

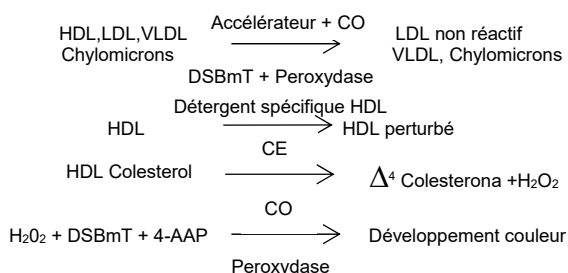
HDL-CHOLESTEROL DIRECT

REF 1133505	REF 1133510	REF 1133515	HDL-CHOLESTEROL DIRECT <i>Méthode Enzymatique colorimétrique</i> TEMPS FIXE Pour la mesure quantitative de la concentration de cholestérol des lipoprotéines à haute densité (HDL-C) dans le sérum humain ou le plasma.
40 mL	320 mL	1000 mL	
CONTENU	CONTENU	CONTENU	
Réactif R1. 1 x 30 mL Réactif R2. 1 x 10 mL	Réactif R1. 3 x 80 mL Réactif R2. 1 x 80 mL	Réactif R1. 3 x 250 mL Réactif R2. 1 x 250 mL	
For in vitro diagnostic use only			

PRINCIPE

Le dosage HDL-C Direct est une méthode homogène pour mesurer directement les concentrations de HDL-C dans le sérum ou le plasma sans avoir besoin d'un prétraitement hors ligne ou d'étapes de centrifugation.

La méthode est dans un format à deux réactifs et dépend des propriétés d'un détergent unique, comme illustré. Cette méthode est basée sur l'accélération de la réaction du cholestérol oxydase (CO) avec un cholestérol non HDL non estérifié et sur la dissolution du HDL sélectivement en utilisant un détergent spécifique. Dans le premier réactif, le cholestérol non HDL non estérifié est soumis à une réaction enzymatique et le peroxyde généré est consommé par une réaction peroxydase avec DSBmT donnant un produit sans couleur. Le second réactif consiste en un détergent capable de solubiliser le HDL spécifiquement, un cholestérol estérase (CE) et un coupleur chromogène pour développer une couleur pour la détermination quantitative du HDL-C. On peut référer à ce processus comme étant la Méthodologie détergent sélectif et accélérateur.

**COMPOSITION DES REACTIFS**

- R1** Réactif 1. Tampon (pH 6), Cholestérol oxydase (Fr: E. Coli) <1000 U/L, Peroxydase (Fr: Horseradish) <1300 ppg U/L, N,N-bis(4-sulphobutyl)-mtoluidine-disodium (DSBmT) <1 mM, Accélérateur, Préservatif <1 mM, Oxydase ascorbique (Fr: Curcubita sp.) <3000 U/L.
- R2** Réactif 2. Tampon (pH ±6,1), Colesterol esterasa (Fr: Pseudomonas sp.), 4-Aminoantipirina (4-AAP), Detergente, Conservants.
- CAL** Calibreur LDL/ HDL. Optatif. Ref.1972005. La valeur de la concentration est traçable au Matériel Standard de Référence 1951a.

CONSERVATION ET STABILITE

Conservé à 2-8°C. Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de cette date de péremption. Ne pas congeler. Conservé les flacons hermétiquement fermés, protégés de la lumière et hors des contaminations pendant l'usage.

Se débarrasser des réactifs s'il apparaît des signes de détérioration :

- Présence de particules et d'une turbidité.
- Incapacité à recouvrer les valeurs de contrôle.

PREPARATION DES REACTIFS

Les réactifs **R1** et **R2** sont prêts à l'emploi. La stabilité à 2-8°C du coffret ouvert est de 1 mois.



HDL/LDLc. Lyophilisé Reconstituer un flacon en ajoutant exactement 1,0 ml d'eau distillée. Mélanger avec soin et laisser reposer pendant 5 minutes avant usage. La matière reconstituée est stable pendant 7 jours à 2-8°C ou 1 mois à -20°C. Ecarter si elle devient trouble ou s'il y a quelque évidence de contamination microbienne.

Le calibreur a été préparé avec du sérum humain négatif pour HBsAg, HCV et non-réactif pour les anticorps HIV. Manipuler avec les mêmes précautions que pour les échantillons.

ECHANTILLONS

Sérum, plasma recueilli sur EDTA ou héparine obtenue chez le patient après un jeûne nocturne. Centrifuger et recueillir le sérum ou plasma débarrassés des cellules sanguines dans les 3 heures qui suivent la ponction veineuse. Les échantillons doivent être conservés à 4-8°C pendant 2 semaines ou à -20°C pour 3 mois.

INTERFERENCES

- Lipémie (Intralipid® < 18 g/L) n'interfère pas.
- Bilirubine (< 60 mg/dL) n'interfère pas.
- Hémoglobine (< 1000 mg/dL) n'interfère pas.
- Acide ascorbique (< 100 mg/dL) n'interfère pas.
- Gammaglobulines 5000 mg/dL n'interfère pas.
- Les échantillons contenant l'élément suivant ne doivent pas être utilisés : N-acétylcystéine (NAC)
- Triglycéride endogène (<2000 mg/dL) n'interfère pas.
- On rapporte que les échantillons de patients avec un foie cirrhotique donnent des résultats HDL plus faibles que ceux selon la méthode de référence.
- D'autres médicaments et substances peuvent interférer.

