

ABX Pentra HDL Direct CP

REF A11A01636

REAGENT 1 62 mL

REAGENT 2 21 mL



IVD CE 2797

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

■ Pentra C200

Odczynnik diagnostyczny do oznaczania ilościowego *in vitro* stężenia cholesterolu w postaci lipoprotein o dużej gęstości (HDL-C) w surowicy lub osoczu krwi ludzkiej metodą kolorymetrii.

Wersja aplikacji

Surowica, osocze: HDL

01.xx

Zastosowanie ^{a b c}

ABX Pentra HDL Direct CP jest odczynnikiem diagnostycznym do ilościowego oznaczania *in vitro* cholesterolu w postaci lipoprotein o dużej gęstości (HDL-C) w surowicy i osoczu krwi ludzkiej metodą enzymatyczną z zastosowaniem przyspieszającego detergentu o selektywnym działaniu.

Do użytku w laboratoriach klinicznych.

Pomiary stężenia lipoprotein wykorzystuje się w diagnostyce i leczeniu zaburzeń gospodarki lipidowej, miażdżycy naczyń wieńcowych oraz chorób wątroby i nerek.

Ocena fizjologicznych i patologicznych zmian stężenia cholesterolu lipoprotein frakcji o wysokiej gęstości (HDL-C) w ludzkiej surowicy i osoczu jest przydatna w celu badań przesiewowych w kierunku tych chorób oraz ich kontroli.

Aspekty kliniczne

Lipoproteiny osocza są cząstkami kulistymi i zawierają zróżnicowaną ilość cholesterolu, triglicerydów, fosfolipidów i białek. Warstwa powierzchniowa cząstki lipoproteiny składa się z fosfolipidów, wolnego cholesterolu oraz białka, jej rdzeń składa się głównie z estrów cholesterolu i

triglicerydów. Cząstki te solubilizują i transportują cholesterol i triglicerydy w krwioobieg.

Względne udziały białek i tłuszczów określają gęstość lipoprotein i pozwalają na ich klasyfikację (1). Lipoproteiny dzielą się na: chylomikrony, lipoproteiny o bardzo małej gęstości (VLDL), lipoproteiny o małej gęstości (LDL) oraz lipoproteiny o dużej gęstości (HDL). W badaniach klinicznych wykazano wielokrotnie, że lipoproteiny, zależnie od klasy, mają znaczny i zróżnicowany wpływ na ryzyko wystąpienia choroby wieńcowej serca (2).

Podstawową rolą HDL w metabolizmie tłuszczów jest przyłączanie i transport cholesterolu z tkanek obwodowych do wątroby, w wyniku procesu znanego jako zwrotny transport cholesterolu (sugerowany mechanizm ochronny serca) (3). Niskie stężenie HDL-C wiąże się ściśle z podwyższonym ryzykiem zachorowania na chorobę wieńcową serca oraz miażdżycę tętnic wieńcowych (4, 5, 6, 7, 8, 9). Dlatego też oznaczenie stężenia HDL-C w surowicy krwi stosuje się jako narzędzie do diagnozowania pacjentów wysokiego ryzyka. Rada ds. Leczenia Dorosłych amerykańskiego Narodowego Programu Edukacyjnego dotyczącego Cholesterolu (NCEP) zaleca wszystkim osobom od 20 roku życia wykonywanie co pięć lat na czczo lipidogramu, pozwalającego na oznaczenie poszczególnych frakcji cholesterolu: cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL, cholesterolu HDL i triglicerydów, jako formy profilaktyki ryzyka choroby wieńcowej serca (10).

Metoda wzorcowa oznaczania ilościowego stężenia HDL-C polega na ultrawirowaniu i strącaniu chemicznym, w celu oddzielenia HDL od innych lipoprotein. Następnie oznacza się poziom cholesterolu metodą Abell-Kendall (11). Metoda ta jest jednak zbyt czasochłonna i wymaga zbyt dużego nakładu pracy, aby stosować ją w badaniach

^aModyfikacja: modyfikacja rozdziału „Zastosowanie”.

