

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

ABX Pentra HDL Direct CP

■ Pentra C200

Diagnosereagenz für die quantitative *In-vitro*-Bestimmung von HDL-Cholesterin (HDL-C) in Humanserum oder-plasma mittels Kolorimetrie.

Applikationsversion

Serum, Plasma: HDL

01.xx

Verwendungszweck ^{a b c}

ABX Pentra HDL Direct CP ist zur quantitativen *In-vitro*-Bestimmung von HDL-Cholesterin (HDL-C) in Humanserum und -plasma auf der Grundlage eines enzymatischen Tests mit der sogenannten Accelerator Selective Detergent-Methode vorgesehen.

Verwendung in klinischen Labors.

Die Bestimmung von Lipoproteinen wird im Rahmen der Diagnose und Behandlung von Lipidstörungen, Atherosklerose sowie verschiedenen Leber- und Nierenerkrankungen eingesetzt.

Die Bewertung der physiologischen und pathologischen Schwankungen der HDL-Cholesterinkonzentration (HDL-C) in Humanserum und -plasma ist für das Screening oder die Überwachung dieser Krankheiten nützlich.

Klinischer Hintergrund

Plasmalipoproteine sind kugelförmige Partikel, die unterschiedliche Anteile von Cholesterin, Triglyzeriden, Phospholipiden und Proteinen enthalten. Die Oberfläche des Lipoproteinpartikels setzt sich aus Phospholipid, freiem Cholesterin und Protein zusammen, während der innere Kern größtenteils aus verestertem Cholesterin und Triglyzeriden besteht. Diese Partikel dienen zur Solubilisierung und zum Transport von Cholesterin und Triglyzeriden im Blut.

Das Protein/Lipid-Verhältnis bestimmt die Dichte dieser Lipoproteine und bietet die Grundlage zur ihrer Klassifizierung (1). Es gibt folgende Klassen: Chylomikronen, Lipoproteine mit sehr niedriger Dichte (VLDL), Lipoproteine mit niedriger Dichte (LDL) und Lipoproteine mit hoher Dichte (HDL). In zahlreichen klinischen Studien wurde nachgewiesen, dass die verschiedenen Lipoproteinklassen sehr unterschiedliche Auswirkungen im Hinblick auf das Risiko koronarer Herzerkrankungen haben (2).

Die Hauptaufgabe des HDL im Lipidstoffwechsel besteht in der Aufnahme und im Transport von Cholesterin von den peripheren Geweben in die Leber. Dies geschieht über einen Prozess, der als reverser Cholesterintransport bezeichnet wird (gilt als kardioprotektiver Mechanismus) (3). Ein geringer HDL-Cholesterinspiegel erhöht das Risiko koronarer Herzerkrankungen deutlich (4, 5, 6, 7, 8, 9). Die Bestimmung des HDL-Cholesterinwerts im Serum ist daher ein nützliches Mittel zur Erkennung von Risikopatienten. Das Adult Treatment Panel des NCEP (National Cholesterol Education Program) empfiehlt, bei allen Erwachsenen ab 20 Jahren alle fünf Jahre nüchtern ein Lipoproteinprofil (Gesamtcholesterinwert, LDL-Cholesterin, HDL-Cholesterin und Triglyzerid) zu bestimmen, um das Risiko koronarer Herzerkrankungen zu untersuchen (10).

Die Referenzmethode für die Quantifizierung von HDL-Cholesterin ist eine Kombination aus Ultrazentrifugation und chemischer Ausfällung, bei der HDL von anderen Lipoproteinen getrennt wird, gefolgt von einer Cholesterinbestimmung anhand der Abell-Kendall-Methode (11). Diese Methode ist für Routineanalysen zu zeitaufwändig und zu arbeitsintensiv (12). Für die ersten Routinemethoden, die häufig in Labors angewendet wurden, war eine selektive Ausfällung und Entfernung von LDL und VLDL sowie eine anschließende enzymatische

^aÄnderung: Änderung des Kapitels Verwendungszweck.

