

REF 10211-4 4 x 29 ml / 10 ml

CHOLESTÉROL HDL (HDL)

Chaque cartouche contient un volume utilisable de 29 ml de réactif R1 et 10 ml de réactif R2.

UTILISATION PRÉVUE

Le réactif HDL EasyRA permet de mesurer la quantité de cholestérol à lipoprotéines de haute densité dans le sérum ou le plasma humain, grâce à l'analyseur chimique MEDICA EasyRA® dans les laboratoires cliniques.

Pour diagnostic *in vitro* uniquement. Réservé à un usage professionnel.

Ce test du cholestérol HDL a été certifié par le CRMLN (Cholesterol Reference Method Laboratory Network).

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Les lipoprotéines se solubilisent et transportent le cholestérol et d'autres lipides dans le sang. Il existe plusieurs classes de lipoprotéines, responsables de différents effets sur le cœur et le système cardiovasculaire.¹ Un taux élevé de lipoprotéines de haute densité (HDL) est associé à une diminution du risque de maladies cardiovasculaires et peut même être considéré comme un facteur de protection. Le dosage du cholestérol HDL (HDL) contribue au diagnostic précoce ainsi qu'au traitement des troubles du métabolisme des lipides et des lipoprotéines. Un faible taux de cholestérol HDL est fortement lié à une augmentation du risque de maladie coronarienne et artérielle.^{2, 3} La détermination du taux de cholestérol HDL dans le sérum est utile dans le dépistage des patients à haut risque. Le NCEP (Adult Treatment Panel of the National Cholesterol Education Program) recommande que l'ensemble des adultes de plus de 20 ans effectue, tous les cinq ans, un bilan des lipoprotéines à jeun (cholestérol total, cholestérol LDL, cholestérol HDL et triglycérides) afin d'identifier les profils à risque de maladies cardiovasculaires.⁴ La méthode de référence pour le dosage du cholestérol HDL est celle de Abell-Kendall⁵. Cette méthode requiert une ultracentrifugation et une précipitation, et ne peut pas être entièrement automatisée. C'est la raison pour laquelle d'autres méthodes homogènes (directes) ont été élaborées. Cette méthode est basée sur l'accélération de la réaction du cholestérol-oxydase avec le cholestérol non-HDL non estérifié pour dissoudre le HDL de manière sélective à l'aide d'un détergent spécifique (à savoir, la méthode utilisant un détergent sélectif et un accélérateur, appelée « Accelerator Selective Detergent Methodology »).

PRINCIPE DE LA PROCÉDURE

La méthode directe du dosage du cholestérol HDL implique l'élimination de lipoprotéines non-HDL à l'aide d'une réaction sélective par un réactif 1. Dans un second temps, le détergent sélectif du réactif 2 solubilise le cholestérol HDL de manière sélective. Ce dernier réagit ensuite avec un chromogène pour former une coloration pouvant être lue, à l'aide d'une méthode optique, à 600 nm. L'intensité de la coloration correspond à une absorbance maximale de 600 nm, et est proportionnelle à la concentration en cholestérol HDL de l'échantillon.

RÉACTIFS

RÉACTIF HDL (R1) :

Tampon Good	
Cholestérol-oxydase (E. Coli)	< 1 000 U/l
Peroxydase (raifort)	< 1 300 ppg U/l
N, N-bis(4-sulphobutyl)-m-toluidine-disodique (DSBmT)	< 1 mM
Accélérateur	< 1 mM
Conservateur	< 0,06 %

Réactif HDL (R2) :

Tampon Good	
Cholesterol-estérase (pseudomonas sp.)	< 1 500 U/l
4-aminoantipyrine	< 1 mM
Détergent	< 2 %
Retardateur	< 0,15 %
Conservateur	< 0,06 %
Acide ascorbique oxydase (curcubita sp.)	< 3 000 U/l

PRÉCAUTIONS

1. Les bonnes pratiques de sécurité en laboratoire doivent être respectées lors de la manipulation des réactifs de laboratoire. (CLSI, GP17-A2).
2. Les réactifs contiennent moins de 0,1 % d'azoture de sodium. Néanmoins, cette substance peut réagir violemment au contact du plomb et du cuivre contenus dans le système de plomberie, et former des azides métalliques explosifs. Consulter la fiche de données de sécurité pour obtenir des informations sur les risques, les dangers et la sécurité.
3. Comme pour toute procédure de test diagnostique, l'interprétation des résultats doit tenir compte des résultats de tous les autres tests ainsi que de l'état clinique du patient.
4. Ne pas utiliser de cuvettes abîmées.