^bModyfikacja: modyfikacja znaku CE.

^cModyfikacja: nowy format ulotki.

ABX Pentra HDL Direct CP

rutynowych (12). Pierwsze metody stosowane rutynowo na szeroką skalę w laboratoriach polegały na selektywnym strącaniu i usunięciu LDL i VLDL, a następnie oznaczeniu stężenia HDL-C w supernatancie metodą enzymatyczną (11). Ponieważ takie metody wymagają uprzedniego przygotowania próbki i oddzielania, analiz nie można w pełni zautomatyzować. Z tego też powodu, rutynowe oznaczenia HDL-C cechowały się zawsze niską powtarzalnością i były czasochłonne.

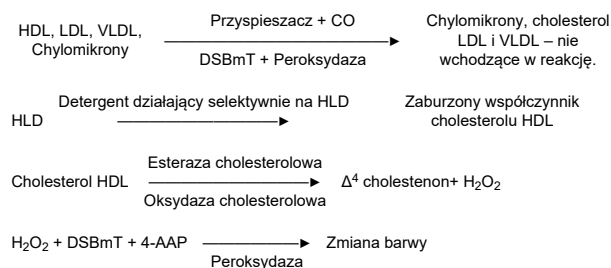
Metoda

Metoda **ABX Pentra HDL Direct CP** (licencja nr PCT/JP97/04442, PCT/JP00/03860) jest badaniem jednofazowym, pozwalającym na bezpośredni pomiar stężenia HDL-C w surowicy lub osoczu, bez uprzedniego przygotowania próbek, czy wirowania.

W metodzie tej wykorzystuje się dwa odczynniki; opiera się ona na właściwościach specjalnego detergentu, tak jak to pokazano poniżej. Metoda ta polega na przyspieszeniu reakcji oksydazy cholesterolowej (CO) z nieestryfikowanym cholesterolem nie-HDL oraz na selektywnym rozpuszczaniu HDL, przy użyciu specjalnego detergentu.

W pierwszym odczynniku, nieestryfikowany cholesterol nie-HDL jest poddawany reakcji enzymatycznej, w wyniku której jest uwalniany nadtlenek wodoru, zużywany jako substrat w reakcji peroksydazy z DSBmT. Prowadzi to do powstania bezbarwnego produktu.

Drugi odczynnik zawiera detergent wybiórczo solubilizujący HDL, esterazę cholesterolową oraz chromogeniczny czynnik sprzęgający, pozwalający na zabarwienie, umożliwiające oznaczenie stężenia HDL-C. Jest to metoda przyspieszającego, selektywnie działającego detergentu.



(4-AAP = 4-aminoantypiryna, CO = oksydaza cholesterolowa, DSBmT = N,N-bis(4-sulfobutylo)-m-toluidyna, sól disodowa)

Odczynniki

ABX Pentra HDL Direct CP jest produktem gotowym do użycia.

Odczynnik 1 (R1):

Bufor Gooda	
Oksydaza cholesterolowa	< 1000 U/L
Peroksydaza	< 1300 ppg U/L
N,N-bis(4-sulfobutylo)-m-toluidyna disodu (DSBmT)	< 1 mmol/L
Akcelerator	< 1 mmol/L
Środek konserwujący	< 0,06%
Oksydaza kwasu askorbinowego	< 3000 U/L

Odczynnik 2 (R2):

Bufor Gooda	
Esteraza cholesterolowa	< 1500 U/L
4-aminoantypiryna (4-AAP)	< 1 mmol/L
Detergent	< 2%
Środek konserwujący	

ABX Pentra HDL Direct CP należy używać zgodnie z niniejszą ulotką. Producent nie może zagwarantować właściwego działania produktu, jeżeli zostanie on użyty w sposób inny od podanego.

Postępowanie z preparatem

1. Wyjmij obie zatyczki kasety.
2. Jeżeli odczynnik zawiera pianę, usuń ją za pomocą plastikowej pipety.
3. Umieść kasetę w chłodzonej komorze odczynnikowej analizatora Pentra C200.

