

REF. 10224-4 4 x 29 ml / 10 ml

COLESTEROLO LDL (LDL)

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

USO PREVISTO

Il reagente per LDL EasyRA è da impiegarsi per la misurazione quantitativa del colesterolo delle lipoproteine a bassa densità nel siero o nel plasma umani, utilizzando l'analizzatore chimico MEDICA EasyRA® in laboratori clinici. La misurazione delle LDL è utilizzata nella diagnosi e nel trattamento di disordini lipidici (come il diabete mellito), dell'aterosclerosi e di varie malattie epatiche e renali.

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

RIEPILOGO E SPIEGAZIONE

Le lipoproteine solubilizzano e trasportano il colesterolo e altri lipidi nel sangue. Esistono diverse classi di lipoproteine, che manifestano effetti differenti sul cuore e sul sistema cardiovascolare¹. La misurazione del colesterolo LDL è utile nella diagnosi precoce e nel trattamento dei disordini metabolici dei lipidi e delle lipoproteine. Tutti gli studi indicano come il colesterolo LDL sia il fattore chiave nella patogenesi dell'aterosclerosi e della coronaropatia arteriosa (CAD)²⁻⁸. L'Adult Treatment Panel del NCEP (National Cholesterol Education Program) raccomanda l'esecuzione ogni cinque anni di un profilo lipoproteico a digiuno (colesterolo totale, colesterolo LDL e HDL, trigliceridi) in tutti gli adulti di 20 anni e oltre, per lo screening del rischio di patologie cardio-coronariche⁴. Persino entro il normale intervallo di concentrazione del colesterolo totale, si può avere un aumento del colesterolo LDL con un parallelo aumento del rischio di CAD⁹.

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

Questo metodo diretto per la misurazione del colesterolo LDL richiede la rimozione delle altre lipoproteine non LDL tramite solubilizzazione selettiva e reazione del Reagente 1 a dare un prodotto non colorato. Nel secondo passaggio, il detergente selettivo contenuto nel Reagente 2 solubilizza specificamente il colesterolo LDL, che reagisce quindi con un cromogeno, sviluppando un colore che può essere letto otticamente a 550 nm. L'intensità del colore alla massima assorbanza a 550 nm è proporzionale alla concentrazione di colesterolo LDL nel campione.

REAGENTI

REAGENTE DETERGENTE DI SOLUBILIZZAZIONE PER LDL (R1):

Tampone	
Detergente 1	<1,0%
Colesterolo esterasi	<1500 U/l
Colesterolo ossidasi	<1500 U/l
Perossidasi (Rafano)	<1300 ppg U/l
Ascorbico ossidasi	<3000 U/l
Conservante	

REAGENTE DETERGENTE CROMOGENO PER LDL (R2):

Tampone	
Detergente 2	<1,0%
Sale disodico di N,N-bis (4-sulfobutil)-m-toluidina (DSBmT)	<1 mM
Conservante	

PRECAUZIONI

1. Seguire sempre buone pratiche 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 tubature in rame e piombo formando azidi metallici altamente esplosivi. Per informazioni su rischi, pericoli e sicurezza fare riferimento alla scheda di sicurezza (SDS).
3. Come per qualunque test diagnostico, i risultati devono essere interpretati alla luce dei risultati prodotti da tutti gli 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 dell'analizzatore EasyRA per il numero di giorni programmati sul chip RFID del flacone del reagente. Non usare il reagente qualora esso sia torbido o presenti sedimenti o nel caso in cui esso non permetta di riottenere valori noti di controllo del siero. NON CONGELARE.

PRELIEVO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI/STABILITÀ

Il campione richiesto è costituito da siero o plasma fresco prelevato dal paziente dopo 12-14 ore di digiuno. I campioni di plasma devono essere prelevati usando litio-eparina come anticoagulante. Rimuovere il siero o il 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 5 giorni a 2 - 8° C. Se i campioni devono essere conservati oltre 5 giorni prima di essere analizzati, è possibile congelarli a <-80° C. I campioni possono essere congelati una sola volta. Fare riferimento a NCCLS H18-A per ulteriori istruzioni sulla raccolta, sul trattamento e sulla conservazione dei campioni.

