

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

ABX Pentra HDL Direct CP

- Pentra C400
- ABX Pentra 400

Reagente diagnostico per la determinazione quantitativa *in vitro* del colesterolo legato alle lipoproteine ad alta densità (HDL-C) in siero o plasma mediante colorimetria.

Versione dell'applicazione

Siero, plasma: ^a

Pentra C400: C_HDL

1.xx

ABX Pentra 400: C_HDL

In tutto il mondo tranne negli Stati Uniti: 6.xx

Solo per gli Stati Uniti: 3.xx

Uso previsto ^{b c d}

ABX Pentra HDL Direct CP è un reagente diagnostico per la determinazione quantitativa *in vitro* del colesterolo legato alle lipoproteine ad alta densità (HDL-C) in siero e plasma umano basato su un dosaggio enzimatico con una metodologia del detergente selettivo di accelerazione.

Uso nei laboratori di analisi.

Le misurazioni delle lipoproteine vengono utilizzate nella diagnosi e nel trattamento delle alterazioni lipidiche, dell'aterosclerosi e delle diverse disfunzioni renali ed epatiche.

La valutazione delle variazioni fisiologiche e patologiche della concentrazione di colesterolo legato alle lipoproteine ad alta densità (HDL-C) nel siero e nel plasma umani è utile per lo screening o il follow-up di queste malattie.

Aspetti di interesse clinico

Le lipoproteine del plasma sono particelle sferiche che contengono diverse quantità di colesterolo, trigliceridi,

fosfolipidi e proteine. Il fosfolipide, il colesterolo libero e la proteina costituiscono la superficie esterna della particella lipoproteica, mentre il nucleo interno contiene soprattutto il colesterolo esterificato e i trigliceridi. Queste particelle servono a solubilizzare e trasportare il colesterolo e i trigliceridi nel sangue.

Le proporzioni relative di proteine e lipidi determinano la densità di queste lipoproteine e forniscono la base su cui avviare la loro classificazione (1). Sono presenti le seguenti classi: chilomicroni, VLDL (very low density lipoproteins) o lipoproteine a bassissima densità, LDL (low density lipoproteins) o lipoproteine a bassa densità e HDL (high density lipoproteins) o lipoproteine ad alta densità. Vari studi clinici hanno dimostrato che le diverse classi di lipoproteine presentano tratti distintivi molto marcati e influiscono diversamente sul rischio di cardiopatia coronarica (2).

Il ruolo principale dell'HDL nel metabolismo lipidico consiste nell'assorbimento e nel trasporto del colesterolo dai tessuti periferici al fegato, mediante un processo noto come trasporto inverso del colesterolo (proposto come sistema cardioprotettivo) (3). I livelli bassi di HDL-C sono strettamente connessi a un aumento del rischio di cardiopatie coronariche e dell'arteriopatia coronarica (4, 5, 6, 7, 8, 9). La determinazione dell'HDL-C in siero rappresenta pertanto un valido strumento nell'identificazione dei pazienti ad alto rischio. L'Adult Treatment Panel (programma per le terapie rivolte agli adulti) dell'NCEP (National Cholesterol Education Program) consiglia di sottoporre tutti gli adulti a partire dai 20 anni di età all'analisi a digiuno del profilo lipoproteico (colesterolo totale, colesterolo LDL, colesterolo HDL e

^aModifica: modifica della versione dell'applicazione.

^bModifica: modifica del capitolo Uso previsto.

^cModifica: modifica del marchio CE.

^dModifica: nuova forma del foglio illustrativo.

ABX Pentra HDL Direct CP

trigliceridi) una volta ogni cinque anni per monitorare il rischio di cardiopatie coronariche (10).

Il metodo di riferimento per la determinazione quantitativa dell'HDL-C unisce l'ultracentrifuga e la precipitazione chimica per separare l'HDL dalle altre lipoproteine, cui segue la misurazione del colesterolo mediante analisi di Abell-Kendall (11). Questo metodo comporta un dispendio di tempo e di lavoro eccessivo per poter essere utilizzato nelle analisi di routine (12). I primi metodi di routine utilizzati su larga scala dai laboratori prevedevano la precipitazione e la rimozione selettive delle lipoproteine LDL e VLDL, seguite dalla misurazione enzimatica dell'HDL-C nella frazione di surnatante (11). Poiché queste tecniche richiedono dei passaggi di pretrattamento e separazione off-line, non è possibile automatizzare completamente la procedura di analisi. La determinazione di routine dell'HDL-C ha pertanto sempre risentito di tempi di gestione lunghi e di bassa riproducibilità.

