

INFORMAZIONE PER L'ORDINE

	Codice	Composizione
OPEN KONELAB INDIKO	[REF] B75182584	n° 4 flaconi x 18 mL (R.A) n° 4 flaconi x 6 mL (R.B)
CHEMILAB	[REF] B81180301	n° 1 flaconi x 32 mL (R.A) n° 1 flaconi x 11 mL (R.B)

DESTINAZIONE D'USO

Determinazione quantitativa in vitro della concentrazione del colesterolo LDL nel siero e plasma umani. I risultati del test devono sempre essere interpretati in relazione al contesto clinico. SOLO PER USO PROFESSIONALE.

SIGNIFICATO CLINICO

Il colesterolo totale nell'uomo è principalmente distribuito nelle tre maggiori classi di lipoproteine: VLDL (lipoproteine a bassissima densità), LDL (lipoproteine a bassa densità) e HDL (lipoproteine ad alta densità). L'aumento dei livelli plasmatici di colesterolo LDL rappresenta uno dei maggiori fattori di rischio per lo sviluppo di cardiopatia coronarica (CHD, Coronary Heart Disease). Nell'uomo, le LDL sono carrier che veicolano i due terzi del colesterolo ematico contribuendo in maniera considerevole alla formazione della placca aterosclerotica. La concentrazione di colesterolo LDL viene stimata nel siero o plasma prelevato dal paziente a digiuno sulla base di tre misurazioni: colesterolo totale, colesterolo HDL e trigliceridi totali.

PRINCIPIO DEL METODO

Metodo colorimetrico enzimatico. Il reattivo LDL-L è prodotto usando una combinazione di detergenti e composti fosforosi che legano specificatamente HDL, VLDL e CM (chilomicroni) ma non le LDL. Tale combinazione non permette ad HDL, VLDL e CM la reazione con CO (Colesterolo Ossidasi) e CE (Colesterolo Esterasi) mentre l'LDL-colesterolo rimane capace di reagire con entrambi gli enzimi. La reazione avviene in due fasi e non necessita di pretrattamento o centrifugazione.

LDL (Esteri Colesterolo) + H₂O \xrightarrow{CE} Colesterolo + Acidi Grassi

Colesterolo libero + O₂ \xrightarrow{CO} Colesterone + H₂O₂

2H₂O₂ + TOOS + 4-AA \xrightarrow{POR} Quinone dye + 4 H₂O

Il composto (Quinone dye) formatosi, letto ad una λ di 600 nm, sviluppa una colorazione la cui intensità è proporzionale alla concentrazione in LDL del campione in esame.

Conservazione e stabilità

 = Temperatura di conservazione 2-8 °C

Conservati a 2 - 8°C evitando la luce diretta, i reattivi sono stabili fino alla data di scadenza riportata sulla etichetta.

Concentrazioni

Reagente A:		
	Conc.	U.M.
Tampone Good's (pH 7,0)	50,0	mmol/L
Colesterolo esterasi (CE)	600	U/L
Colesterolo ossidasi (CO)	500	U/L
Catalasi (CAT)	1200	U/mL
N-Ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-methyl-aniline (TOOS)	2,00	mmol/L
Reagente B:		
Tampone Good's (pH 7,0)	50,0	mmol/L
Perossidasi (POD)	5000	U/L
4-aminoantipirina (4-AA)	4,00	mmol/L

Materiali inclusi nel kit

Reagente come descritto.

Materiali necessari non inclusi nel kit

Controlli, calibratori e pipette con volume adeguato.

PRECAUZIONI e AVVERTENZE

- Lo smaltimento dei reagenti e dei materiali di scarto deve avvenire in accordo con le disposizioni comunitarie in materia di rifiuti o con le disposizioni nazionali o regionali vigenti.
- I reagenti possono contenere componenti non attivi quali conservanti e detergenti. La concentrazione totale di tali componenti è inferiore ai limiti riportati nel Regolamento 1272/2008 CE e successive modifiche e integrazioni.

