

Determinazione quantitativa del Colesterolo-LDL nel siero o plasma. Metodo enzimatico colorimetrico diretto.

REF **CC1110** R1:3x30 mL + R2: 1x30 mL **REF** **CC1120** R1:3x20 mL + R2: 1x20 mL

PRINCIPIO DEL METODO

Il test è basato sulla esclusione selettiva ma reversibile del Colesterolo-LDL dal sistema di reazione. In un primo step analitico, tutto il colesterolo non LDL è consumato nello schema di reazione di Trinder (Colesterolo Esterasi + Colesterolo Ossidasi + Perossidasi) producendo una colorazione rossa. Successivamente uno speciale detergente rende di nuovo disponibile alla reazione il Colesterolo-LDH che reagirà secondo lo schema di Trinder e produrrà un incremento di colorazione della reazione. L'intensità di questo incremento, misurata fotometricamente a 600 nm (578 – 620), è direttamente proporzionale alla quantità di Colesterolo LDL presente nel campione in esame.

SIGNIFICATO CLINICO

Il Colesterolo è un lipide presente in molti distretti del corpo umano e lo si ritrova nel torrente ematico veicolato da lipoproteine a diverso peso molecolare. La maggior parte di esso si trova legato alle lipoproteine a bassa densità (LDL= Low Density Lipoprotein) e questa frazione del Colesterolo sembra essere quella maggiormente coinvolta nei processi aterosclerotici per cui un suo incremento è considerato fattore di rischio aterogenico con complicanze cardio-circolatorie. Una parte meno rilevante del Colesterolo è veicolato da lipoproteine ad alta densità (HDL= High Density Lipoprotein) e questa frazione rappresenta quella parte del Colesterolo che non è coinvolta nei fenomeni degenerativi sopra descritti, perciò considerata come proteggente per il rischio di patologie cardio circolatorie.

COMPOSIZIONE REAGENTI

Reagente (R1)

Tampone MOPS, pH 7.0	100 mmol/L
Acido Fosforico	0,01 mmol/L
HDAOS	0,9 mmol/L
Destrano Sodio Solfato	1 mg/dL
MgSO ₄ 7H ₂ O	5 mg/mL
Ascorbato Ossidasi	3 U/mL

Reagente (R2)

PIPES Tampone, pH 7.0	100 mmol/L
Colesterolo Esterasi (CHE)	5,7 U/mL
Colesterolo Ossidasi (CHO)	20 U/mL
Perossidasi (POD)	20 U/mL
4-AAP	2,5 mmol/L

PREPARAZIONE REAGENTI E STABILITA'

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza riportata, se conservati come riportato in etichetta e si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta.

Non congelare i reagenti.

Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento come presenza di particelle e torbidità oppure mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati.

Dopo l'apertura dei flaconi, si consiglia di prelevare il volume necessario, di richiudere immediatamente i flaconi e di riporli in frigo al fine di evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

CAMPIONI

Siero, Plasma ottenuto da anticoagulanti privi di citrato. Evitare campioni emolisati o lipemici. Separare il siero dal coagulo rapidamente.

Non usare anticoagulanti contenenti citrato.

Il Colesterolo LDL nel siero/plasma è stabile per 7 giorni a 2-8°C, 1 mese a -20°C. Scartare i campioni contaminati.

PROCEDURA

Lunghezza d'onda:	600 nm (578 – 620 nm)
Temperatura:	37°C
Misura:	contro acqua distillata

Pipettare come segue:

Reagente R1	300 µL
Campione /Calibratore	4 µL

Miscelare, attendere 5 minuti, leggere la Assorbanza iniziale (Abs 1) e quindi aggiungere:

Reagente R2	100 µL
-------------	--------

Attendere altri 5 minuti e leggere l'Assorbanza finale (Abs 2). Calcolare il Δ Abs (Abs 2 – Abs 1) per campioni e calibratore.

CALCOLO

$$\text{Colesterolo LDL} = \frac{\Delta \text{ Abs (Abs 2 - Abs 1) Camp.}}{\Delta \text{ Abs (Abs 2 - Abs 1) Calib.}} \times \text{Conc. Calibratore}$$

Fattore di conversione: mg/dL x 0,0259 = mmol/L

CALIBRAZIONE CON CALIBRATORE

I risultati dipendono dalla accuratezza della calibrazione, dal corretto settaggio del test sullo strumento, dal giusto rapporto volumetrico reagente/campione e dalla corretta temperatura di analisi.