MATERIEL AUXILIAIRE

- Photomètre ou spectrophotomètre avec compartiment de mesure thermostable réglé à 37°C, capable de lire à 600 ± 5 nm.
- Chronomètre, enregistreur graphique ou imprimante.
- Cuves de 1cm d'épaisseur.
- Pipettes pour mesure des réactifs et échantillons.

PROCEDURE

- Porter les réactifs et échantillons à la température ambiante.
- Pipeter dans les cuves étiquetées :

Cuves	Blanc	Echantillon	Calibreur
R1	600 µL	600 µL	600 µL
Echantillon	—	6 µL	—
CAL	—	—	6 µL
H ₂ O	6 µL	—	—

- Mélanger et incubé pendant 5 minutes à 37°C.
- Ajouter :

R2	200 µL	200 µL	200 µL
-----------	--------	--------	--------

- Mélanger.
- Lire à 37°C l'absorbance de l'échantillon (A_{1e}) et du calibreur (A_{1c}) après 30 secondes à 600 nm contre le blanc réactif, et après 3 minutes lire une seconde absorbance à 37°C de l'échantillon (A_{2e}) et du calibreur (A_{2c}).

CALCULS

$$\frac{A_{2e} - A_{1e}}{A_{2c} - A_{1c}} \times C \text{ Calibreur} = \text{mg/dL de HDL-cholestérol}$$

Pour exprimer les résultats en unités SI, appliquer :
mg/dL x 0,0259 = mmol/L

VALEURS DE REFERENCE

Les valeurs cliniques de HDL-Cholestérol utilisées pour classer les groupes à risque.

Cholestérol des lipoprotéines de haute densité		RISQUE
Hommes	> 55 mg/dL (> 1,42 mmol/L)	Bas
	40 - 55 mg/dL (0,90 - 1,42 mmol/L)	Modéré
	< 40 mg/dL (< 1,04 mmol/L)	Haut

Femmes	> 65 mg/dL (> 1,68 mmol/L)	Bas
	45 - 65 mg/dL (1,16 - 1,68 mmol/L)	Modéré
	< 45 mg/dL (< 1,16 mmol/L)	Haut

CONTROLE DE QUALITE

L'usage d'un standard pour calculer les résultats permet d'obtenir une précision indépendante du système ou de l'instrument utilisés. Pour assurer un contrôle de qualité Human LPD Control Ref. 1972010, chaque test doit inclure un ensemble de contrôles (normal et anormal), traités comme ayant des valeurs inconnues. Si les valeurs sont en dehors de la plage définie, vérifiez l'instrument, les réactifs et la procédure. Chaque laboratoire doit établir ses propres plans de contrôle de qualité interne et les mesures correctives, dans le cas où les résultats des contrôles sont en dehors des tolérances acceptables.

INTERPRETATION CLINIQUE

Le HDL-Cholestérol bas a une forte valeur indépendante prédictive de la maladie coronaire. Dans l'ATP III4, le HDL-cholestérol bas est défini catégoriellement à un niveau de 40 mg/dL (1.04 mmol/L), un changement pour le niveau de 35 mg/dL défini dans l'ATP II (1993). Le HDL-cholestérol bas est utilisé comme un facteur de risque pour estimer le risque de 10 années pour la maladie coronaire, ayant plusieurs causes : triglycérides élevés, surpoids et obésité, inactivité physique, et le diabète de type 2. Les autres causes sont, fumer, très hautes prises des hydrates de carbone (60% de calories), et certaines drogues comme stéroïdes anabolisants et agents progestatifs.

CARACTERISTIQUES ANALYTIQUES

- **Limite de Détection** : 2.5 mg/dL
- **Linéarité** : Jusqu'à 200 mg/dL
- **Précision** :

mg/dL	Intra-série			Inter-série		
Moyenne	32.9	50.6	101.4	32.8	50.0	100.1
SD	0.3	0.2	0.7	0.4	0.7	1.1
CV%	0.8	0.5	0.7	1.3	1.5	1.1
N	20	20	20	40	40	40

- **L'erreur totale**^{11,17,18} est une mesure de la performance analytique globale pour un dosage et combine l'exactitude et la précision. L'erreur totale est égale au % de tendance + 1,96 x le C.V. total. (CVT).19 Le % de tendance du dosage HDL Cholesterol Direct a été calculé en utilisant la formule de régression linéaire, dérivée d'une comparaison de la méthode HDL Cholesterol Direct à la Méthode de comparaison désignée pour le cholestérol HDL montrée ci-dessus.17,18 Le CV est calculé comme CVT = (CVB2 + CVW2)/2.19 Le résultat de l'analyse d'erreur totale pour le dosage HDL Ultra Cholesterol sur l'Analyseur Hitachi 911 aux niveaux de cholestérol HDL faible, moyen et élevé en utilisant des échantillons avec des triglycérides <400 mg/dL sont montrés ci-dessous.