- Si raccomanda di maneggiare il reagente secondo le regole della buona pratica di laboratorio e di utilizzare adeguati dispositivi di protezione individuale.
- Non utilizzare il reattivo se risulta visibilmente degradato (es. presenza di corpuscoli).
- Tutti i campioni umani devono essere manipolati ed eliminati come materiali potenzialmente infettivi.
- Il kit deve essere utilizzato solo da personale tecnico qualificato e adeguatamente formato.
- Le diagnosi sono effettuate esclusivamente da personale autorizzato e qualificato.
- Rispettare le direttive nazionali in materia di sicurezza sul lavoro e garanzia della qualità.
- Utilizzare attrezzature conformi alle norme vigenti.

Segnalazione di incidenti gravi

Nel caso si verifichi un incidente grave in relazione all'utilizzo del dispositivo si prega di informare il produttore (tramite il proprio distributore) e l'autorità competente dello stato membro dell'Unione Europea in cui si è verificato l'incidente. Per altre giurisdizioni, le segnalazioni devono essere effettuate in conformità con i requisiti normativi. La segnalazione di incidenti gravi aiuta a fornire maggiori informazioni relativamente alla sicurezza del dispositivo medico diagnostico.

Procedimento

Controllo Qualità

Sieri di controllo a titolo noto contenenti Colesterolo LDL sono commercialmente reperibili per il controllo qualità, correlati di certificati di analisi. I valori ottenuti devono essere contenuti entro il range di accettabilità.

Calibrazione

Per calibrare utilizzare "Calibratore Sclavo HDL/LDL" cod. B35182590

Tracciabilità

La tracciabilità del colesterolo LDL è visibile nell'insero della confezione del siero di calibrazione.

CAMPIONE

Tipo di campione e conservazione

Utilizzare campioni di siero o di plasma con eparina. Plasma con EDTA può dare risultati sottostimati. I campioni possono essere conservati per 7 giorni a 4-8°C oppure, per 30 giorni a -70°C.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

I Reagenti A e B sono liquidi pronto all'uso. Dopo apertura i reagenti sono stabili 30 giorni se mantenuti ad una temperatura di 2-8° e al riparo dalla luce diretta. Una loro leggera variazione nella composizione, da lotto a lotto, non influisce sui risultati del test.

Automazione

Il kit può essere utilizzato con tutti gli analizzatori automatici che possano soddisfare le condizioni operative del reagente mantenendo inalterati i rapporti volumetrici R1/R2/C. Sono disponibili le applicazioni validate per le strumentazioni Sclavo Konelab® - Indiko® e CHEMILAB. Le applicazioni non approvate da Sclavo Diagnostics non garantiscono le prestazioni del reagente e devono quindi essere approvate sotto la responsabilità dall'utente.

METODO MANUALE

Il kit, nel formato Open, può essere utilizzato con metodo manuale tramite l'utilizzo di spettrofotometro o fotometro con i parametri sotto riportati:

Condizioni di reazione

Lunghezza d'onda (primaria): 600 nm (± 10)
Temperatura: 37°C
Reazione: End-point (in incremento)

Tecnica

Portare i reattivi a temperatura di reazione e operare al riparo dalla luce diretta.

Reagente A	U.M.	Bianco	Siero di Calib.	Campione
Reagente A	μ L	1000	1000	1000
Campione	μ L	-	-	10
Siero di Calibrazione	μ L	-	10	-
Bianco	μ L	10	-	-
Miscelare, dopo 5 min aggiungere:				
Reagente B	μ L	300	300	300

Miscelare bene quindi attendere 5 minuti a 37°C prima della lettura. Leggere le assorbanze del campione e del siero di calibrazione sottraendo l'assorbanza del bianco reagente.

I volumi di reazione possono essere variati proporzionalmente, senza alterazione dei risultati.



Risultati:

Metodo Manuale

Calcolo della concentrazione di Colesterolo LDL:

$$\frac{\text{D.O. Campione}}{\text{D.O. Siero di calib.}} \times \text{conc. Siero di calib. (mg/dL)} = \text{mg/dL di Colesterolo LDL}$$

Automazione

I risultati vengono calcolati automaticamente dall'analizzatore in base alla retta di calibrazione. L'analizzatore esegue automaticamente la calibrazione nel rispetto del protocollo del metodo. La retta di calibrazione viene calcolata automaticamente dai singoli strumenti.