^bÄnderung: Änderung des CE-Kennzeichens.

^cÄnderung: Neues Beilageformular.

ABX Pentra HDL Direct CP

Messung von HDL-Cholesterin im Überstand erforderlich (11). Da für diese Methoden Vorbehandlungen und Separationsschritte notwendig sind, kann das Testverfahren nicht vollständig automatisiert werden. Infolgedessen litt die Routinebestimmung von HDL-Cholesterin unter langen Bearbeitungszeiten und einer schlechten Reproduzierbarkeit.

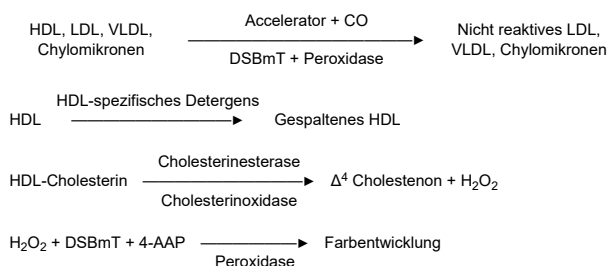
Methode

ABX Pentra HDL Direct CP Der Test (lizenziiert unter PCT/JP97/04442, PCT/JP00/03860) ist eine homogene Methode zur Direktbestimmung der HDL-Cholesterinkonzentration in Serum oder Plasma. Eine Vorbehandlung außerhalb des Geräts oder eine Zentrifugation ist nicht erforderlich.

Wie in der Abbildung gezeigt umfasst die Methode zwei Reagenzien und ist von den Eigenschaften eines einzelnen Detergens abhängig. Diese Methode basiert auf der Beschleunigung der Reaktion von Cholesterinoxidase (CO) mit unverestertem Non-HDL-Cholesterin und der selektiven Auflösung von HDL mit einem HDL-spezifischen Detergens.

Beim ersten Reagenz wird unverestertes Non-HDL-Cholesterin einer Enzymreaktion ausgesetzt. Das dabei entstandene Peroxid reagiert in einer Peroxidase-Reaktion mit DSBmT zu einem farblosen Produkt.

Das zweite Reagenz besteht aus einem Detergens, das spezifisch HDL löst, aus Cholesterinesterase (CE) und einer farbstoffbildenden Kupplungssubstanz, und bildet eine Farbe für die quantitative Bestimmung von HDL-Cholesterin. Dies wird als Accelerator Selective Detergent-Methode bezeichnet.



(4-AAP = 4-Aminoantipyrin, CO = Cholesterinoxidase, DSBmT = N,N-bis(4-Sulfobutyl)-m-Toluidin-Dinatrium)

Reagenzien

ABX Pentra HDL Direct CP ist gebrauchsfertig.

Reagens 1 (R1):

Good-Puffer	
Cholesteroxidase	< 1000 U/L
Peroxidase	< 1300 ppg U/L
N,N-bis(4-sulfobutyl)-m-toluidinedisodium (DSBmT)	< 1 mmol/L
Beschleuniger	< 1 mmol/L
Konservierungsmittel	< 0,06%
Ascorbinsäureoxidase	< 3000 U/L

Reagens 2 (R2):

Good-Puffer	
Cholesterolesterase	< 1500 U/L
4-Aminoantipyrin (4-AAP)	< 1 mmol/L
Detergenz	< 2%
Konservierungsmittel	

ABX Pentra HDL Direct CP sollte gemäß diesen Anweisungen verwendet werden. Bei unsachgemäßer Verwendung kann der Hersteller eine einwandfreie Funktionsweise nicht gewährleisten.

Handhabung

1. Beide Kassettenverschlüsse entfernen.
2. Evtl. vorhandenen Schaum mit einer Kunststoffpipette entfernen.
3. Kassette in den gekühlten Bereich auf dem Reagenzienteller des Pentra C200 stellen.

