



BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANT :
BIOLABO SAS,

Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

CHOLESTEROL-LDL Méthode directe

Réactif pour le dosage quantitatif du cholestérol-LDL
dans le sérum ou le plasma humains

REF 90416	R1 1 x 30 mL	R2 1 x 10 mL	100-125 Tests
REF 90816	R1 2 x 30 mL	R2 2 x 10 mL	200-250 Tests
Inclus dans chaque coffret		REF 95506 R1 1 x 2 mL	R2 1 x 5 mL

CODE CNQ : SX

SUPPORT TECHNIQUE et COMMANDES

Tel : (33) 03 23 25 15 50

Fax : (33) 03 23 256 256



IVD USAGE IN VITRO

INTERET CLINIQUE (1) (3)

Les lipoprotéines de faible densité (LDL), sont synthétisées dans le foie sous l'action de différentes enzymes lipolytiques sur les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) riches en triglycérides. De nombreuses études cliniques et épidémiologiques ont montré qu'une augmentation du Cholestérol-LDL sérique peut être significative d'une augmentation du risque d'athérosclérose et de maladies des artères coronaires. D'autres études ont montré qu'une diminution du Cholestérol-LDL sérique peut être corrélée avec une régression des lésions athérosclérotiques.

PRINCIPE

Méthode directe avec détergents sélectifs, sans pré-traitement du spécimen.

Au cours de la première phase, seules les lipoprotéines non-LDL sont solubilisées par le détergent 1. Le cholestérol ainsi généré, soumis à l'action de la cholestérol Oxydase (CO) et de la cholestérol Estérase (CE), produit un composé incolore.

Au cours de la seconde phase, le détergent 2 solubilise le cholestérol-LDL. Le couple chromogénique développe une réaction colorée proportionnelle à la concentration en cholestérol-LDL. La lecture s'effectue à 546 nm (520-580).

REACTIFS

flacon R1 REACTIF ENZYMES

Tampon MES pH 6,3	Cholestérol oxydase
Acide ascorbique oxydase	Cholestérol estérase
4-amino-antipyrine	Détergent 1
Péroxydase	Conservateur

flacon R2 DETERGENT SPECIFIQUE

Tampon MES pH 6,3	Détergent 2
DSBmT	Conservateur

MES : acide morpholino-éthane-sulfonique
DSBmT : N,N-bis (4-sulphobutyl)-m-toluidine-disodium

REF 95506 BIOLABO CALIBRATEUR HDL / LDL / CK MB

Flacon R1 (lyophilisat) : 1 x 2 mL Flacon R2 (diluante) : 1 x 5 mL

Voir la Notice technique spécifique du lot incluse dans ce coffret

PREPARATION DES REACTIFS

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

STABILITE ET CONSERVATION

Stocker à 2-8°C, dans le flacon d'origine bien bouché et à l'abri de la lumière

- Avant ouverture, s'ils sont conservés et stockés dans les conditions préconisées, les réactifs et calibrateur sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon.
 - Après ouverture et en l'absence de contamination les réactifs sont stables au moins 3 mois (transférer par versement la quantité nécessaire, bien reboucher les flacons et stocker à 2-8°C).
 - Après reconstitution, REF 95506, consulter la notice spécifique du lot
- Ne pas utiliser les réactifs s'ils sont troubles ou si l'absorbance mesurée à 546 nm > 0,050.

Ce réactif doit être réfrigéré pendant le transport.

PRECAUTIONS

Les réactifs BIOLABO sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro.

- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
 - Utiliser des équipements de protection (blouse, gants, lunettes).
 - Ne pas pipeter avec la bouche.
 - En cas de contact avec la peau ou les yeux, rincer abondamment à l'eau et consulter un médecin.
 - Les réactifs contiennent de l'azide de sodium (concentration < 0,1%) qui peut réagir avec les métaux tel que le cuivre ou le plomb des canalisations. Rincer abondamment.
 - La fiche de données de sécurité peut être obtenue sur simple demande.
 - Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.
- Par mesure de sécurité, traiter tout spécimen comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (2) (4)

Patient prélevé après au moins 12-14 h de jeûne. Ne pas utiliser d'oxalate, fluorure, citrate ou héparine.

