

ABX Pentra HDL Direct CP

REF A11A01636

REAGENT 1 62 mL

REAGENT 2 21 mL

IVD  2797

HORIBA ABX SAS
Parc Euromédecine
Rue du Caducée
BP 7290
34184 Montpellier Cedex 4
FRANCE



■ Pentra C200

Réactif de diagnostic pour le dosage quantitatif *in vitro* du cholestérol HDL (lipoprotéine de haute densité) dans le sérum ou le plasma humain par colorimétrie.

Version des applications

Sérum, plasma : HDL

01.xx

Domaine d'utilisation ^{a b c}

Le réactif **ABX Pentra HDL Direct CP** est destiné au dosage quantitatif *in vitro* du cholestérol HDL (lipoprotéine de haute densité) dans le sérum et le plasma humains basé sur un dosage enzymatique avec méthodologie détergent sélectif et accélérateur.

Utilisation en laboratoires cliniques.

Les dosages de la lipoprotéine sont utilisés dans le diagnostic et le traitement de troubles lipidiques, de l'athérosclérose et de différentes maladies hépatiques et rénales.

L'évaluation des variations physiologiques et pathologiques de la concentration de cholestérol HDL (lipoprotéine de haute densité) dans le sérum et le plasma humains présente un intérêt lors du dépistage ou du suivi de ces maladies.

Intérêt clinique

Les lipoprotéines plasmatiques sont des particules sphériques contenant des quantités variables de cholestérol, de triglycérides, de phospholipides et de protéines. Les phospholipides, le cholestérol libre et les protéines constituent la face extérieure des lipoprotéines ; le noyau, quant à lui, contient surtout du cholestérol

estérifié et des triglycérides. Ces particules permettent de dissoudre et de transporter le cholestérol et les triglycérides dans la circulation sanguine.

Les proportions relatives de protéines et de lipides déterminent la densité de ces lipoprotéines et constituent une base permettant leur classification (1). Les différentes classes de lipoprotéines sont les suivantes : chylomicron, lipoprotéine de très faible densité (VLDL), lipoprotéine de faible densité (LDL) et lipoprotéine de haute densité (HDL). De nombreuses études cliniques ont montré que les effets des lipoprotéines sur le risque de cardiopathie ischémique étaient très différents en fonction de la classe de lipoprotéines concernée (2).

Le rôle principal des HDL dans le métabolisme lipidique est d'absorber et de transporter le cholestérol des tissus périphériques vers le foie par un procédé appelé transport inverse du cholestérol (considéré comme un mécanisme cardioprotecteur) (3). Un taux faible de cholestérol HDL est étroitement lié à une augmentation du risque de cardiopathie ischémique et d'atteinte coronarienne (4, 5, 6, 7, 8, 9). Par conséquent, la détermination du cholestérol HDL sérique est un moyen utile d'identifier les patients présentant un risque élevé. D'après des études menées auprès d'un groupe d'adultes (Adult Treatment Panel), le NCEP (National Cholesterol Education Program ou Programme national d'éducation sur le cholestérol) recommande d'établir un profil lipoprotéique à jeun (cholestérol total, cholestérol LDL, cholestérol HDL et triglycérides) tous les cinq ans, chez tous les adultes âgés de 20 ans et plus, afin de dépister le risque de cardiopathie ischémique (10).

La méthode de référence utilisée pour la détermination quantitative du cholestérol HDL combine ultracentrifugation et précipitation chimique pour séparer

^aModification : modification de chapitre Domaine d'utilisation.

^bModification : modification du marquage CE.

^cModification : nouvelle forme de notice.

ABX Pentra HDL Direct CP

les HDL des autres lipoprotéines, suivies du dosage du cholestérol par la méthode d'Abell et Kendall (11). Cette méthode exige beaucoup trop de temps et de travail pour pouvoir être utilisée dans les analyses de routine (12). Les premières méthodes de routine largement utilisées par les laboratoires comportaient une phase de précipitation sélective et une phase d'extraction des LDL et des VLDL, suivies par le dosage enzymatique du cholestérol HDL dans la fraction surnageante (11). Étant donné que ces méthodes nécessitaient un prétraitement hors ligne et des étapes de séparation, les procédures de dosage ne pouvaient être entièrement automatisées. En conséquence, le dosage de routine du cholestérol HDL était caractérisé par un temps de manipulation long et une faible reproductibilité.