Kalibrator

Verwendung für Kalibration:

ABX Pentra HDL Cal (A11A01647) (nicht enthalten)
2 x 1 mL (Lyophilisat)

Der Wert von **ABX Pentra HDL Cal** wird mittels Verfahren zugewiesen, die durch das NRS/CHOL (Nationales Referenzsystem für Cholesterin) rückverfolgbar sind. Die Konzentration des Kalibrationsmaterials liegt in etwa beim kritischen Wert.

ABX Pentra HDL Direct CP

Kontrolle ^d

Verwenden Sie für die interne Qualitätskontrolle:

- **ABX Pentra N MultiControl** (1300054414) (nicht enthalten)
10 x 5 mL (Lyophilisat)
- **ABX Pentra P MultiControl** (1300054415) (nicht enthalten)
10 x 5 mL (Lyophilisat)

Jede Kontrolle sollte täglich und/oder nach einer Kalibration getestet werden. Die Häufigkeit der Kontrollen und die Konfidenzintervalle müssen den Laborrichtlinien und den länderspezifischen Richtlinien entsprechen. Beim Testen von Qualitätskontrollmaterial müssen die nationalen bzw. örtlichen Richtlinien eingehalten werden. Die Ergebnisse müssen innerhalb des definierten Sollbereichs liegen. Jedes Labor muss definieren, wie bei Ergebnissen außerhalb dieses Sollbereichs vorgegangen werden soll.

Zusätzlich benötigtes Material ^d

- Automatisches Analysegerät für klinische Chemie: Pentra C200
- Kalibrator: **ABX Pentra HDL Cal** (A11A01647)
- Kontrollen:
 - **ABX Pentra N MultiControl** (1300054414)
 - **ABX Pentra P MultiControl** (1300054415)
- Standard-Laborausrüstung.

Probenmaterial ^e

Die für dieses Gerät bestimmte Testpopulation ist die allgemeine Population.

Probenarten

- Serum.
- Plasma aus EDTA.
- Plasma in Lithiumheparin.

Andere Antikoagulantien als die aufgeführten wurden von HORIBA nicht getestet und werden deshalb nicht für den Einsatz mit diesem Test empfohlen.

Diese Proben sollten dem Patienten nach 12- bis 14-stündiger Nüchternheit entnommen werden.

Haltbarkeit (11)

- Bei 4°C: 2 Tage
- Bei -20°C in Flaschen mit auslauf- und verdunstungssicheren Verschlüssen: 1 Monat
- Bei -70°C in Flaschen mit auslauf- und verdunstungssicheren Verschlüssen: 2 Jahre
- Serum: Vollblut mittels Venenpunktion abnehmen und gerinnen lassen. Zentrifugieren und das Serum möglichst schnell nach der Blutabnahme (innerhalb von 3 Stunden) entfernen.
- Plasma: Zentrifugieren und das Plasma möglichst schnell nach der Blutabnahme (innerhalb von 3 Stunden) entfernen.

Hinweis: Es dürfen keine Antikoagulantien verwendet werden, die Zitrat enthalten.

Referenzbereich (9, 13) ^f

Jedes Labor muss seine eigenen Referenzbereiche einrichten. Die hier angegebenen Werte sind nur Richtlinien.

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

Nach Informationen des NCEP sind HDL-Werte größer oder gleich 1,033 mmol/L (40 mg/dL) als normales Risiko zu betrachten. Man nimmt an, dass Werte größer oder gleich 1,550 mmol/L (60 mg/dL) Schutz vor koronaren Herzerkrankungen bieten. Werte unter 1,033 mmol/L (40 mg/dL) werden als wesentlicher unabhängiger Risikofaktor für koronare Herzerkrankungen angesehen (9).