Plasma : Prélevé sur EDTA et séparé par centrifugation des cellules sanguines dans les 3 heures.

Sérum : Séparé par centrifugation des cellules sanguines dans les 3 heures.

Le cholestérol-LDL est stable dans le spécimen :

- 1 à 3 jours à 2-8°C
- 1 mois à -20°C.

INTERFERENCES (6) (7)

Concentrations (g/L) sans interférences significatives (± 10%) :

Bilirubine Conjuguée :	0,20
Bilirubine Totale :	0,20
Hémoglobine :	5,00
Acide Ascorbique :	0,50
Triglycérides (TG) :	12,93
Gamma-globulines :	50,00

Au-delà, diluer le spécimen avec NaCl 9 g/L, refaire le dosage en tenant compte de la dilution dans le calcul du résultat.

Ne pas diluer les spécimens avec TG > 12,93 g/L, augmenter le volume de réactif R1 et R2 en respectant les ratios et tenir compte de la dilution pour le calcul du résultat.

Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

- Equipement de base du laboratoire d'analyses médicales.
- Calibrant BIOLABO Cholestérol-LDL REF 95806 (2 x 1 mL) ou tout calibrant d'origine humaine raccordé sur une méthode ou un matériau de référence.
- Calibrateur HDL / LDL / CK-MB REF 95506 (2 x 2 mL)
- ou tout calibrateur traçable d'origine humaine.
- Sérums de contrôle HDL / LDL / CK-MB (origine humaine)
 - REF 95516 Contrôle HDL / LDL / CK-MB Taux 1 (2 x 2 mL)
 - REF 95526 Contrôle HDL / LDL / CK-MB Taux 2 (2 x 2 mL)
 ou tout Sérum de contrôle d'origine humaine.

CALIBRATION

- Ne pas utiliser de Calibrant aqueux.
- Utiliser le Calibrant BIOLABO Cholestérol-LDL [REF] 95806.
- Ou le Calibrateur HDL LDL CK-MB [REF] 95506 traçable sur SRM® 1951b (Standard Reference Material®) titrés au CDC (Center for Disease Control)
- Ou tout Calibrant d'origine humaine raccordé sur une méthode ou un matériau de référence.

La fréquence de calibration dépend des performances de l'analyseur et des conditions de conservation du réactif.

Il est recommandé de calibrer à nouveau dans les cas suivants :

1. Changement du lot de réactif.
2. Après opération de maintenance sur l'analyseur.
3. Les valeurs de contrôle sortent des limites de confiance, même après utilisation d'un deuxième flacon de sérum de contrôle fraîchement reconstitué.

CONTRÔLE DE QUALITE

CODE CNQ : SX

- [REF] 95516 Contrôle HDL LDL CK-MB Taux 1
- [REF] 95526 Contrôle HDL LDL CK-MB Taux 2
- Ou tout sérum de contrôle d'origine humaine titré pour cette méthode (détergent sélectif et accélérateur).
- Programme externe de contrôle de la qualité.

Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :

- Au moins un contrôle par série.
- Au moins un contrôle par 24 heures.
- Changement de flacon de réactif.
- Après opérations de maintenance sur l'analyseur.

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites de confiance indiquées, appliquer les actions suivantes :

1. Répéter le test en utilisant le même contrôle.
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, préparer un sérum de contrôle fraîchement reconstitué et répéter le test.
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un autre calibrant ou un calibrant fraîchement reconstitué et répéter le test.
4. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, calibrer à nouveau en utilisant un autre flacon de réactif et répéter le test.
5. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local.