Kalibrator

Do celów kalibracji należy używać:

ABX Pentra HDL Cal (A11A01647) (do oddzielnego zakupu)
2 x 1 mL (liofilizat)

Wartość **ABX Pentra HDL Cal** jest przypisana zgodnie z procedurami Krajowego Systemu Norm Cholesterolu (National Reference System for Cholesterol – NRS/CHOL). Materiały kalibracyjne mają stężenia bliskie stężenia krytycznego dla podjęcia decyzji medycznej.

ABX Pentra HDL Direct CP

Kontrola ^d

Do wewnętrznej kontroli jakości należy używać:

- **ABX Pentra N MultiControl** (1300054414) (do oddzielnego zakupu)
10 x 5 mL (liofilizat)
- **ABX Pentra P MultiControl** (1300054415) (do oddzielnego zakupu)
10 x 5 mL (liofilizat)

Oznaczenie kontroli powinno być przeprowadzane raz dziennie i/lub po wykonaniu kalibracji.

Częstość przeprowadzania kontroli oraz przedziały ufności powinny być ustalone w oparciu o wytyczne laboratoryjne oraz przepisy obowiązujące w danym kraju. Należy przestrzegać krajowych, regionalnych i lokalnych wytycznych dotyczących materiałów do kontroli jakości. Wynik kontroli musi zawierać się w zdefiniowanych przedziałach ufności. Każde laboratorium powinno wypracować sposób postępowania w przypadku, gdy wyniki wykroczą poza wyznaczone przedziały.

Wymagane wyposażenie niewchodzące w skład produktu ^d

- Zautomatyzowany kliniczny analizator biochemiczny: Pentra C200
- Kalibrator: **ABX Pentra HDL Cal** (A11A01647)
- Kontrole:
 - **ABX Pentra N MultiControl** (1300054414)
 - **ABX Pentra P MultiControl** (1300054415)
- Standardowy sprzęt laboratoryjny.

Próbka ^e

Populacją testowaną dla tego wyrobu jest populacja ogólna.

Typy próbek

- Surowica.
- Osocze w EDTA.
- Osocze pobrane z heparyną litową.

Firma HORIBA nie prowadziła testów dla antykoagulantów innych niż wymienione na liście i w związku z tym nie zaleca ich używania dla potrzeb tego oznaczenia.

Próbki należy pobrać od pacjenta, który pościł przez 12-14 godzin.

Stabilność (11)

- W temperaturze 4°C: 2 dni
- W temperaturze -20°C w fiolkach z zabezpieczeniem przed wyciekaniem i parowaniem: 1 miesiąc
- W temperaturze -70°C w fiolkach z zabezpieczeniem przed wyciekaniem i parowaniem: 2 lata
- Surowica krwi: Pobierz krew pełną stosując wkłucie dożylnie i pozostaw do zakrzepnięcia. Odwiruj i usuń surowicę najszybciej jak to możliwe po pobraniu (w ciągu 3 godzin).
- Osocze: Odwiruj i usuń osocze najszybciej jak to możliwe po pobraniu (w ciągu 3 godzin).

UWAGA: Nie należy używać antykoagulantów zawierających cytrynian.

Zakres norm (9, 13) ^f

Każde laboratorium powinno wypracować swoje własne zakresy odniesienia. Wartości podane w niniejszej ulotce mają wyłącznie charakter orientacyjny.

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

Według amerykańskiego Narodowego Programu Edukacyjnego, pożądane są wartości HDL wynoszące 1,033 mmol/L (40 mg/dL) lub więcej, wartości równe lub powyżej 1,550 mmol/L (60 mg/dL) uważa się za właściwe w profilaktyce choroby wieńcowej. Wartości poniżej 1,033 mmol/L (40 mg/dL) są istotnym, niezależnym czynnikiem ryzyka choroby wieńcowej (9).