Klinische Sensitivität und Spezifität, positive Vorhersagewerte und negative Vorhersagewerte werden bei dieser Analyse normalerweise nicht berücksichtigt. Das liegt im Wesentlichen daran, dass diese Analyse nicht der einzige Indikator für den Verwendungszweck und bei der Entscheidung über die Behandlung des Patienten ist. Um eine Diagnose erstellen und einen Behandlungsverlauf festlegen zu können, sind weitere Ergebnisse von routinemäßig durchgeführten Tests für die klinische Chemie zusammen mit anderen Diagnoseinformationen sowie die Beurteilung des Zustands des Patienten durch den behandelnden Arzt erforderlich.

^dÄnderung: Kontrolle entfernt.

^eÄnderung: Änderung der „Probe“.

^fÄnderung: Informationen hinzugefügt.

ABX Pentra HDL Direct CP

Lagerung und Haltbarkeit

Haltbarkeit vor dem Öffnen:

Haltbar bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Datum, wenn die Lagerung bei 2-8°C erfolgt.

Haltbarkeit nach dem Öffnen:

Informationen hierzu finden Sie im Abschnitt „Leistungsmerkmale des Pentra C200“.

Nicht einfrieren.

Entsorgung

Die Entsorgung muss gemäß den örtlichen Vorschriften erfolgen.

Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen ⁹

- Dieses Reagenz ist nur für die professionelle *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.
Zur Verwendung in einem Labor.
- Nur für die bestimmungsgemäße Verwendung.
- Dieses Reagenz ist gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 als nicht gefährlich eingestuft.
- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- Die Reagenzien nicht nachfüllen.
- Produkt nicht einnehmen. Kontakt mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
- Es müssen die standardmäßigen Vorsichtsmaßnahmen für die Verwendung von Laborreagenzien beachtet werden.
- Es handelt sich um Einweg-Reagenzkassetten, deren Entsorgung gemäß den örtlichen Vorschriften erfolgen muss.
- Weitere Informationen enthält das Sicherheitsdatenblatt des Reagenzes.
- Verwenden Sie das Produkt nicht, wenn deutliche Anzeichen für biologische, chemische oder physikalische Defekte vorliegen.
- Das Produkt darf nicht verwendet werden, wenn die empfohlenen Lagerungsbedingungen, einschließlich der Temperatur, nicht befolgt wurden.
- Nutzer müssen vor der Inbetriebnahme und Bedienung des Geräts von einem HORIBA-Vertreter geschult werden.
- Der Benutzer hat sicherzustellen, dass dieses Dokument tatsächlich für das verwendete Reagenz gilt.

- Eine technische Unterstützung erhalten Sie unter der Rufnummer +33 (0)4 67 14 15 16.
- Ernsthafte Störungen im Zusammenhang mit dem Gerät müssen dem Hersteller und der zuständigen Behörde des jeweiligen Landes gemeldet werden, in dem der Nutzer und/oder der Patient seinen Wohnsitz hat.

Leistungsmerkmale des Pentra C200

Schwankung zwischen Chargen ^h

Die Wiederfindung von Proben (Serum und Plasma) während der QK-Freigabe von drei aufeinanderfolgenden Reagenzienchargen hat gezeigt, dass die Schwankungen zwischen den Chargen innerhalb der Spezifikation liegen: < 10%.

Serum, Plasma

Die unten aufgeführten Leistungsmerkmale wurden auf dem Pentra C200-Analysegerät ermittelt. Es wurde nicht geprüft oder zertifiziert, ob der Test die Laborkriterien gemäß CRMLN erfüllt.

Anzahl von Tests: etwa 238 Tests

Haltbarkeit der geladenen Reagenzien

Nach dem Öffnen ist die im gekühlten Bereich auf dem Reagenzienteller des Pentra C200 aufbewahrte Reagenzkassette 35 Tage haltbar.

Probenvolumen: 2 µL/Test

Nachweisgrenze ⁱ

Die Nachweisgrenze wird bestimmt gemäß CLSI (NCCLS), EP17-A2-Protokoll (14) und liegt bei 0,01 mmol/L (0,51 mg/dL).

Quantifizierungsgrenze

Die Quantifizierungsgrenze wird bestimmt gemäß CLSI (NCCLS), EP17-A2 protocol (14) und liegt bei 0,07 mmol/L (2,71 mg/dL).

