

Infinity™

Réactif du cholestérol

CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

Stabilité	:	12 mois entre 2 et 8 °C
Limites de linéarité	:	0 - 20 mmol/L (0 - 774 mg/dL)
Nature de l'échantillon	:	Sérum et Plasma
Méthode	:	Méthode enzymatique
Préparation du réactif	:	Ajouter le volume spécifié d'eau distillée ou désionisée.

IVD

Utilisation prévue

Ce réactif est prévu pour la quantification in vitro et la détermination du diagnostic du cholestérol dans le sérum humain ou dans le plasma.

INTÉRÊT CLINIQUE

La mesure des niveaux de cholestérol du sérum peut servir d'indicateur du fonctionnement du foie et biliaire, de l'absorption intestinale, de la tendance à une maladie artérielle coronaire, du fonctionnement de la thyroïde et d'une maladie surrénale. Les niveaux de cholestérol sont importants dans le diagnostic et la classification de l'hyperlipidémie. Le stress, l'âge, le sexe, l'équilibre hormonal et la grossesse affectent les niveaux normaux de cholestérol.^{1,2}

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

L'utilisation d'enzymes pour doser le cholestérol a été étudiée par plusieurs chercheurs.^{3,4} Ce réactif est basé sur la formule d'Allain et autres⁵ et la modification de Roeschlau⁶, il comprend d'autres améliorations pour rendre le réactif stable en solution.

CE

1. Esters de cholestérol -----> Cholestérol + Acides gras

CO

2. Cholestérol + O₂ -----> Cholest-4-ène-3-one + H₂O₂

POD

3. 2H₂O₂ + HBA + 4-AAP -----> Colorant quinoneimine + 4H₂O

Où :

CE	=	Estérase de cholestérol	4-AAP	=	4-aminoantipyrine
CO	=	Oxydase de cholestérol	POD	=	Péroxydase
HBA	=	Acide hydroxybenzoïque			

1. Les esters de cholestérol subissent une hydrolyse enzymatique par l'estérase de cholestérol en cholestérol et acides gras libres.
2. Le cholestérol libre, comprenant celui présent à l'origine, est alors oxydé par l'oxydase de cholestérol en cholest-4-ène-3-one et en peroxyde d'hydrogène.
3. Le peroxyde d'hydrogène se combine avec l'HBA et la 4-aminoantipyrine pour former un chromophore (colorant quinoéimine) pouvant être quantifié à 500-550 nm. Pour les analyseurs bichromatiques, la longueur d'onde blanche doit être réglée à 600 ou 660 nm.

COMPOSITION DU RÉACTIF

Ingrédients actifs

	Concentration
Oxydase de cholestérol (microbien)	>200 U/L
Estérase de cholestérol (microbien)	>500 U/L
Péroxydase (Raifort)	>300 U/L
4-aminoantipyrine	0,25 mmol/L
HBA	10 mmol/L
Tampon	50 mmol/L
Agent de surface	
pH 6,7 ± 0,1 à 20°C	

PRECAUTIONS: En cas de débordements ou de coulures rincer les surfaces affectées à l'eau. Le réactif contient de l'Azide de sodium et est susceptible de réagir avec le plomb et le cuivre résiduels. Afin d'éliminer toutes traces de réactif, rincer avec de grandes quantités d'eau. La fiche de sécurité sur le réactif du cholestérol Infinity contient des informations plus détaillées.

- R22 Nocif si avalé.
 R36/37/38 Irritant pour les yeux, le système respiratoire et la peau.
 S26 En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.

SYMBOLES DE L'ÉTIQUETAGE DU PRODUIT

EC REP	Représentant Autorisé		Limites de température
IVD	Utilisation en diagnostique in vitro		Utiliser jusque
LOT	Numéro de lot		ATTENTION: Consulter les instructions d'utilisation
REF	Référence catalogue		Fabriqué par
	Consulter les instructions d'utilisation		Xn - Nocif

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Reconstituer le réactif en ajoutant le volume d'eau distillée ou désionisée indiqué sur l'étiquette du flacon.

STABILITÉ ET CONSERVATION

Lorsqu'il est conservé réfrigéré à 2-8°C, le réactif est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon ou du coffret.

Réactif reconstitué :

Stocké entre 2 et 8 °C, le réactif est stable pendant au moins 12 mois.

Indications de la détérioration du réactif :

- Turbidité;
- Absorbance <0,2 AU à 500 nm; et/ou
- Impossibilité de ramener les valeurs de contrôle dans la plage définie.

COLLECTE ET MANIPULATION DE L'ÉCHANTILLON

Collecte⁹ : Aucune préparation spéciale du patient n'est nécessaire, il est recommandé qu'avant la collecte, les patients suivent leur régime habituel et soient dans leur état de santé usuel. Les patients très malades, perdant du poids, enceintes ou ayant eu un infarctus du myocarde au cours des 3 derniers mois doivent être reportés. Le sang doit être collecté par ponction veineuse, après que le patient est resté assis pendant au moins 5 minutes. L'utilisation du garrot doit être réduite au minimum et l'échantillon doit coaguler pendant 30 minutes à température ambiante.