HDL-C Concentración	% Bias	Total CV	Total Error
30 mg/dL	8.05%	1.53%	11.05%
50 mg/dL	4.31%	1.58%	7.40%
80 mg/dL	2.21%	1.29%	4.73%

- **Corrélation** : Ce test (y) a été comparé avec une méthode commerciale similaire (x). Les résultats suivants ont été obtenus

Método	Linear HDL-c D	Competencia
n	52	52
Media (mg/dL)	58.3	56.3
Rango (mg/dL)	33.6-133.0	32.0-133.0
Análisis de regresión	Ultra = 0.99(DCM) + 2.81 mg/dL	

r = 0.996

Ces caractéristiques analytiques ont été obtenues en utilisant des équipements automatiques. Les résultats peuvent varier en fonction de l'équipement.

PRÉCAUTIONS EN GARDE RELATIVES À L'EMPLOI

1. Tous les échantillons utilisés dans le test doivent être considérés comme potentiellement infectieux. Utiliser les précautions universelles pour manipuler et mettre au rebut les produits pendant et après le test.
2. Les réactifs doivent être éliminés conformément à toutes les réglementations locale, fédérale, provinciale et de l'État.

NOTES

1. Cette méthode peut être utilisée avec n'importe quel appareil. Toute application sur un appareil devrait être validée par une démonstration de la concordance des résultats avec les caractéristiques analytiques de la méthode. Il est recommandé de valider périodiquement l'appareil. Veuillez contacter le distributeur pour toutes questions relatives à l'application de la méthode.
2. Le diagnostic clinique ne devrait pas se limiter sur les seuls résultats du test, mais intégrer corrélativement les données cliniques et de laboratoire.

BIBLIOGRAPHIE

1. Gotto, AM, Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia, Hospital Practice, 23; Suppl. 1, 4 (1988).
2. Crouse, JR et al., Studies of low density lipoprotein molecular weight in human with coronary artery disease, J. Lipid Res., 26;566 (1985).
3. Badimon, JJ, Badimon, L., Fuster V., Regression of Atherosclerotic Lesions by HDL. Plasma Fraction in the Cholesterol-Fed Rabbit, Journal of Clinical Investigation, 1990; 85:1234-41.
4. Castelli, WP et al., HDL Cholesterol and other lipids in coronary heart disease, Circulation, 55;767 (1977).
5. Barr, DP, Russ EM, Eder, HA, Protein-lipid relationships in human plasma, Am. J. Med., 11; 480 (1951).
6. Gordon, T. et al., High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease, Am. J. Med., 62;707 (1977).
7. Williams, P., et al, HDL and coronary risk factor, Lancet, 1; 72, (1979).
8. Kannel, WB, Castelli, WP, Gordon, T., Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease; Ann. Intern. Med., 90;85, (1979).
9. National Institutes of Health publication No. 93-3095, Sept. (1993).
10. Special Communication, Executive Summary of 3rd Report of the NCEP. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol (Adult Treatment Panel III), JAMA, Vol. 285, No. 19, May 16, 2001, pages 2486 - 2497.
11. Warnick, GR, Wood, PD, National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol: Executive Summary, Clinical Chemistry, Vol. 41, No. 10, 1427-1433 (1995).
12. Kimberly MM, et al, Selection, validation, standardization, and performance of a designated comparison method for HDL-cholesterol for use in the cholesterol reference method laboratory network. Clin Chem 1999; 45:1803-12.
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation Protocol N°7, Vol. 6, No. 13, (1986).
14. Young, DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 3rd ed., AACC Press, Washington, DC, 1990, 3-104 thru 3-106.
15. Camps, J, Altered Composition of Lipoproteins in Liver Cirrhosis Compromises Three Homogeneous Methods for HDL-C, Clinical Chemistry, 1999; 45:685-688.
16. Tietz, NW, Clinical Guide to Laboratory Tests, WB Saunders Co., 1986, p. 256.
17. Carey RN, Garber CC. Evaluation of methods. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry: theory, analysis and correlation. Third Edition. St. Louis: The CV Mosby Company, St. Louis, MO., 1996: 402-423.
18. Westgard JO, Carey RN, Wold S. Criteria for judging precision and accuracy in method development and evaluation. Clinical Chemistry 1974; 20:825-833.
19. Bachorik PS, Ross JW, for the National Cholesterol Education Program Working Group on Lipoprotein Measurements. National Cholesterol Education Program recommendations for measurement of low-density lipoprotein cholesterol: executive summary. Clin Chem 1995; 41:1414-1433.
20. National Reference system for Cholesterol. CRMLN HDL Cholesterol Protocol, November 2002.
21. Kimberly MM, et al., Selection, validation, standardization, and performance of a designated comparison method for HDL-cholesterol for use in the Cholesterol Reference Method Laboratory Network. Clinical Chemistry 1999; 45:1803-12.

B1133-5/1806
R1.fra