Dla tego analitu rzadko zgłasza się czułość i swoistość kliniczną, dodatnią wartość predykcyjną i negatywną wartość predykcyjną. Jest to głównie spowodowane faktem, że ten analiz nie stanowi jedynego wskaźnika w zakresie wyznaczonego celu i podejmowania decyzji dotyczących leczenia pacjenta. W celu postawienia diagnozy i zaplanowania leczenia należy użyć wyników innych rutynowych testów biochemicznych w połączeniu z innymi informacjami diagnostycznymi oraz oceną stanu pacjenta wykonaną przez specjalistę opieki służby zdrowia.

^dModyfikacja: usunięto kontrolę.

^eModyfikacja: modyfikacja rozdziału „Próbka”.

^fModyfikacja: dodano informacje.

ABX Pentra HDL Direct CP

Przechowywanie i stabilność

Stabilność przed otwarciem:

Zachowuje stabilność do daty ważności podanej na etykiecie pod warunkiem przechowywania w temperaturze 2-8°C.

Stabilność po otwarciu:

Przejdź do rozdziału „Wydajność przy użyciu w analizatorze Pentra C200”.

Nie zamrażać.

Postępowanie z odpadami

Należy postępować zgodnie z lokalnie obowiązującymi przepisami.

Ogólne środki ostrożności ^g

- Niniejszy odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do profesjonalnej diagnostyki *in vitro*.
Do użytku laboratoryjnego.
- Wyłącznie do stosowania z przepisu lekarza.
- Ten odczynnik został sklasyfikowany jako nieszkodliwy w rozumieniu rozporządzenia (WE) nr 1272/2008.
- Nie pipetować ustami.
- Nie uzupełniać odczynników.
- Nie połykać. Unikać zanieczyszczenia skóry i błon śluzowych.
- Przy pracy należy stosować standardowe laboratoryjne środki ostrożności.
- Kasety odczynnikowe są kasetami jednorazowego użytku, należy je utylizować zgodnie z lokalnymi przepisami.
- Należy uważnie zapoznać się z kartą charakterystyki (MSDS) dołączoną do odczynnika.
- Nie używać produktu, jeżeli można zaobserwować zmianę jego cech biologicznych, chemicznych lub fizycznych, co wskazuje na jego nieprzydatność do użytku.
- Nie należy używać tego produktu w przypadku nieprzestrzegania warunków magazynowania, w tym w zakresie temperatury.
- Przed przystąpieniem do obsługi urządzenia użytkownik musi zostać przeszkolony przez przedstawiciela firmy HORIBA.

- Użytkownik ma obowiązek sprawdzić, czy niniejszy dokument dotyczy używanego w danym przypadku odczynnika.
- W celu uzyskania pomocy technicznej zadzwoń pod numer +33 (0)4 67 14 15 16.
- Każdy poważny incydent wynikający ze stosowania wyrobu należy zgłaszać producentowi i organowi kraju właściwemu dla miejsca pobytu użytkownika lub pacjenta.

Wydajność w analizatorze Pentra C200

Zmienność między seriami ^h

Odzysk próbek (surowicy i osocza) wykonany podczas zwolnienia QC trzech kolejnych serii odczynnika wskazuje, że zmienność między seriami jest zgodna ze specyfikacją: < 10%.

Surowica, osocze

Dane przedstawione poniżej pochodzą z oznaczeń przeprowadzonych przy użyciu analizatora Pentra C200. Oznaczenie nie zostało sprawdzone pod kątem zgodności z wymogami laboratoryjnymi CRMLN ani nie uzyskało potwierdzającego ten fakt certyfikatu.

Liczba oznaczeń: ok. 238 testów

Stabilność robocza odczynników

Po otwarciu kasetka z odczynnikami umieszczona w chłodzonej komorze analizatora Pentra C200 zachowuje stabilność przez 35 dni.

Objętość próbki: 2 µL/oznaczenie

Wykrywalność ⁱ

Granice wykrywalności określa się zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS), procedura EP17-A2 (14) i wynosi ona 0,01 mmol/L (0,51 mg/dL).