INSTRUCTIONS CONCERNANT LA MANIPULATION, LE STOCKAGE ET LA STABILITÉ DU RÉACTIF

Le réactif est fourni prêt à l'emploi. Le réactif non ouvert est stable jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette, à condition d'être stocké entre 2 et 8 °C. Le réactif ouvert, conservé à bord de l'analyseur EasyRA dans le compartiment réfrigéré du réactif, est stable pendant le nombre de jours programmés dans la puce RFID sur la cartouche de réactif. Ne pas utiliser le réactif s'il est trouble ou nuageux, ou s'il ne parvient pas à retrouver les valeurs de contrôle sérique connues.

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS, STOCKAGE/STABILITÉ⁵

Des échantillons de sérum ou de plasma frais issu de patients à jeun depuis 12 à 14 heures sont nécessaires au dosage. Les échantillons de plasma doivent être prélevés en utilisant de l'héparine de lithium comme anticoagulant. Extraire le sérum ou le plasma le plus tôt possible après le prélèvement (dans les 3 heures). Si les dosages ne sont pas réalisés dans les 14 heures qui suivent, le sérum peut être conservé jusqu'à 7 jours entre 2 et 8 °C. Si les échantillons doivent être stockés plus de 1 semaine avant le dosage, ils peuvent être congelés à une température inférieure à -70 °C pendant 3 mois au maximum. Les échantillons ne peuvent être congelés qu'une seule fois. Consulter le document H18-A du CLSI pour plus d'informations sur le prélèvement, la manipulation et le stockage des échantillons.

PROCÉDURE

Matériel fourni

Cartouche de réactif Medica HDL, REF 10211

Matériel auxiliaire nécessaire

Medica Étalon HDL, REF 10653

Medica EasyQC®, Niveau A – Chimie/Électrolytes, REF 10793

Medica EasyQC, Niveau B – Chimie/Électrolytes, REF 10794

Cartouche de colorant pour test de précision Medica, REF 10764

Cartouche de nettoyant Medica – Chimie et électrodes sélectives, REF 10660 *ou*

Cartouche de nettoyant Medica – Chimie, REF 10661

Mode d'emploi

Le réactif est fourni prêt à l'emploi. Retirer le bouchon et placer le réactif dans le plateau de l'analyseur EasyRA, situé dans le compartiment approprié de la cartouche. La stabilité du réactif à bord (60 jours maximum) est programmée dans la puce RFID sur la cartouche de réactif.

Remarque : vérifier l'absence de mousse au niveau des collets de la cartouche après avoir retiré les bouchons et placé la cartouche sur l'analyseur. S'il y a de la mousse, procéder à son élimination à l'aide d'un écouvillon ou d'une pipette jetable avant d'effectuer le test. Utiliser des écouvillons ou pipettes jetables différents pour R1 et R2.

Étalonnage

Medica Étalon HDL - Chimie, Réf. 10653 est recommandé pour étalonner le dosage. L'intervalle d'étalonnage (30 jours maximum) est programmé dans la puce RFID sur la cartouche de réactif. Un nouvel étalonnage doit être effectué à chaque changement de numéro de lot de réactifs ou en cas d'écart entre les valeurs du contrôle de qualité. La valeur de l'étalon du cholestérol HDL a été attribuée selon des procédures disponibles auprès du NRS/CHOL (National Reference System for Cholesterol).

Contrôle de qualité

Il est recommandé d'inclure deux niveaux de contrôle (normal et anormal) à base de sérum humain quotidiennement lors des tests patient et à chaque changement de numéro de lot de réactifs. Si les résultats du matériel de contrôle du dosage ne correspondent pas à l'intervalle de valeurs attendues, cela peut indiquer la présence d'une dégradation du réactif, d'un mauvais fonctionnement de l'instrument ou d'erreurs survenues au cours de la procédure. Le laboratoire doit respecter les réglementations locales, d'état et fédérales en matière de contrôle de qualité, lorsqu'il en utilise le matériel.