Si consiglia uso di **MTD Diagnostics Calibrator**:

Chemistry Multicalibrator - REF CAL1010 (10 x 3 mL)

CONTROLLO QUALITA'

Sieri di controllo normali e patologici a concentrazione nota, devono essere analizzati regolarmente in ogni seduta analitica.

Utilizzare il materiale di controllo di qualità di MTD Diagnostics:

Chemistry Control N - REF CNN1010 10x5 mL (Livello 1)

Chemistry Control P - REF CNP1020 10x5 mL (Livello 2)

VALORI DI RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICI

La valutazione del rischio aterosclerotico deve essere fatta valutando sia i valori del Colesterolo HDL che del Colesterolo LDL.

Colesterolo HDL

Donna: 30 – 85 mg/dL

Uomo: 30 – 70 mg/dL

Colesterolo LDL

Adulti: 66 – 178 mg/dL

Tabella interpretativa rischio cardiovascolare per valori HDL

Il Colesterolo HDL presenta un'elevata azione protettiva contro il rischio dell'insorgenza di malattie cardiovascolari.

Azione protettiva HDL	Uomini	Donne
Elevata	> 55 mg/dL	> 65 mg/dL
Nessuna	35-55 mg/dL	45-65 mg/dL
Carente	< 35 mg/dL	< 45 mg/dL

Tabella interpretativa rischio cardiovascolare per valori LDL

Ottimale	< 100 mg/dL
Rischio Basso	100 – 129 mg/dL
Rischio moderato	130 – 159 mg/dL
Rischio alto	160 – 169 mg/dL
Rischio molto alto	> 190 mg/dL

The European Task Force on Coronary Prevention raccomanda di abbassare la concentrazione di Colesterolo Totale a meno di 190 mg/dL (5.0 mmol/L) e di LDL-Colesterolo a meno di 115 mg/dL (3.0 mmol/L).

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

PRESTAZIONI

PRECISIONE:

Livello basso: Campioni= 20; Media = 81; D.S. = 1,45; CV = 1,79%

Livello alto: Campioni= 20; Media = 193; D.S. = 3,7; CV = 1,91%

ACCURATEZZA (CORRELAZIONE): Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) ha dato la seguente correlazione:

$$y=1,01x-3,39 \text{ con } r=0,999$$

SENSIBILITA': 5 mg/dL

LINEARITA': 5 – 400 mg/dL

INTERFERENZA E SPECIFICITA'

Valori di Emoglobina fino a 400 mg/dL, di Bilirubina fino a 20 mg/dL, di Acido Ascorbico fino a 40 mg/dL, di Glucosio fino a 500 mg/dL, di Trigliceridi fino a 2000 mg/dL non hanno influenzato i risultati ottenuti.

NOTE

1. Il reagente può essere utilizzato con differenti strumenti. Ogni applicazione su strumenti dovrebbe essere validata per dimostrare che i risultati coincidano con le caratteristiche e prestazioni del metodo. Si raccomanda di controllare periodicamente lo strumento. Contattare il proprio fornitore per ogni problema relativo alla metodica applicativa.

2. La diagnosi clinica non dovrebbe essere effettuata sui risultati di un singolo test, ma dovrebbe essere integrata con dati clinici e di laboratorio.

PRECAUZIONI

R2 contiene 4-AMINOANTIPYRINE 2.5 mmol/L – CAS 83-07-8 Xn R22 (H302)

R22(H302) – Nocivo in caso di ingestione

Il prodotto non contiene altre sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 (CLP) ovvero le loro concentrazioni sono tali da non essere considerate persistenti, bioaccumulanti o tossiche (PBT). Pertanto, esso non è soggetto alla etichettatura speciale prevista dalla suddetta regolamentazione. Il prodotto è etichettato secondo la direttiva per la marcatura CE (98/79/CE). Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve tenere allorchè si maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 – P351 – P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 – P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 – P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali, applicando la legislazione vigente.

S63 (P304 – P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti.

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA COMPLETA AL PRODUTTORE.

SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
	Numero di catalogo		Scadenza
	Numero di lotto		Fabbricante

BIBLIOGRAFIA

Friedewald W.F., et al, Clin Chem, 18: 449 – 502, 1972.

Rifai N., et al, clin Chem, 38: 150-160, 1992.

Armstrong V., et al, Arztl lab, 31:325-330, 1985.

Bachorik P.S. and Ross J.W., Clin Chem, 41 : 1414-1420, 1995.

Passing H. And Bablok W., J Clin Chem Clin Biochem, 21: 709-720, 1983.

Bablok W., et al, J Clin chem Clin Biochem, 26: 783-790, 1988.