Sérum : Le meilleur spécimen est un sérum non hémolysé collecté en suivant les instructions ci-dessus.

Plasma : Utiliser du plasma heparinisé.

Stockage⁹ : Les échantillons doivent être analysés le jour de la collecte. Lorsqu'ils sont stockés à 4 °C, les échantillons sont stables pendant 3 à 4 jours. Les échantillons sont stables à -20 °C pendant plusieurs mois.

MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Si nécessaire, des pipettes pour distribuer précisément les volumes mesurés.
- Un analyseur de biochimie capable de maintenir une température constante (37 °C) et de mesurer l'absorbance entre 500 et 550 nm.
- Consommables nécessaires au fonctionnement de l'analyseur, par ex.: cupules échantillon.
- Matériau de contrôle de dosage normal et anormal.
- Matériau d'étalonnage traçable au NRS/CHOL.

PROCÉDURE DE DOSAGE

Le paramétrage suivant est recommandé. Des applications selon les analyseurs utilisés sont disponibles sur demande auprès de notre Service Applications.

PARAMETRE DU SYSTÈME

Température	37°C
Longueur d'onde principale	500 nm (500 - 550 nm)
Longueur d'onde secondaire	660 nm (600 - 660 nm)
Type de dosage	Point final
Sens	Augmentation
Echantillon : Taux de réactif	1 : 100
p. ex. : Vol. échantillon	3 µL
Vol. réactif	300 µL
Temps d'incubation	300 secondes
Limites du réactif blanc	Basse 0,00 AU
(500 nm, chemin lumineux 1cm)	Haute 0,20 AU
Linéarité	0-20 mmol/L (0-774 mg/dL)
Sensibilité	62 ΔmA par mmol/L
(500 nm, chemin lumineux 1cm)	1,6 ΔmA par mg/dL

CALCULS

Les résultats sont calculés directement par l'analyseur selon la formule suivante :

$$\text{Cholestérol} = \frac{\Delta \text{Abs}/\text{min de l'inconnu}}{\Delta \text{Abs}/\text{min de l'étalon}} \times \text{valeur de l'étalon}$$

Exemple :

Absorbance de l'étalon	=	0,35
Absorbance de l'inconnu	=	0,25
Valeur de l'étalon	=	7,0 mmol/L (271 mg/dL)

$$\text{Cholestérol} = \frac{0,25}{0,35} \times 7,0 = 5,0 \text{ mmol/L}$$

$$\text{Cholestérol} = \frac{0,25}{0,35} \times 271 = 194 \text{ mmol/L}$$

REMARQUES

- Les spécimens présentant une valeur de cholestérol supérieure à 20 mmol/L (774 mg/dL) doivent être dilués et dosés à nouveau. Multiplier les résultats par le facteur de dilution.
- Le dosage peut être fait à 30 °C en augmentant le temps d'incubation à 10 minutes ou à 25 °C en incubant pendant 15 minutes.
- La couleur révélée est stable pendant 30 minutes.
- Conversion d'unité : mmol/L x 38,7 = mg/dL.

CALIBRAGE

Le calibrage est obligatoire. Un étalon aqueux ou un étalon à base de sérum traçable au NRS/CHOL est recommandé. Les niveaux d'étalon convenables vont de 5,2 à 7,8 mmol/L (200 - 300 mg/dL). Se reporter aux spécifications du fabricant de l'appareil pour la fréquence d'étalonnage des instruments automatisés. Cependant, la stabilité de l'étalonnage dépend des performances optimales de l'appareil et de l'utilisation de réactifs stockés selon les recommandations de la section stabilité et stockage de l'insert du présent ensemble. Un nouveau calibrage est recommandé, dans les situations suivantes :-

- Changement de numéro du lot
- Maintenance préventive ou remplacement d'un des composants fondamentaux de l'analyseur.
- Les contrôles ne sortent pas à l'intérieur de leur fourchette de tolérance, et l'addition d'un nouveau flacon de contrôle ne peut remédier à ce problème.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Pour garantir un contrôle de qualité adéquat, deux niveaux de contrôle, l'un dans la plage normale (4,5 - 5,2 mmol/L ou 175 - 200 mg/dL), et l'autre à un niveau élevé (6,2 - 6,7 mmol/L ou 240 - 250 mg/dL) doivent être effectués comme pour des échantillons inconnus :

- Au moins toutes les huit heures
- Lorsqu'un nouveau flacon de réactif est utilisée.
- Après une maintenance préventive ou le remplacement d'un des composants fondamentaux de l'analyseur.

Si les résultats de contrôle ne sortent pas dans leur fourchette de tolérance, procéder alors aux actions suivantes :

- Répéter les mêmes contrôles :
- Si les résultats sont encore , en dehors de leur fourchette de tolérance préparer un sérum de contrôle frais et recommencer le test.
- Si les résultats sont toujours en dehors de leur fourchette de tolérance, recalibrer à l'aide d'un calibrateur frais, et répéter le test.
- Si les mêmes problèmes de ciblage persistent, effectuer un calibrage avec du réactif fraîchement préparé, puis répéter le test.
- Si malgré ces opérations les résultats de contrôle restent en dehors de leur fourchette de tolérance, contactez notre service Applications.