Résultats

Une fois le dosage terminé, l'analyseur EasyRA calcule la concentration en HDL à partir du rapport entre l'absorbance corrigée de l'échantillon à déterminer et l'absorbance corrigée de l'étalon, multiplié par la valeur de l'étalon.

$$\text{HDL (mg/dl)} = \frac{[(A_{U_{600}} - A_{U_{700}}) - (A_{RBlk_{600}} - A_{RBlk_{700}})] - [(A_{U_{600}} - A_{U_{700}})_{SBlk} - (A_{RBlk_{600}} - A_{RBlk_{700}})_{SBlk}] \times dF}{[(A_{C_{600}} - A_{C_{700}}) - (A_{RBlk_{600}} - A_{RBlk_{700}})] - [(A_{C_{600}} - A_{C_{700}})_{SBlk} - (A_{RBlk_{600}} - A_{RBlk_{700}})_{SBlk}] \times dF} \times \text{Cal Value}$$

Où A_U et A_C représentent respectivement les valeurs d'absorbance de l'inconnu et de l'étalon. A_{RBlk} correspond à l'absorbance du blanc du réactif, $SBlk$ au blanc de l'échantillon, et « Cal Value » à la concentration en HDL de l'étalon (mg/dl). La réaction étant modifiée sous l'ajout, dans un deuxième temps, du réactif R2, un facteur de correction de dilution (dF) est intégré au calcul.

Valeurs attendues⁶

Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir son propre intervalle de valeurs attendues, compte tenu des différences qui existent entre les instruments, les laboratoires et les populations locales.

Selon la définition du NCEP (National Cholesterol Education Program), une concentration en cholestérol HDL inférieure à 40 mg/dl dans le sérum constitue un facteur de risque indépendant significatif des maladies cardiovasculaires. Inversement, une concentration supérieure à 60 mg/dl est désignée comme un facteur de risque négatif, pour insister sur l'effet protecteur d'un taux élevé de cholestérol HDL.

Limites de la procédure (si les valeurs de l'échantillon sont au-dessus de la limite supérieure de l'intervalle, par exemple)

Éviter d'utiliser des échantillons de sérum ou de plasma fortement hémolysés.

L'analyseur EasyRA signale tout résultat supérieur à 150 mg/dl en Haute Linéarité « HL ». Ne pas programmer la répétition automatique du dosage pour les résultats situés au-delà de la linéarité pour ce test. La linéarité ne peut pas aller au-delà de 150 mg/dl.

CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES⁷

Intervalle rapporté

L'intervalle rapporté est compris entre 2 et 150 mg/dl.

Inexactitude/corrélation (CLSI, EP9-A2)

Le tableau suivant regroupe les données obtenues lors d'une comparaison de la performance entre le réactif HDL Medica (y) avec l'analyseur EasyRA (y) et un réactif HDL semblable (x) avec l'analyseur Roche COBAS MIRA. Les données fournies ci-dessous correspondent à des dosages uniques obtenus sur l'analyseur EasyRA versus la moyenne des valeurs d'échantillons déterminés en double sur l'analyseur Roche COBAS MIRA.

Nombre d'échantillons	61	Intervalle d'échantillons	de 2 à 148 mg/dl
Courbe	0,93	Intersection avec l'axe des Y	1,8
Coefficient de corrélation	0,9976	Équation de régression	$Y = 0,93 \times X + 1,8$

*Cobas Mira est une marque déposée de Roche Diagnostics, INC., Indianapolis, IN.

Le tableau suivant regroupe les données obtenues en comparant des échantillons équivalents de sérum (x) et de plasma avec héparine de lithium (y) à l'aide du réactif HDL Medica sur l'analyseur EasyRA. Les données ci-dessous comparent un dosage unique du plasma versus la moyenne des valeurs d'échantillons de sérum déterminées en double.