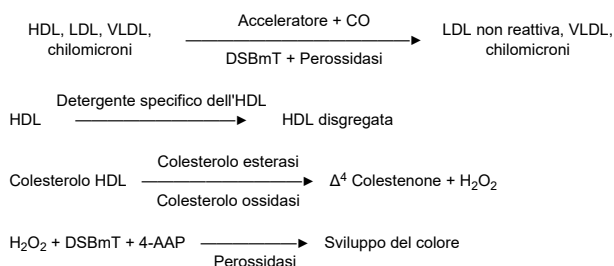
Metodo

ABX Pentra HDL Direct CP (numero di licenza PCT/JP97/04442, PCT/JP00/03860) è un metodo omogeneo di misurazione diretta dei livelli di HDL-C nel siero e nel plasma che evita di ricorrere a procedure di pretrattamento o centrifugazione off-line.

Il metodo prevede l'uso di due reagenti e dipende dalle proprietà di un unico detergente, come illustrato di seguito. Il metodo si basa sull'accelerazione della reazione della colesterolo ossidasi (CO) con il colesterolo non-HDL non esterificato e la dissoluzione selettiva dell'HDL mediante un detergente specifico.

Nel primo reagente, il colesterolo non-HDL non esterificato è sottoposto a una reazione enzimatica e il perossido generato viene consumato da una reazione della perossidasi con DSBmT producendo una sostanza incolore.

Il secondo reagente consiste in un detergente in grado di solubilizzare in modo specifico l'HDL, la colesterolo esterasi (CE) e l'accoppiatore cromogenico per sviluppare il colore necessario alla determinazione quantitativa dell'HDL-C. Questa può essere definita la metodologia del detergente selettivo di accelerazione.



(4-AAP = 4-aminoantipirina, CO = Colesterolo ossidasi, DSBmT = N,N-bis(4-sulfobutile)-m-toluidina-disodio)

Reagenti

ABX Pentra HDL Direct CP è pronto per l'uso.

Reagente 1 (R1):

Tampone di Good	
Colesterolo ossidasi	< 1000 U/L
Perossidasi	< 1300 ppg U/L
N,N-bis(4-solfobutil)-m-toluidinedisodio (DSBmT)	< 1 mmol/L
Acceleratore	< 1 mmol/L
Conservante	< 0,06%
Acido ascorbico ossidasi	< 3000 U/L

Reagente 2 (R2):

Tampone di Good	
Colesterolo esterasi	< 1500 U/L
4-amminoantipirina (4-AAP)	< 1 mmol/L
Detergente	< 2%
Conservante	

ABX Pentra HDL Direct CP deve essere utilizzato in conformità alle presenti indicazioni. Il produttore non garantisce le prestazioni in caso di utilizzo non conforme.

Manipolazione

1. Rimuovere entrambi i coperchi della cassetta.
2. Eliminare l'eventuale schiuma utilizzando una pipetta di plastica.

Calibratore

Ai fini della calibrazione, utilizzare gli elementi descritti di seguito.

ABX Pentra HDL Cal (A11A01647) (non incluso)

2 x 1 mL (liofilizzato)

Il valore di **ABX Pentra HDL Cal** è assegnato da procedure rintracciabili dal National Reference System for Cholesterol (NRS/CHOL). Le concentrazioni dei materiali di calibrazione si aggirano sul livello decisionale medico.

ABX Pentra HDL Direct CP

Controllo

Ai fini del controllo qualità interno, utilizzare gli elementi descritti di seguito:

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

Analizzare ogni controllo quotidianamente e/o dopo una calibrazione.

La frequenza dei controlli e i limiti di fiducia devono essere conformi alle istruzioni di laboratorio e alle direttive specifiche del singolo paese. Per l'analisi dei materiali di controllo della qualità, attenersi alle disposizioni nazionali, regionali e locali. I risultati devono essere compresi nel range dei limiti di fiducia definiti. Ciascun laboratorio è tenuto a fissare una procedura da seguire nel caso in cui i risultati oltrepassino detti limiti di fiducia.

Materiali necessari non in dotazione

- Analizzatore automatico di chimica clinica: ABX Pentra 400 / Pentra C400
- Calibratore: **ABX Pentra HDL Cal** (A11A01647)
- Controlli:
 - ABX Pentra N MultiControl** (1300054414)
 - ABX Pentra P MultiControl** (1300054415)
- Attrezzature standard per laboratorio.

Campione

La popolazione da sottoporre a test con l'ausilio del presente dispositivo è una popolazione generale.