PROCEDURA

Materiali forniti

Flacone di reagente per LDL Medica, RIF 10224

Ulteriore materiale necessario

Calibratore LDL Medica, RIF 10655

Medica EasyQC® Chemistry/Electrolytes – Livello A, RIF 10793

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Livello B, RIF 10794

Flacone Precision Test Dye Medica, RIF 10764

Flacone Cleaner Medica – Chemistry & ISE, RIF 10660 *oppure*

Flacone Cleaner Medica – Chemistry, RIF 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 (massimo 60 giorni) è programmata sul chip RFID del flacone di reagente.

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

Calibrazione

Per la calibrazione del saggio si raccomanda il Calibratore LDL Medica (RIF 10655). L'intervallo di calibrazione (massimo 30 giorni) è programmato sul chip RFID posto sul flacone di reagente. Ogni qual volta cambi il numero di lotto del reagente o si verifichi uno spostamento nei valori di controllo qualità sarà necessario eseguire una ricalibrazione. Il valore del calibratore per il colesterolo LDL 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, ogni volta che vengono eseguiti i test di un paziente e 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 LDL dal rapporto tra l'assorbanza corretta del campione sconosciuto e l'assorbanza corretta del calibratore moltiplicato per il valore del calibratore.

$$\text{LDL (mg/dl)} = \frac{[(A_{U550} - A_{U700}) - (A_{RBik550} - A_{RBik700})] - [(A_{U550} - A_{U700}) \text{SBik} - (A_{RBik550} - A_{RBik700}) \text{SBik}] \times dF}{[(A_{C550} - A_{C700}) - (A_{RBik550} - A_{RBik700})] - [(A_{C550} - A_{C700}) \text{SBik} - (A_{RBik550} - A_{RBik700}) \text{SBik}] \times dF} \times \text{CalValue}$$

Dove A_U e A_C indicano rispettivamente i valori di assorbanza del campione sconosciuto e del calibratore; A_{RBik} indica l'assorbanza del bianco reagente; SBik indica il bianco campione; e "Cal Value" indica la concentrazione di LDL nel calibratore (mg/dl o mmol/l). 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.

L'intervallo di riferimento per le LDL nel siero è come segue, secondo le linee guida dell'Adult Treatment Panel III (ATP III) del National Cholesterol Education Program (NCEP).

Colesterolo LDL – Obiettivo primario della terapia

<100	mg/dl	Ottimale
100-129	mg/dl	Quasi ottimale/oltre l'ottimale
130-159	mg/dl	Borderline elevato
160-189	mg/dl	Elevato
>190	mg/dl	Molto elevato

Limiti Procedurali

Evitare di usare campioni di siero o plasma fortemente emolizzati e/o itterici.

L'analizzatore EasyRA contrassegna qualunque risultato al di sopra di 540 mg/dl come "Linearity High" (LH). Se l'operatore seleziona l'icona di "Riesecuzione", il campione può essere nuovamente testato utilizzando la metà (1/2) del volume del campione. I risultati del test rieseguito vengono calcolati tenendo conto dell'uso di un volume di campione inferiore. In questo modo, l'intervallo di misura del test per le LDL viene di fatto esteso fino a 1080 mg/dl.

CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE⁷

NOTA: il test per le LDL di Medica non è stato certificato o testato dal CRMLN (Cholesterol Reference Method Laboratory Network).

Intervallo misurabile

L'intervallo misurabile è compreso tra 6 e 540 mg/dl. L'intervallo esteso è compreso tra 6 e 1080 mg/dl, quando venga utilizzata la metà del campione (diluizione 1:1).