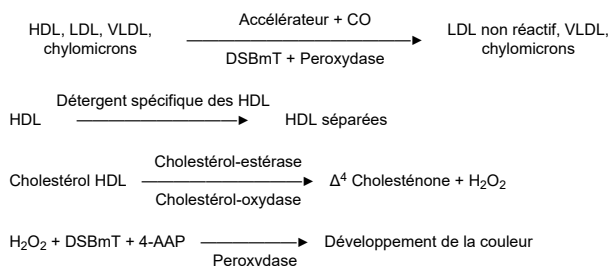
Méthode

ABX Pentra HDL Direct CP (licence PCT/JP97/04442, PCT/JP00/03860) est une méthode de dosage homogène permettant de déterminer directement le taux de cholestérol HDL dans le sérum ou le plasma, sans aucun prétraitement hors ligne ni étape de centrifugation préalable.

La méthode se présente sous forme de deux réactifs et varie en fonction des propriétés d'un détergent unique, comme le montre l'illustration. Cette méthode est basée sur l'accélération de la réaction de la cholestérol-oxydase (CO) avec le cholestérol non estérifié non-HDL et la dissolution des HDL de manière sélective à l'aide d'un détergent spécifique.

Dans le premier réactif, le cholestérol non estérifié non-HDL subit une réaction enzymatique et le peroxyde généré est consommé par une réaction de la peroxydase avec le DSBmT, donnant un produit incolore.

Le deuxième réactif contient un détergent capable de dissoudre les HDL de manière spécifique, la cholestérol-estérase (CE) et le coupleur chromagène permettant de développer la couleur pour la détermination quantitative du cholestérol HDL. Cette méthodologie est désignée sous le nom de Accelerator Selective Detergent.



(4-AAP = 4-aminoantipyrine, CO = Cholestérol-oxydase, DSBmT = N,N-bis(4-sulphobutyl)-m-toluidine-disodium)

Réactifs

ABX Pentra HDL Direct CP est prêt à l'emploi.

Réactif 1 (R1) :

Tampon de Good	
Cholestérol oxydase	< 1000 U/L
Péroxydase	< 1300 ppg U/L
Disodium de N,N-bis(4-sulfobutyl)-m-toluidine (DSBmT)	< 1 mmol/L
Accélérateur	< 1 mmol/L
Conservateur	< 0,06%
Oxydase acide ascorbique	< 3000 U/L

Réactif 2 (R2) :

Tampon de Good	
Cholestérol estérase	< 1500 U/L
4-aminoantipyrine (4-AAP)	< 1 mmol/L
Détergent	< 2%
Conservateur	

ABX Pentra HDL Direct CP doit être utilisé conformément à la présente notice. Le fabricant ne peut garantir son efficacité si ces conditions ne sont pas respectées.

Manipulation

1. Retirer les deux bouchons de la cassette.
2. En cas de présence de mousse, la retirer en utilisant une pipette en plastique.
3. Placer la cassette dans le compartiment de réactif réfrigéré de l'appareil Pentra C200.

Calibrant

Pour la calibration, utiliser :
ABX Pentra HDL Cal (A11A01647) (non inclus)
 2 x 1 mL (lyophilisat)

La valeur de **ABX Pentra HDL Cal** est déterminée par des procédures traçables par rapport au système NRS/CHOL (National Reference System for Cholesterol). Les matériels de calibration ont des concentrations avoisinant le niveau de décision médicale.

ABX Pentra HDL Direct CP

Contrôle ^d

Pour le contrôle qualité interne, utiliser :

- **ABX Pentra N MultiControl** (1300054414) (non inclus)
10 x 5 mL (lyophilisat)
- **ABX Pentra P MultiControl** (1300054415) (non inclus)
10 x 5 mL (lyophilisat)

Chaque contrôle doit être testé quotidiennement et/ou après chaque calibration.