LIMITES DE LA PROCEDURE:

- Des études menées pour déterminer le niveau d'interférence entre l'hémoglobine, la bilirubine (libre ou conjuguée) et la lipémie, ont donné les résultats suivants:

Hémoglobine: Aucune interférence de l'hémoglobine jusqu'à 500 mg/dL.

Bilirubine libre: Aucune interférence de la bilirubine à l'état libre jusqu'à 82 µmol/L (10,6 mg/dL)

Bilirubine conjuguée: Aucune interférence de la bilirubine sous sa forme conjuguée jusqu'à 58 µmol/L (3,4 mg/dL).

Lipémie: Aucune interférence de la lipémie mesurée à 630 nm, jusqu'à 1,68 d'Absorbance.

- L'acide ascorbique à des niveaux anormalement hauts peut interférer négativement.
- Les autres 3-beta-hydroxystéroïdes interfèrent positivement mais ne sont normalement pas présents en quantités significatives dans le sérum humain.
- La publication de Young examine plus en détail les facteurs affectant le dosage du cholestérol.⁷

VALEURS ATTENDUES

Les valeurs suivantes sont celles recommandées par le groupe d'experts du programme d'éducation sur le cholestérol national des Etats-Unis.⁸

Cholestérol sanguin souhaitable	< 5,2 mmol/L (200 mg/dL)
Cholestérol sanguin élevé limite	5,2 - 6,1 mmol/L (200-239 mg/dL)
Cholestérol sanguin élevé	> 6,2 mmol/L (240 mg/dL)

MESURES

Les données suivantes ont été obtenues avec le réactif au cholestérol Infinity sur un analyseur de biochimie automatisé bien entretenu. Les utilisateurs doivent établir les performances du produit sur l'analyseur qu'ils utilisent.

IMPRÉCISION

L'imprécision a été évaluée avec deux niveaux de contrôle du commerce et en respectant la procédure NCCLS EP5-T⁹.

	Niveau I	Niveau II
Nombre d'échantillons	20	20
Moyenne (mmol/L / mg/dL)	3,79 / 147	6,76 / 262
SD (mmol/L / mg/dL)	0,08 / 3,1	0,11 / 4,1
C.V. en opération (%)	2,1	1,6
C.V. total (%)	2,8	1,5

COMPARAISON DE METHODES

Des études comparatives ont été menées avec un autre réactif du cholestérol du commerce similaire comme référence. Les étalonnages ont été effectués avec un matériel présentant une valeur de cholestérol traçable selon le laboratoire de normalisation des lipides de l'OMS aux centres pour le contrôle des maladies. Des échantillons de sérum ont été dosés en parallèle et les résultats comparés par régression du moindre carré. Les statistiques suivantes ont été obtenues.

Nombre d'échantillons en double	60
Plage de mesures des échantillons	0,1 - 12,0 mmol/L (4 - 464 mg/dL)
Moyenne des mesures (référence)	5,7 mmol/L (221 mg/dL)
Moyenne des résultats Infinity	5,7 mmol/L (221 mg/dL)
Pente	0,989
Coordonnées à l'origine	-0,02 mmol/L (-0,8 mg/dL)
Coefficient de Corrélation	0,999

LINÉARITÉ

Utilisé selon les prescriptions, le dosage est linéaire entre 0 et 20 mmol/L (0 - 774 mg/dL). La linéarité des appareils automatisés peut différer de la valeur indiquée. Il est recommandé à l'utilisateur de se reporter à l'application de l'appareil appropriée pour l'indication de linéarité spécifique à l'appareil.


SENSIBILITÉ

S'il est effectué selon les recommandations, la sensibilité du présent dosage est de 62 ΔmA par µmol/L ou de 1,6 ΔmA par µg/dL (chemin lumineux de 1 cm, 500 nm).

RÉFÉRENCES

- Searcy R L. M; "Diagnostic Biochemistry" McGraw-Hill, New York, NY. 1969.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Burtis CA and Ashwood ER (Eds). Second Edition, WB Saunders Company, 1994.
- Flegg H M. Ann. Clin. Biochem. 1973; 10:79.
- Richmond W. M; Clin. Chem. 1973; 19:1350-1356.
- Allain C C, Poon L S, Chan C S G, Richmond W and Fu P C. Clin Chem. 1974; 20: 470-475.
- Roeschlau P, Bernt E and Gruber W A M; Clin. Chem Clin Biochem 1974; 12: 226.
- Young D S et al. M; Clin. Chem 1975; 21.
- NCEP Expert Panel. Arch Intern Med 1988; 148:36-69.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Laboratory Devices. NCCLS; 1984, NCCLS Publication EP5-T.

© 2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

 Fisher Diagnostics
a division of Fisher Scientific Company, LLC
a part of Thermo Fisher Scientific Inc.
Middletown, VA 22645-1905 USA
Phone: 800-528-0494
540-869-3200
Fax: 540-869-8132

 MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



REF

Information Commandes

No de Catalogue	Configuration
TR13521	2 x 125 mL