INTERVALLO DI RIFERIMENTO

Livelli in termine di rischio di coronopatia:

Siero o Plasma.

Maschi e Femmine:

- Valori nella norma (nessun rischio): < 130 mg/dL (<3,37 mmol/L)
- Valori borderline (rischio moderato): 130 - 159 mg/dL (3,37 - 4,12 mmol/L)
- Valori elevati (rischio elevato): > 160 mg/dL (> 4,13 mmol/L)

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri valori normali in funzione della popolazione su cui opera.

CARATTERISTICHE / PRESTAZIONI

Linearità

La reazione è lineare fino a 1000 mg/dL. Se il valore supera il limite di linearità del metodo, diluire il campione e moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Esattezza

Sieri di controllo commerciali sono stati analizzati con il kit in oggetto seguendo le linee guida del protocollo CLSI. I dati ottenuti sono riportati nella tabella successiva.

Livello	Replicati	Media	DS	CV%	Recovery
Basso	5	58,2	0,83	1,44	115,2 %
Alto	5	61,0	1,14	0,74	116,9 %

Interferenze

Interferente	Limite
Bilirubina	40 mg/dL
Emoglobina	500 mg/dL
Acido Asorbico	100 mg/dl

Precisione

Precisione nella serie (Within-run precision) – Ripetibilità					
Range	U.M.	Media	S.D.	C.V. (%)	N°
Basso	mg/dL	55,8	0,46	0,9	25
Medio	mg/dL	147,6	1,54	1,1	25
Precisione totale (Within-lab precision)					
Range	U.M.	Media	S.D.	C.V. (%)	N°
Basso	mg/dL	55,8	1,15	2,2	25
Alto	mg/dL	147,6	3,65	2,6	25

Limite di sensibilità

Il limite di Sensibilità è stato misurato analizzando diluizioni scalari di un siero concentrato. Alle condizioni stabilite per questo test la più bassa concentrazione rilevabile è di 1.1 mg/dL di colesterolo LDL.

Confronto tra metodi

Il metodo è stato confrontato con altro metodo disponibile commercialmente, analizzando 200 sieri umani. I dati di correlazione tra i due metodi sono riportati nella tabella sottostante.

Parametro	Stima
Intercetta	-0,200
Slope	1,00
Coeff. Correlazione (R)	0,999

Simboli utilizzati in IFU e Packaging	
 Dispositivo medico diagnostico in vitro	 Fabbricante
 Numero di catalogo	 Istruzioni per l'uso
 Numero del lotto	 Temperatura di conservazione
 Data di scadenza	

BIBLIOGRAFIA

1. H. U. Bergmeyer, G. N. Bowers, Jr., M. Hørdler, and D. W. Moss (1977) Provisional Recommendations on I.F.C.C. methods for measurement of catalytic concentrations of enzymes, Clin Chem, 23:5; 887-899.
2. Wroblewsky F., Ladue J.S., (1965). Proc. Soc. Exper. Biol and Med, 91:569
3. NCCLS Document, "Procedures for the collection of arterial blood specimens", Approved Standard, 3rd Ed. (1999).
4. EU-Dir 1999/11 Commission Directive of 8 March 1999 adapting to technical progress the principles of good laboratory practice as specified in Council Directive 87/18/EEC.
5. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline – Second Edition. EP15-A2.
6. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurements Methods; Approved Guideline – Second Edition. EP05-A2.
7. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline – Third Edition. EP09-A3.
8. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures, 2nd Edition – EP17.
9. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Interference Testing in Clinical Chemistry, – Third Edition. - EP07.
10. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures, 2nd Edition - EP06.

REVISIONE	DATA	MOTIVO DELLA REVISIONE
Rev.A	01/2023	Nuova emissione per adeguamento IVDR Regolamento (UE) 2017/746