La fréquence des contrôles et les intervalles de confiance doivent être adaptés aux exigences du laboratoire et aux directives spécifiques de votre pays. Pour tester des matériels de contrôle de qualité, vous devez suivre les directives fédérales, nationales et locales. Les résultats doivent être situés entre les limites de confiance définies. Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites de confiance.

Matériels nécessaires mais non fournis ^d

- Analyseur de biochimie : Pentra C200
- Étalon : **ABX Pentra HDL Cal** (A11A01647)
- Contrôles :
 - **ABX Pentra N MultiControl** (1300054414)
 - **ABX Pentra P MultiControl** (1300054415)
- Equipement standard de laboratoire.

Échantillon ^e

Cet appareil est conçu pour réaliser des tests pour la population générale.

Types d'échantillons

- Sérum.
- Plasma recueilli sur EDTA.
- Plasma recueilli sur héparine de lithium.

Les anticoagulants ne figurant pas dans cette liste n'ont pas été testés par HORIBA. Par conséquent, leur utilisation avec ce dosage n'est pas recommandée.

Ces échantillons doivent être prélevés sur le patient après un jeûne de 12 à 14 heures.

Stabilité (11)

- À 4°C : 2 jours
- À -20°C avec des flacons dotés de bouchons hermétiques : 1 mois
- À -70°C avec des flacons dotés de bouchons hermétiques : 2 ans
- Sérum : prélever le sang total par ponction veineuse et laisser coaguler. Centrifuger et extraire le sérum dès que possible après le prélèvement (dans les 3 heures).
- Plasma : centrifuger et extraire le plasma dès que possible après le prélèvement (dans les 3 heures).

Remarque : ne pas utiliser d'anticoagulants contenant du citrate.

Intervalle de référence (9, 13) ^f

Chaque laboratoire doit établir ses propres intervalles de référence. Les valeurs mentionnées dans cette notice sont uniquement données à titre indicatif.

Hommes : 0,77 - 1,81 mmol/L (30 - 70 mg/dL)
Femmes : 0,77 - 2,19 mmol/L (30 - 85 mg/dL)

D'après le NCEP, un taux de cholestérol HDL supérieur ou égal à 1,033 mmol/L (40 mg/dL) est souhaitable et un taux supérieur ou égal à 1,550 mmol/L (60 mg/dL) est considéré comme ayant un effet protecteur contre les cardiopathies ischémiques. Un taux inférieur à 1,033 mmol/L (40 mg/dL) constitue un facteur de risque indépendant significatif de cardiopathie ischémique (9).

La sensibilité et la spécificité cliniques, de même que la valeur prédictive positive et la valeur prédictive négative, ne sont généralement pas reportées pour cet analyte. Cela s'explique car l'analyte n'est pas l'unique indicateur de l'application prévue et du choix du traitement pour le patient. Pour obtenir un diagnostic et un traitement, les résultats issus d'autres tests chimiques cliniques de routine doivent être exploités en conjonction avec d'autres informations diagnostiques ainsi que l'évaluation de l'état de santé du patient par un professionnel de santé.

^dModification : contrôle supprimé.

^eModification : modification de « Échantillon ».

^fModification : information ajoutée.

ABX Pentra HDL Direct CP

Conservation et stabilité

Stabilité avant ouverture :

Stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette s'il est stocké entre 2-8°C.

Stabilité après ouverture :

Se référer au paragraphe « Performances sur Pentra C200 ».

Ne pas congeler.

Traitement des déchets

Se référer à la législation locale en vigueur.

Précautions générales ⁹

- Réactif de diagnostic *in vitro*, à usage professionnel uniquement.
Destiné à une utilisation en laboratoire.
- Réservé à l'usage prescriptif.
- Ce réactif est classé comme non dangereux conformément aux réglementations (CE) n° 1272/2008.
- Ne pas pipeter à la bouche.
- Ne pas réapprovisionner les réactifs.
- Ne pas avaler. Eviter tout contact avec la peau et les muqueuses.
- Respecter les précautions d'emploi standard du laboratoire.
- Les cassettes de réactifs sont à usage unique et leur mise aux déchets doit être effectuée conformément aux législations locales en vigueur.
- Se référer à la FDS associée au réactif.
- Ne pas utiliser le produit en cas de trace visible de détérioration biologique, chimique ou physique.
- Ne pas utiliser le produit si les conditions de stockage – y compris la température – ne sont pas respectées.
- L'utilisateur doit être formé par un représentant HORIBA avant d'utiliser l'appareil.
- Il est de la responsabilité de l'utilisateur de vérifier si ce document est applicable au réactif utilisé.
- Pour toute assistance technique, veuillez contacter le +33 (0)4 67 14 15 16.
- Tout incident grave survenu en relation avec le dispositif doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente du pays dans lequel l'utilisateur et/ou le patient sont établis.

