

# Infinity™

## Réactif Stable Liquide du Cholestérol

### CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

Stabilité	:	Jusqu'à péremption à 2-8°C
Limites de linéarité	:	Jusqu'à 20 mmol/L (774 mg/dL)
Nature de l'échantillon	:	Sérum ou Plasma
Méthode	:	Point final
Préparation du réactif	:	Fourni prêt à l'emploi.

**IVD**

#### UTILISATION PRÉVUE

Ce réactif est prévu pour la quantification in vitro et la détermination 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.<sup>1,2</sup>

#### PRINCIPE DE LA MÉTHODE

L'utilisation d'enzymes pour doser le cholestérol a été étudiée par plusieurs chercheurs.<sup>3,4</sup> Ce réactif est basé sur la formule d'Allain et autres<sup>5</sup> et la modification de Roeschlau<sup>6</sup>, il comprend d'autres améliorations pour rendre le réactif stable en solution.

1. Esters de cholestérol  $\xrightarrow{CE}$  Cholestérol + Acides gras
2. Cholestérol + O<sub>2</sub>  $\xrightarrow{CO}$  Cholest-4-ène-3-one + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
3. 2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + HBA + 4AAP  $\xrightarrow{POD}$  Colorant quinoneimine + 4H<sub>2</sub>O

#### Où :

CE =	Estérase de cholestérol	4AAP =	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:** Ne pas ingérer. 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 Stable Liquide Infinity contient des informations plus détaillées.

#### PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le réactif est fourni prêt à l'emploi.

### SYMBOLES DE L'ÉTIQUETAGE DU PRODUIT

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

#### STABILITÉ ET CONSERVATION

Stocké au réfrigérateur entre 2 et 8 °C dans des récipients fermés et protégés de la lumière, le réactif est stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon.

#### Indications de la détérioration du réactif :

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

#### COLLECTE ET MANIPULATION DE L'ÉCHANTILLON

**Collecte:**<sup>7</sup> 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 :** Le plasma heparinisé est un échantillon convenable.

**Stockage:**<sup>2</sup> 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

- 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.

#### PARAMETRAGE DU SYSTÈME

Température	30/37°C
Longueur d'onde principale	500 nm (500 - 550nm)
Longueur d'onde secondaire	660 nm (600 - 660 nm)
Type de dosage	Point final
Sens	Augmentation
Échantillon : 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 0,0 AU
(500 nm, chemin lumineux 1cm)	Haute 0,2 AU
Linéarité	0-20 mmol/L (0-774 mg/dL)
Sensibilité Analytique	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 :

$$\text{Cholestérol} = \frac{\text{Absorbance de l'inconnu}}{\text{Absorbance de l'étalon}} \times \text{valeur de l'étalon}$$

#### Exemple :

Absorbance de l'étalon	=	0,42
Absorbance de l'inconnu	=	0,25
Valeur de l'étalon	=	7,0 mmol/L (271 mg/dL)

$$\text{Cholestérol} = \frac{0,25}{0,42} \times 7,0 = 4,2 \text{ mmol/L}$$

$$\text{Cholestérol} = \frac{0,25}{0,42} \times 271 = 161 \text{ mg/dL}$$

#### REMARQUES

1. 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.
2. 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.
3. La couleur révélée est stable pendant 30 minutes.
4. 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 du calibrage est liée aux performances de l'analyseur ainsi qu'à l'utilisation des réactifs conservés dans les conditions décrites dans le paragraphe STABILITÉ ET CONSERVATION de cette notice.

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 une fois par jour ou conformément aux instructions du laboratoire.
- Lorsqu'une nouvelle flacon de réactif est utilisée.
- Après une maintenance préventive ou le remplacement d'un des composants fondamentaux de l'analyseur.
- Avec chaque calibrage.

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

1. 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 182 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 630nm, jusqu'à 1,68 d'Absorbance.

2. L'acide ascorbique à des niveaux anormalement hauts peut interférer négativement.<sup>8</sup>
3. Les autres 3-beta-hydroxystéroïdes interfèrent positivement mais ne sont normalement pas présents en quantités significatives dans le sérum humain.<sup>9</sup>
4. La publication de Young examine plus en détail les facteurs affectant le dosage du cholestérol.<sup>9</sup>

#### VALEURS ATTENDUES

Les valeurs suivantes sont celles recommandées par le groupe d'experts du programme d'éducation sur le cholestérol national des Etats-Unis.<sup>7</sup>

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 Stable Liquide 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-T<sup>10</sup>.

	Niveau I	Niveau II
Nombre d'échantillons	20	20
Moyenne (mmol/L / mg/dL)	3,79 / 147	6,76 / 262
<b>Dans la session:</b> SD (mmol/L / mg/dL)	0,08 / 3,1	0,11 / 4,1
C.V. (%)	2,1	1,6
<b>Total:</b> SD (mmol/L / mg/dL)	0,11 / 4,1	0,10 / 3,9
C.V. (%)	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 Cholestérol 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).

#### SENSIBILITÉ ANALYTIQUE

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

1. Searcy R L. "Diagnostic Biochemistry" McGraw-Hill, New York, NY. 1969.
2. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Burtis CA and Ashwood ER (Eds). Second Edition, WB Saunders Company, 1994.
3. Flegg H M. Ann. Clin. Biochem. 1973; 10:79.
4. Richmond W. Clin. Chem. 1973; 19:1350-1356.
5. Allain C C, Poon L S, Chan C S G, Richmond W and Fu P C. Clin Chem. 1974; 20: 470-475.
6. Roeschlau P, Bernt E and Gruber W A. Clin. Chem Clin Biochem 1974; 12: 226.
7. NCEP Expert Panel. Arch Intern Med 1988; 148: 36-69.
8. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnosis (4th Ed.) Burtis, Ashwood & Bruns (Eds), Elsevier Saunders, 2005; 943.
9. Young D S et al. Clin. Chem 1975; 21.
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Laboratory Devices. NCCLS; 1984, NCCLS Publication EP5-T.

 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

840349 (R1)



© 2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. Hitachi is a registered trademark of Roche Diagnostics, Indianapolis, IN 46250. I.Lab 600 is a registered trademark of Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

REF

#### Information Commandes

No de Catalogue	Configuration
2350-400H	4 x 100 mL (Hitachi)
TR13421/2350-250	2 x 125 mL
2350-500	2 x 250 mL
7500-012A	4 x 500 mL
TL13401	8 x 100 mL (ILab 600)
TY13401	4 x 50 mL (Hitachi)