Granica oznaczalności

Granice oznaczalności określa się zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS), procedura EP17-A2 (14) i wynosi ona 0,07 mmol/L (2,71 mg/dL).

^gModyfikacja: modyfikacja opisu ogólnych środków ostrożności.

^hModyfikacja: dodano rozdział.

ⁱModyfikacja: dodano dane.

ABX Pentra HDL Direct CP

Trafność i precyzja

Powtarzalność (precyzja oznaczenia)

Powtarzalność wg zaleceń procedury Valtec (15) z próbkami poddanymi 20 oznaczeniom:

- 2 kontrole
- 3 próbek (poziomy niskie / średnie / wysokie)

	Wartość średnia mmol/L	Wartość średnia mg/dL	CV %
Próbka kontrolna 1	0,81	31,29	0,73
Próbka kontrolna 2	1,61	62,33	1,37
Próbka 1	0,76	29,55	1,15
Próbka 2	1,45	56,25	1,80
Próbka 3	2,34	90,44	1,78

Odtwarzalność (precyzja wewnątrzlaboratoryjna)

Odtwarzalność wg zaleceń CLSI (NCCLS), procedura EP5-A2 (16) z próbkami poddawanych podwójnym oznaczeniom przez 20 dni (2 serie dziennie):

- 2 kontrole
- 3 próbek (poziomy niskie / średnie / wysokie)

	Wartość średnia mmol/L	Wartość średnia mg/dL	CV %
Próbka kontrolna 1	0,84	32,41	2,7
Próbka kontrolna 2	1,65	63,75	3,4
Próbka 1	0,79	30,62	3,4
Próbka 2	1,48	57,35	3,2
Próbka 3	2,43	94,06	3,5

Zakres pomiaru

Analiza potwierdziła zakres pomiaru od 0,07 mmol/L (2,71 mg/dL) do 4,50 mmol/L (174,15 mg/dL).

Linijowość odczynnika została oceniona do 4,50 mmol/L (174,15 mg/dL) zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS), protokole EP06-Ed2 (17).

Korelacja¹

Próbki pobrane od pacjenta: Surowica
Liczba próbek pobranych od pacjenta: 122

Próbki koreluje się z komercyjnie dostępnym odczynnikiem, używanym jako wzorzec, zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS), protokole EP09c (18).

Wartości zawierały się w przedziale od 0,44 mmol/L (17,03 mg/dL) do 4,37 mmol/L (169,12 mg/dL).

Równanie dla otrzymanej linii allometrycznej (19) jest następujące:

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

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

przy współczynniku korelacji $r^2 = 0,994$.

Czynniki zakłócające

Hemoglobina: Nie obserwuje się znaczącego wpływu do 350 μ mol/L (603 mg/dL).

Triglicerydy: Nie obserwuje się znaczącego wpływu do stężenia triglicerydów 4,52 mmol/L (395,5 mg/dL).

Bilirubina całkowita: Nie obserwuje się znaczącego wpływu do 100 μ mol/L (5,9 mg/dL).

Bilirubina bezpośrednia: Nie obserwuje się znaczącego wpływu do 500 μ mol/L (29,3 mg/dL).

Young podaje także inne ograniczenia, a w szczególności listę leków oraz zmiennych przedanalitycznych, które według obecnego stanu wiedzy wpływają na wyniki tej metody (20, 21).

Stabilność kalibracji

Odczynnik jest kalibrowany w dniu 0. Stabilność kalibracji jest kontrolowana przez wykonanie testów na 2 próbkach kontrolnych.

Stabilność kalibracji wynosi 6 dni.

Uwaga: Ponowną kalibrację odczynnika zaleca się w przypadku zmiany jego serii oraz w przypadku, gdy wyniki kontroli jakości wykrócą poza założony zakres.

Współczynnik konwersji

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

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

Piśmiennictwo

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.

¹Modyfikacja: modyfikacja informacji dot. korelacji.

ABX Pentra HDL Direct CP

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.
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.