Nombre d'échantillons	70	Intervalle des échantillons	1,62 à 14,71 mg/dl
Courbe	0,9854	Intersection avec l'axe des Y	-0,0643
Coefficient de corrélation	0,9891	Équation de régression	$Y = 0,9854 \times X - 0,0643$

La précision de la méthode de dosage du cholestérol HDL a été vérifiée en comparant la méthode de référence DCM (Designated Comparison Method) pour le cholestérol HDL à l'aide de 40 échantillons frais auprès d'un laboratoire membre du CRLMN (Cholesterol Reference Method Laboratory Network). Un certificat de traçabilité a été délivré pour cette méthode, signifiant que le biais par rapport à la méthode de référence était $\leq 3 \%$ et le coefficient de variation (CV) était $\leq 3 \%$.

Imprécision (CLSI, EP5-A2)

Des mesures doubles de chacun des trois niveaux du matériel de contrôle de qualité ont été testées deux fois par jour pendant 20 jours. L'imprécision totale et intra-série ont toutes deux été calculées à partir de ces données.

Imprécision intra-série :

Taux du contrôle de qualité mg/dl	DS intra-série mg/dl	CV intra-série %
33,2	0,65	1,96
64,6	0,96	1,49
39,6	0,80	2,02

Imprécision totale :

Taux du contrôle de qualité mg/dl	Imprécision totale DS mg/dl	Imprécision totale CV %
33,2	0,84	2,52
64,6	1,41	1,92
39,6	1,20	3,10

Linéarité (CLSI, EP6-A)

Linéarité comprise entre 2 et 150 mg/dl, en fonction de la régression linéaire $Y = 1,026 \cdot X + 1,741$. La linéarité ne peut pas aller au-delà de 150 mg/dl.

Substances interférentes (CLSI, EP7-A)

Une interférence inférieure à 10 % est désignée par « aucune d'interférence significative ».

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux d'hémoglobine allant jusqu'à 500 mg/dl.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de bilirubine allant jusqu'à 30 mg/dl.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de triglycérides allant jusqu'à 1 000 mg/dl (à l'aide du produit Intralipid*).

*Intralipid est une marque déposée de Pharmacia AB à Clayton, Caroline du Nord.

Young fournit une liste de médicaments et autres substances qui interfèrent avec les tests cliniques chimiques.^{8,9}

RÉFÉRENCES

1. Crouse, J.R., et al., Studies of low density lipoprotein molecular weight in human beings with coronary artery disease. J. Lipid Res., 26: 566 (1985).
2. Castelli, W.P. et al., HDL Cholesterol and other lipids in coronary heart disease, Circulation, 55:767 (1977).
3. Romm PA., et al., *Relation of Serum Lipoprotein Cholesterol Levels to Presence and Severity of Angiographic Coronary Artery Disease*. Am. J. Cardiol. (1991) 67: 479-483.
4. 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 Vol 285:19, 2486-2497 (2001).
5. Warnick G.; Russell; Wood, Peter D., National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol: Executive Summary, Clin Chem, 41:10, 1427-1433 (1995).
6. Gordon T., et al., *High Density Lipoprotein as a Protective Factor against Coronary Heart Disease: The Framingham Study*. Am J. Med. (1977) 62: 707-714.
7. Documentation de Medica.
8. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
9. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.

Paramètres du dosage (HDL) EasyRA

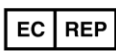
Longueur d'onde principale (nm)	600
Longueur d'onde secondaire (nm)	700
Mode réactionnel	Point final (2)
Sens réactionnel	Croissant
Blanc du réactif	Oui (à chaque étalonnage)
Blanc de l'échantillon	Oui
Durée de la réaction	10,4 min
Intervalle d'étalonnage (maximum)	30 jours
Stabilité du réactif à bord	60 jours

Sérum / Plasma

Volume de l'échantillon (µl)	2,5
Volume du diluant 1 (µl)	15
Volume du diluant 2 (µl)	20
Volume du réactif R1 (µl)	250
Volume du réactif R2 (µl)	83
Emplacements décimaux (par défaut)	0
Unités (valeurs par défaut)	mg/dl
Linéarité	2 à 150 mg/dl



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, MA 01730-1413 USA



Emergo Europe, Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands