

Précipitant HDL

Réactif de précipitation pour la détermination in vitro du Cholestérol HDL par la méthode CHOD-PAP sur systèmes photométriques

Présentation

Références	Composition du kit
1 3540 99 90 885	250 mL Réactif de précipitation
1 1350 99 10 021	5 x 25 mL + 1 x 3 mL Standard
1 1350 99 10 026	6 x 100 mL
1 1350 99 10 023	1 x 1000 mL
1 1300 99 10 030	6 x 3 mL Standard

Principe

Les chylomicrons, les VLDL et les LDL sont précipités par l'addition d'acide phosphotungstique et d'ions magnésium dans l'échantillon. Après avoir centrifugé, la concentration de la fraction HDL dans le surnageant est déterminée enzymatiquement par le Cholestérol FS de DiaSys à partir de la précipitation.

Réactifs

Composants et concentrations

Acide phosphotungstique	1,4 mmol/L
Chlorure de magnésium	8,6 mmol/L

Standard : 2,0 g/L (5,2 mmol/L)

Stockage et stabilité des réactifs

Le réactif et le standard sont stables jusqu'à la fin du mois de la date de péremption indiquée, si le réactif est conservé entre +15 °C et +25 °C et le standard est conservé entre +2 °C et +8 °C en évitant toute contamination. Ne pas congeler les réactifs et conserver le standard à l'abri de la lumière.

Avertissements et précautions d'emploi

- Dans de très rares cas, des spécimens de patients souffrant de gammopathie peuvent produire des valeurs faussées [7].
- Merci de vous référer aux fiches de sécurité et prendre les précautions nécessaires pour l'utilisation de réactifs de laboratoire. Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être exploités en fonction de l'historique médical du patient, des examens cliniques ainsi que des résultats obtenus sur d'autres paramètres.
- Uniquement à usage professionnel.

Élimination des déchets

Se référer aux exigences légales nationales.

Préparation de réactif

Le réactif de précipitation est prêt à l'emploi.

Matériels requis mais non fournis

NaCl-Solution 9 g/L
Équipement général de laboratoire

Spécimen

Sérum, plasma sur héparine ou sur EDTA

Stabilité [5] :	2 jours	entre +20 °C et +25 °C
	7 jours	entre +4 °C et +8 °C
	3 mois	à -20 °C

Congélation unique !

Éliminer les échantillons contaminés !

Mode opératoire

Précipitation

Échantillon/Standard	200 µL
Réactif de précipitant	500 µL
Mélanger et laisser reposer 15 min. à température ambiante, puis centrifuger pendant 20 min à 2500 g. 2 heures après centrifugation prélever 0,1 mL de surnageant limpide pour la détermination de cholestérol.	

Le surnageant obtenu par centrifugation doit être limpide; si l'échantillon a une concentration de triglycérides > 10 g/L, la précipitation des lipoprotéines peut être incomplète (surnageant trouble), ou une partie du précipité peut flotter à la surface. Dans ces cas, diluer l'échantillon 1 + 1 avec de la solution NaCl (9 g/L) et recommencer l'étape de précipitation. Le résultat de l'analyse du cholestérol doit être multiplié par 2.

Détermination du cholestérol

Longueur d'onde	500 nm, Hg 546 nm
Trajet optique	1 cm
Température	entre +20 et +25 °C, +37 °C
Mesure	Contre le blanc réactif

	Standard	Échantillon
Surnageant	-	100 µL
Standard	100 µL	-
Réactif de Cholestérol	1000 µL	1000 µL
Mélanger et incuber 10 min. à température ambiante ou 5 min. à +37 °C, mesurer ensuite l'absorbance de l'échantillon p. ex. le standard contre le blanc réactif dans un délai de 45 min.		

Calcul

Avec standard

$$\text{HDL - Cholestérol [mg / L]} = \frac{\Delta A \text{ Échantillon}}{\Delta A \text{ Standard}} \times \text{Conc. Standard [mg / L]}$$

La concentration de cholestérol total est utilisée comme concentration standard.

Facteur de conversion

$$\text{Cholestérol [mg/L]} \times 0,2586 = \text{Cholestérol [mmol/L]}$$

Contrôles

Utiliser TruLab L de DiaSys pour le contrôle de qualité interne. Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites de confiance.

	Référence	Taille coffret
TruLab L Niveau 1	5 9020 99 10 065	3 x 3 mL
TruLab L Niveau 2	5 9030 99 10 065	3 x 3 mL

Performance

Domaine de mesure

Le test a été développé pour la détermination des concentrations du cholestérol HDL jusqu'à 4 g/L. Au delà de cet intervalle, diluer l'échantillon 1 + 4 avec de la solution NaCl (9 g/L) et multiplier le résultat par 5.

Spécificité/Interférences

Bilirubine et hémoglobine interfère la détermination même à concentration minimale. Pour plus d'information au sujet des interférences, voir Young DS [5].

Limite de détection

La limite basse de détection est de 20 mg/L.

Etude de précision

Intra série n = 20	Moyenne [mg/L]	DS [mg/L]	CV [%]
Echantillon 1	290	6,0	2,1
Echantillon 2	610	8,6	1,4
Echantillon 3	1050	14,9	1,4

Inter série n = 20	Moyenne [mg/L]	DS [mg/L]	CV [%]
Echantillon 1	270	8,0	3,0
Echantillon 2	450	5,1	1,1
Echantillon 3	560	13,4	2,4

Comparaison de méthodes

Une comparaison du Cholestérol FS de DiaSys + Précipitant HDL (y) avec un test cholestérol + HDL précipitant disponible sur le marché (x), réalisée sur 60 échantillons, a donné les résultats suivants :

$$y = 0,98 x + 16,5 \text{ mg/L} ; \text{coefficient de corrélation} : r = 0,996$$

Valeurs usuelles [4]

Directives du National Cholesterol Education Program (NCEP = Programme National d'Éducation sur le Cholestérol (PNÉC)) :

Cholestérol HDL bas (facteur de risque majeur de MC) :
< 40 mg/dL (< 1,04 mmol/L)

Cholestérol HDL élevé (facteur de risque « négatif » de MC) :
≥ 60 mg/dL (≥ 1,55 mmol/L)

Un certain nombre de facteurs contribuent à un faible taux de cholestérol HDL : par exemple l'embonpoint et l'obésité, le tabagisme, l'inactivité physique, les médicaments comme les bêtabloquants et les médicaments progestatifs, les facteurs génétiques.

Chaque laboratoire devrait vérifier si les valeurs usuelles sont transmissibles à sa propre population patiente et déterminer ses propres valeurs de référence si besoin.

Références bibliographiques

1. Rifai N, Bachorik PS, Albers JJ. Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 809-61.
2. Recommendation of the Second Joint Task Force of European and other Societies on Coronary Prevention. Prevention of coronary heart disease in clinical practice. Eur Heart J 1998;19: 1434-503.
3. Lopes-Virella MF, Stone P, Ellis S, Colwell JA. Cholesterol determination in high-density lipoproteins separated by three different methods. Clin Chem 1977;23:882-4.
4. 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). NIH Publication No. 02-5215; September 2002.
5. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001. p. 22-3.
6. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
7. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: Mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007; 45(9): 1240-1243.

Fabriqué par

DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Allemagne