Inaccuratezza/Correlazione (CLSI, EP9-A2)

La tabella seguente elenca i dati ottenuti confrontando le prestazioni del reagente per LDL Medica (y) su un analizzatore EasyRA con quelle del reagente per LDL (x) sull'analizzatore Roche COBAS MIRA*. I dati illustrati di seguito rappresentano le singole determinazioni ottenute sull'analizzatore EasyRA a fronte della media di due valori replicati ottenuti sull'analizzatore Roche COBAS MIRA.

Numero di campioni	61	Intervallo dei campioni	7-540 mg/dl
Pendenza	0,9904	Intercetta y	-0,3123
Coefficiente di correlazione	0,9976	Equazione di regressione	$Y = 0,9904 * X - 0,3123$

*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 LDL 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	$Y = 0,9854 * X - 0,0643$

Imprecisione (CLSI, EP5-A2)

Misurazioni in doppio di ciascuno di quattro livelli di materiale di controllo qualità sono state analizzate due volte al giorno per 20 giorni. Utilizzando questi dati sono state determinate sia l'imprecisione intra-serie che quella totale.

Imprecisione intra-serie:

Livello QC mg/dl	SD intra-serie mg/dl	CV intra-serie %
193	2,11	1,1
133	1,59	1,2
83	0,99	1,2
49	0,70	1,4

Imprecisione totale:

Livello QC mg/dl	SD imprecisione totale mg/dl	CV imprecisione totale %
193	3,36	1,8
133	3,03	2,3
83	1,93	2,3
49	131	2,7

Linearità (CLSI, EP6-A)

Lineare da 6 a 540 mg/dl, sulla base della regressione lineare $Y = 1,00 \cdot X - 4,03$.

L'intervallo lineare può essere esteso oltre 540 mg/dl. L'analizzatore Medica EasyRA Chemistry Analyzer contrassegna qualunque risultato al di sopra di 540 mg/dl come "Linearity High" (LH). Se l'operatore seleziona l'icona "Re-run", il campione può essere nuovamente testato utilizzando la metà (1/2) del volume del campione. I risultati del test rieseguito vengono calcolati tenendo conto dell'uso di un volume di campione inferiore. In questo modo, l'intervallo di misura del test per le LDL viene di fatto esteso fino a 1080 mg/dl.

Limite di Quantificazione (LOQ): 4,8 mg/dl (CLSI, EP17-A)

Sostanze interferenti (NCCLS, EP7-A)

Le interferenze inferiori al 10% sono state classificate come "nessuna interferenza significativa".

Nessuna interferenza significativa è stata riscontrata a concentrazioni di emoglobina fino a 600 mg/dl.

L'interferenza a concentrazioni di bilirubina oltre i 5,5 mg/dl si presenta significativa. Non utilizzare campioni itterici.

Nessuna interferenza significativa è stata riscontrata a concentrazioni di trigliceridi fino a 500 mg/dl (usando Intralipid*).

Nessuna interferenza significativa è stata riscontrata a livelli di acido ascorbico fino a 50 mg/dl.

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

Young fornisce un elenco di farmaci e altre sostanze che interferiscono con i test chimico-clinici.^{10,11}

RIFERIMENTI

1. Gotto AM, Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia, Hospital Practice, 23: Suppl.1,4 (1988).
2. 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).
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. HDL 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 arteriosclerotic disease; New perspectives based on the Framingham study, Am. Intern. Med., 90;85 (1979).
9. National Institute of Health publication No. 93-3095, settembre 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.

Parametri dell'analisi EasyRA (LDL)

Lunghezza d'onda principale (nm)	550
Lunghezza d'onda secondaria (nm)	700
Tipo di reazione	A termine (2)
Direzione di reazione	Incremento
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
Fattore di diluizione	1:1 (per estendere l'intervallo di misurazione)
Intervallo misurabile	6-540 mg/dl



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



Emergo Europe, Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem, The Netherlands