Tipi di campioni

- Siero.
- Plasma in EDTA.
- Plasma in litio eparina.

Gli anticoagulanti non riportati nell'elenco non sono stati testati da HORIBA. Il loro utilizzo con questa analisi è pertanto sconsigliato.

I suddetti campioni devono essere prelevati da pazienti a digiuno da 12-14 ore.

Stabilità (11)

- A 4°C: 2 giorni
- A -20°C in fiale sigillate a prova di spandimento ed evaporazione: 1 mese
- A -70°C in fiale sigillate a prova di spandimento ed evaporazione: 2 anni
- Siero: prelevare il sangue mediante venipuntura e farlo coagulare. Centrifugare e rimuovere il siero quanto prima dopo il prelievo (entro 3 ore).
- Plasma: centrifugare e rimuovere il plasma quanto prima dopo il prelievo (entro 3 ore).

Nota: non utilizzare anticoagulanti contenenti citrato.

Range di riferimento (9, 13)

Ogni laboratorio deve determinare i propri range di riferimento. I valori forniti in questo documento sono puramente indicativi.

Uomini: 0,77 - 1,81 mmol/L (30 - 70 mg/dL)

Donne: 0,77 - 2,19 mmol/L (30 - 85 mg/dL)

In base alle indicazioni del National Cholesterol Education Program (NCEP), i valori di HDL uguali o superiori a 1,033 mmol/L (40 mg/dL) sono considerati ottimali, mentre si ritiene che valori superiori o uguali a 1,550 mmol/L (60 mg/dL) offrano una protezione parziale contro le cardiopatie coronariche. I valori inferiori a 1,033 mmol/L (40 mg/dL) sono considerati un significativo fattore di rischio indipendente per le cardiopatie coronariche (9).

La sensibilità e la specificità clinica, il valore predittivo positivo e il valore predittivo negativo non vengono comunemente riportati per questo analita. Questo è in gran parte dovuto al fatto che questo analita non è l'unico indicatore per lo scopo previsto e la decisione di trattamento del paziente. Per arrivare a una diagnosi e a un corso di trattamento, è necessario utilizzare i risultati di altri esami clinici di laboratorio di routine insieme ad altre informazioni diagnostiche e alla valutazione delle condizioni del paziente da parte del medico curante.

Conservazione e stabilità

Stabilità prima dell'apertura:

Stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta se conservato a una temperatura di 2-8°C.

ABX Pentra HDL Direct CP

Stabilità dopo l'apertura:

Vedere il paragrafo "Prestazioni con ABX Pentra 400 / Pentra C400".

Non congelare.

Gestione dei rifiuti

Attenersi alle disposizioni locali.

Precauzioni di carattere generale

- Il reagente può essere utilizzato esclusivamente da esperti a fini diagnostici *in vitro*.
Per uso in laboratorio.
- Solo per l'uso previsto.
- Questo reagente è classificato come non pericoloso in conformità alla direttiva (CE) 1272/2008.
- Non pipettare con la bocca.
- Non rabboccare i reagenti.
- Non ingerire. Evitare il contatto con la cute e con le membrane mucose.
- Rispettare le precauzioni per l'uso standard di laboratorio.
- le cassette di reagenti sono monouso e devono essere eliminate in conformità alle disposizioni locali.
- Consultare la scheda di sicurezza specifica del reagente.
- Non utilizzare il prodotto se vi sono segni evidenti di deterioramento biologico, chimico o fisico.
- Non utilizzare il prodotto in caso di mancato rispetto delle condizioni di conservazione raccomandate, inclusa la temperatura.
- L'operatore deve essere formato da un rappresentante HORIBA prima di provare a utilizzare il dispositivo.
- L'utente è tenuto a verificare che il presente documento faccia riferimento al reagente utilizzato.
- Per l'assistenza tecnica, contattare il numero +33 (0)4 67 14 15 16.
- Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo dovrà essere segnalato al produttore e all'autorità competente dello stato in cui si trova l'operatore e/o il paziente.

Prestazioni con ABX Pentra 400 / Pentra C400

Variabilità da un lotto all'altro

Il recupero di campioni (siero e plasma) eseguito durante il rilascio QC di tre lotti consecutivi di reagente mostra

che la variabilità tra i lotti rientra entro i limiti delle specifiche: < 10%.

Siero, plasma

I dati sulle prestazioni di seguito elencati sono rappresentativi delle prestazioni con i sistemi HORIBA.