INTERVALLES DE REFERENCE (5)

Cholestérol-LDL	g/L	[mmol/L]
Valeurs recommandées	< 1,30	[< 3,36]
Risque faible	1,30-1,59	[3,36 – 4,11]
Risque élevé	≥ 1,60	[≥ 4,13]

Il est recommandé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence pour la population concernée.

PERFORMANCES (5)

Intra-série : N = 20	Taux			Inter-série : N = 40	Taux		
	faible	moyen	élevé		faible	moyen	élevé
Moyenne g/L	0,981	1,465	2,098	Moyenne g/L	0,981	1,427	2,073
S.D. g/L	0,007	0,0096	0,0131	S.D. g/L	0,022	0,028	0,036
C.V. %	0,73	0,66	0,62	C.V. %	2,27	1,95	1,73

Limite de détection : environ 0,07 g/L.

Sensibilité : environ 0,212 Abs. pour 1 g/L à 546 nm.

Comparaison avec Méthode de Comparaison Désignée—MCD (n = 54) :

Moyenne BIOLABO : 1,23 g/L	Moyenne MCD : 1,25 g/L
S.D. BIOLABO : 0,307 g/L	S.D. MCD : 0,309 g/L
BIOLABO = 0,955 (MCD) + 0,0302 g/L	r = 0,958

LINEARITE

La réaction est linéaire de 0,07 à 9,00 g/L (0,18 à 23 mmol/L). Au delà de cette concentration, diluer l'échantillon 1+1 avec une solution NaCl 9 g/L et doser à nouveau. Multiplier le résultat par 2. La limite de linéarité dépend du rapport des volumes spécimen/réactif.

MODE OPERATOIRE (TECHNIQUE MANUELLE)

Ne pas utiliser de Calibrant aqueux.

Ramener les réactifs et spécimens à température ambiante.

Vérifier et régler l'appareil pour lecture sur des micro-volumes	Blanc	Calibrateur	Dosage
Réactif R1	300 µL	300 µL	300 µL
Calibrateur		3 µL	
Spécimen			3 µL
Bien mélanger, laisser reposer 5 minutes à 37°C. Enregistrer les absorbances A1 à 546 nm (520-580) contre le blanc réactif			
Ajouter	Blanc	Calibrateur	Dosage
Réactif R2	100 µL	100 µL	100 µL
Bien mélanger, laisser reposer 5 minutes à 37°C. Enregistrer les absorbances A2 à 546 nm (520-580) contre le blanc réactif.			

Remarques :

- 1- En fonction des caractéristiques de l'instrument, les volumes ci dessus peuvent être modifiés en conservant le rapport de dilution (ex : R1 240 µL, R2 80 µL, spécimen 2.4 µL ou 3 µL).
Se reporter au § LINEARITE.
- 2- Des procédures spécifiques sont disponibles pour les analyseurs automatiques. Contacter le service technique BIOLABO.

CALCUL

L'utilisation d'un analyseur automatique en mode bi-chromatique (546-660 nm) est recommandée.

En méthode manuelle, calculer $\Delta Abs. = (A2 - 0,75 A1)$ pour le dosage et le Calibrant.

$$LDL-C = \frac{\Delta Abs. Dosage}{\Delta Abs. Calibrant} \times \text{concentration du Calibrant}$$

$$g/L \times 2,586 = \text{mmol/L}$$

REFERENCES

- (1) TIETZ N.W. Text book of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 819-850.
- (2) Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 684-689
- (3) Gotto, A.M., Lipoprotein metabolism and the ethiology of hyperlipidemia, Hospital Practice, 23 ; Suppl. 1, 4 (1988)
- (4) National Institutes on Health publication No 95-3044, p.8, p.48, (1995).
- (5) Bachorik P. S. et al., National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of Low Density Lipoprotein Cholesterol ; Executive summary, Clinical Chemistry, (1995), Vol.41, n°10. p.1414-1420.
- (6) National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Protocol No 7, Vol. 4., No 8, (June 1984).
- (7) YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests, 4th Ed. (1995) p.3-379-386