⁹Modification : modification de précautions générales.

^hModification : chapitre ajouté.

ⁱModification : données ajoutées.

Performances sur Pentra C200

Variabilité d'un lot à l'autre ^h

La récupération des échantillons (sérum et plasma) réalisée lors de la libération en CQ de trois lots de réactif consécutifs indique que la variabilité d'un lot à l'autre entre dans les valeurs spécifiées : < 10%.

Sérum, plasma

Les performances présentées ci-dessous ont été obtenues sur l'analyseur Pentra C200.

Le dosage n'a pas été testé ou certifié conforme aux critères de laboratoire CRMLN.

Nombre de tests : approximativement 238 tests

Stabilité du réactif embarqué

Une fois ouverte, la cassette de réactif placée dans le compartiment réfrigéré de l'analyseur Pentra C200 est stable pendant 35 jours.

Volume d'échantillon : 2 µL/test

Limite de détection ⁱ

La limite de détection, déterminée en suivant les recommandations du protocole CLSI (NCCLS), EP17-A2 (14) est égale à 0,01 mmol/L (0,51 mg/dL).

Limite de détermination quantitative

La limite de détermination quantitative, déterminée en suivant les recommandations du protocole CLSI (NCCLS), EP17-A2 (14) est égale à 0,07 mmol/L (2,71 mg/dL).

Exactitude et précision

Répétabilité (précision intra-série)

Répétabilité selon les recommandations du protocole Valtec (15) les échantillons étant testés 20 fois :

- 2 contrôles
- 3 échantillons (concentration basse / moyenne / haute)

ABX Pentra HDL Direct CP

	Moyenne mmol/L	Moyenne mg/dL	CV%
Échantillon de contrôle 1	0,81	31,29	0,73
Échantillon de contrôle 2	1,61	62,33	1,37
Échantillon 1	0,76	29,55	1,15
Échantillon 2	1,45	56,25	1,80
Échantillon 3	2,34	90,44	1,78

Reproductibilité (précision totale)

Reproductibilité suivant les recommandations du protocole CLSI (NCCLS) EP5-A2 (16), les échantillons étant testés en double pendant 20 jours (2 séries par jour) :

- 2 contrôles
- 3 échantillons (concentration basse / moyenne / haute)

	Moyenne mmol/L	Moyenne mg/dL	CV%
Échantillon de contrôle 1	0,84	32,41	2,7
Échantillon de contrôle 2	1,65	63,75	3,4
Échantillon 1	0,79	30,62	3,4
Échantillon 2	1,48	57,35	3,2
Échantillon 3	2,43	94,06	3,5

Intervalle de mesure

Le dosage a confirmé un intervalle de mesure de 0,07 mmol/L (2,71 mg/dL) à 4,50 mmol/L (174,15 mg/dL). La linéarité du réactif a été évaluée jusqu'à 4,50 mmol/L (174,15 mg/dL) conformément aux recommandations du protocole CLSI (NCCLS), EP06-Ed2 (17).

Corrélation ^j

Échantillons de patients : Sérum

Nombre d'échantillons de patients : 122

Des échantillons ont été dosés comparativement à un réactif vendu dans le commerce pris comme référence en suivant les recommandations du protocole CLSI (NCCLS), EP09c (18).

Les valeurs étaient comprises entre 0,44 mmol/L (17,03 mg/dL) et 4,37 mmol/L (169,12 mg/dL).

L'équation de la droite d'allométrie obtenue en utilisant la méthode de régression de Passing-Bablok (19) est :

$$Y = 1,059 X - 0,092 \text{ (mmol/L)}$$

$$Y = 1,059 X - 3,574 \text{ (mg/dL)}$$

avec un coefficient de corrélation $r^2 = 0,994$.