Numero di analisi: 240 analisi

Se il numero di analisi richieste è basso e l'utente di ABX Pentra 400 / Pentra C400 intende utilizzare la cassetta al massimo della sua stabilità una volta caricata, HORIBA consiglia di utilizzare il prodotto di consumo XEC232 (kit membrane) per ottenere il numero di analisi riportato nelle presenti indicazioni.

Stabilità del reagente caricato

Una volta aperta, la cassetta dei reagenti collocata nel comparto refrigerato di ABX Pentra 400 / Pentra C400 è stabile per 31 giorni.

Volume del campione: 2,4 µL/test

Limite di rilevabilità

Il limite di rilevabilità viene determinato in base al protocollo CLSI (NCCLS), EP17-A2 (14) ed equivale a 0,02 mmol/L (0,65 mg/dL).

Limite di quantizzazione

Il limite di quantizzazione viene determinato in base al protocollo CLSI (NCCLS), EP17-A2 (14) ed equivale a 0,05 mmol/L (2,0 mg/dL).

Accuratezza e precisione

Ripetibilità (precisione intra-serie)

Ripetibilità in conformità alle indicazioni fornite nel protocollo Valtec (15) con campioni testati 20 volte:

- 2 controlli
- 3 campioni (livelli bassi / medi / alti)

	Valore medio mmol/L	Valore medio mg/dL	CV %
Campione di controllo 1	0,72	27,4	2,51
Campione di controllo 2	1,58	59,9	1,02
Campione 1	0,80	30,4	2,72
Campione 2	1,40	53,3	1,27
Campione 3	2,16	82,0	0,72

ABX Pentra HDL Direct CP

Riproducibilità (precisione complessiva)

Riproducibilità in conformità alle indicazioni fornite nel protocollo CLSI (NCCLS), EP5-A2 (16) con campioni analizzati in duplice test per 20 giorni (2 serie al giorno):

- 2 controlli
- 3 campioni (livelli bassi / medi / alti)

	Valore medio mmol/L	Valore medio mg/dL	CV %
Campione di controllo 1	0,73	28,11	2,3
Campione di controllo 2	1,59	61,67	1,8
Campione 1	0,88	34,17	2,0
Campione 2	1,52	58,98	1,7
Campione 3	2,39	92,60	1,6

Intervallo di misurazione

L'analisi ha confermato un intervallo di misurazione compreso tra 0,05 mmol/L (2,0 mg/dL) e 4,50 mmol/L (174,15 mg/dL).

La linearità del reagente è stata valutata fino a 4,50 mmol/L (174,15 mg/dL) secondo le raccomandazioni del protocollo CLSI (NCCLS), EP06-Ed2 (17).

Correlazione

Campioni di pazienti: Siero

Numero di campioni paziente: 79

I campioni sono stati messi a confronto prendendo come riferimento un reagente disponibile in commercio in conformità alle indicazioni fornite nel protocollo CLSI (NCCLS), EP09c (18).

I valori presentano variazioni comprese tra 0,10 mmol/L (3,87 mg/dL) e 4,39 mmol/L (169,89 mg/dL).

Di seguito è riportata l'equazione per la linea allometrica ottenuta mediante la regressione di Passing-Bablok (19):

$$Y = 0,9483 X + 0,012 \text{ (mmol/L)}$$

$$Y = 0,9483 X + 0,4685 \text{ (mg/dL)}$$

con coefficiente di correlazione $r^2 = 0,992$.

Interferenze

Emoglobina: Nessuna influenza significativa fino a 278 $\mu\text{mol/L}$ (500 mg/dL).

Trigliceridi: Nessuna influenza significativa fino a una concentrazione di trigliceridi di 6,39 mmol/L (559,13 mg/dL).

Bilirubina totale: Nessuna influenza significativa fino a 483 $\mu\text{mol/L}$ (28,3 mg/dL).

Bilirubina diretta: Nessuna influenza significativa fino a 477 $\mu\text{mol/L}$ (27,9 mg/dL).

Young fornisce altri limiti sotto forma di elenco di variabili preanalitiche e farmaci noti che possono influenzare questa metodologia (20, 21).

Stabilità della calibrazione

Il reagente viene calibrato il giorno 0. Per controllare la stabilità della calibrazione, vengono analizzati 2 campioni di controllo.

La durata della stabilità della calibrazione è di 14 giorni.

Nota: si consiglia di effettuare nuovamente la calibrazione quando si cambiano i lotti di reagente e quando i risultati dei controlli della qualità non rientrano nell'intervallo stabilito.

Fattore di conversione

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

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

Bibliografia

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.
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).

ABX Pentra HDL Direct CP

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.