⁹Änderung: Änderung der allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen.

^hÄnderung: Kapitel hinzugefügt.

ⁱÄnderung: Daten hinzugefügt.

ABX Pentra HDL Direct CP

Genauigkeit und Präzision

Wiederholbarkeit (Wiederholpräzision)

Wiederholbarkeit entsprechend den im Valtec-Protokoll genannten Empfehlungen (15) mit 20-fach getesteten Proben:

- 2 Kontrollen
- 3 Proben (geringe / mittlere / hohe Konzentration)

	Mittelwert mmol/L	Mittelwert mg/dL	VK %
Kontrollprobe 1	0,81	31,29	0,73
Kontrollprobe 2	1,61	62,33	1,37
Probe 1	0,76	29,55	1,15
Probe 2	1,45	56,25	1,80
Probe 3	2,34	90,44	1,78

Reproduzierbarkeit (Gesamtpräzision)

Reproduzierbarkeit gemäß den Empfehlungen des CLSI (NCCLS), EP5-A2-Protokoll (16) mit doppelt getesteten Proben während 20 Tagen (2 Serien pro Tag):

- 2 Kontrollen
- 3 Proben (geringe / mittlere / hohe Konzentration)

	Mittelwert mmol/L	Mittelwert mg/dL	VK %
Kontrollprobe 1	0,84	32,41	2,7
Kontrollprobe 2	1,65	63,75	3,4
Probe 1	0,79	30,62	3,4
Probe 2	1,48	57,35	3,2
Probe 3	2,43	94,06	3,5

Messbereich

Der Test hat einen Messbereich von 0,07 mmol/L (2,71 mg/dL) bis 4,50 mmol/L (174,15 mg/dL) bestätigt. Die Reagenz-Linearität wurde bestimmt bis auf 4,50 mmol/L (174,15 mg/dL) gemäß den Empfehlungen in CLSI (NCCLS), EP06-Ed2-Protokoll (17).

Korrelation ^j

Patientenproben: Serum

Anzahl Patientenproben: 122

Proben werden mit einem kommerziellen Reagenz als Referenz korreliert gemäß den Empfehlungen in CLSI (NCCLS), EP09c-Protokoll (18).

Die Werte lagen im Bereich von 0,44 mmol/L (17,03 mg/dL) bis 4,37 mmol/L (169,12 mg/dL).

Die folgende Gleichung für die allometrische Gerade wurde unter Verwendung der Passing-Bablok-Regression (19) erhalten:

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

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

mit einem Korrelationskoeffizienten $r^2 = 0,994$.

Interferenzen

Hämoglobin: Kein signifikanter Einfluss feststellbar bis zu 350 µmol/L (603 mg/dL).

Triglyzeride: Kein signifikanter Einfluss feststellbar bis zu einer Triglyzerid-Konzentration von 4,52 mmol/L (395,5 mg/dL).

Gesamtbilirubin: Kein signifikanter Einfluss feststellbar bis zu 100 µmol/L (5,9 mg/dL).

Direktbilirubin: Kein signifikanter Einfluss feststellbar bis zu 500 µmol/L (29,3 mg/dL).

Andere Grenzen werden von Young in Form einer Liste mit Drogen und präanalytischen Variablen angegeben, die bekanntermaßen diese Methodik beeinflussen (20, 21).

Haltbarkeit der Kalibration

Das Reagenz wird an Tag 0 kalibriert. Die Stabilität der Kalibration wird durch Testen von 2 Kontrollproben überprüft.

Die Kalibration ist 6 Tage stabil.

Hinweis: Eine Rekalibrierung wird empfohlen, wenn sich Reagenz-Chargen ändern oder die Qualitätskontrolle nicht das geforderte Ergebnis aufweist.

Umrechnungsfaktor

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

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

Referenz

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.

^jÄnderung: Änderung der Korrelation.

ABX Pentra HDL Direct CP

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.
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.