Interférences

Hémoglobine : Pas d'interférence significative jusqu'à une concentration de 350 $\mu\text{mol/L}$ (603 mg/dL).

Triglycérides : Pas d'interférence significative jusqu'à une concentration de triglycérides de 4,52 mmol/L (395,5 mg/dL).

Bilirubine totale : Pas d'interférence significative jusqu'à une concentration de 100 $\mu\text{mol/L}$ (5,9 mg/dL).

Bilirubine directe : Pas d'interférence significative jusqu'à une concentration de 500 $\mu\text{mol/L}$ (29,3 mg/dL).

D'autres limitations sont données par Young comme une liste de médicaments et variables préanalytiques connus pour affecter cette méthodologie (20, 21).

Stabilité de la calibration

Le réactif est calibré à J0. La stabilité de la calibration est vérifiée en testant 2 échantillons de contrôle.

La stabilité de la calibration est de 6 jours.

Remarque : il est recommandé d'effectuer une nouvelle calibration après chaque changement de lots de réactifs ou lorsque les résultats du contrôle de qualité sont en dehors de l'intervalle établi.

Facteur de conversion

$$\text{mmol/L} \times 0,387 = \text{g/L}$$

$$\text{mmol/L} \times 38,7 = \text{mg/dL}$$

Bibliographie

1. Gotto AM. Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia, Hospital Practice. (1988) **23** (Suppl. 1): 4-13.
2. Crouse JR, Parks JS, Schey HM, Kahl FR. Studies of low density lipoprotein molecular weight in human beings with coronary artery disease. J. Lipid Res. (1985) **26** (5): 566-574.
3. Badimon JJ, Badimon L, Fuester V. Regression of Atherosclerotic Lesions by High Density Lipoprotein Plasma Fraction in the Cholesterol-Fed Rabbit. Journal of Clinical Investigation, (1990) **85**: 1234-1241.
4. Castelli WP, Doyle JT, Gordon T, Hames CG, Hjortland MC, Hulley SB, Kagan A, Zukel WJ. HDL Cholesterol and other lipids in coronary heart disease. Circulation (1977) **55**: 767-772.

^jModification : modification de corrélation.

ABX Pentra HDL Direct CP

5. Barr DP, Russ EM, Eder HA. Protein-lipid relationships in human plasma. *Am. J. Med.* (1951) **11**: 480.
6. Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. *Am. J. Med.* (1977) **62**: 707-714.
7. Williams P, Robinson D, Bailey A. High-density lipoprotein and coronary risk factors in normal men. *Lancet.* (1979) **1** (8107): 72-5.
8. Kannel WB, Castelli WP, Gordon T. Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease; New perspectives based on the Framingham study. *Am. J. Med.* (1979) **90**: 85.
9. National Institutes of Health publication No. 93-3095, September, (1993).
10. Special Communication, Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III), *JAMA* (2001) **285** (19): 2486-2497.
11. Warnick GR, Wood PD. National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol: Executive Summary. *Clin Chem.* (1995) **41** (10): 1427-1433.
12. Grundy SM et al. Summary of the Second Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel II), *JAMA* (1993) **269** (23): 3015-3023.
13. Tietz NW. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, WB. Saunders Co., Philadelphia (1986): 256.
14. Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures. Approved Guideline, 2nd ed., CLSI (NCCLS) document EP17-A2 (2012) **32** (8).
15. Vassault A, Grafmeyer D, Naudin C et al. Protocole de validation de techniques (document B). *Ann. Biol. Clin.* (1986) **44**: 686-745.
16. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Method. Approved Guideline, CLSI (NCCLS) document EP5-A2 (2004) **24** (25).
17. Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures. 2nd Edition, CLSI (NCCLS) guideline EP06-Ed2 (2020) **40** (16).
18. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. Approved Guideline, 3rd ed., CLSI (NCCLS) document EP09c (2018) **38** (12).
19. Passing H, Bablok W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* (1983) **21**: 709-720.
20. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*. 5th Edition, Washington, DC, AACC Press (2000).
21. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 120-132.