

*Intralipid est une marque déposée de Pharmacia AB à Clayton, Caroline du Nord.

Young fournit une liste de médicaments et autres substances qui interfèrent avec les tests cliniques chimiques.^{10,11}

RÉFÉRENCES

1. Gotto AM, Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia, Hospital Practice, 23: Suppl.1,4 (1988).
2. Crouse JR et al., Studies of low density lipoprotein molecular weight in human beings with coronary artery disease, J. Lipid Res., 26; 566 (1985).
3. Badimon JJ, Badimon L., Fuester V., Regression of Atherosclerotic Lesions by High-Density Lipoprotein Plasma Fraction in Cholesterol-Fed Rabbit, Journal of Clinical Investigation, 85:1234 – 41 (1990).
4. Castelli WP et al. Cholesterol and other lipids in coronary heart disease, Circulation, 55; 767 (1977).
5. Barr DP, Russ EM, Eder HA, Protein-lipid relationships in human plasma, Am. J. Med., 11;480 (1951).
6. Gordon T. et al., High density lipoprotein and coronary heart disease, Am. J. Med., 62;707 (1977).
7. William P., Robinson D., Baily A., High density lipoprotein and coronary risk factors, Lancet, 1;72 (1979).
8. Kannel WB, Castelli WP, Gordon T., Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease; New perspectives based on the Framingham study, Am. Intern. Med., 90;85 (1979).
9. Publication du National Institute of Health, n°93-3095, Septembre 1993.
10. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
11. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.

PARAMETRES DU DOSAGE (LDL) EASYRA

Longueur d'onde principale (nm)	550
Longueur d'onde secondaire (nm)	700
Mode réactionnel	Point final (2)
Sens réactionnel	Croissant
Blanc du réactif	Oui (à chaque étalonnage)
Blanc de l'échantillon	Oui
Durée de la réaction	10,4 min
Intervalle d'étalonnage (maximum)	30 jours
Stabilité du réactif à bord	60 jours

Sérum / Plasma

Volume de l'échantillon (µl)	2,5
Volume du diluant 1 (µl)	15
Volume du diluant 2 (µl)	20
Volume du réactif R1 (µl)	250
Volume du réactif R2 (µl)	83
Emplacements décimaux (par défaut)	0
Unités (valeurs par défaut)	mg/dL
Facteur de dilution	1:1 (pour augmenter l'intervalle de dosage)
Intervalle rapporté	de 6 à 540 mg/dL



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, MA 01730-1413 USA



Emergo Europe, Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands