

HDL-C Immuno FS *

CODE CQN : WF

Réactif de diagnostic in vitro pour la détermination du cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDL-C) dans le sérum ou le plasma sur systèmes photométriques

Présentation

Références	Emballage coffret
1 3521 99 10 021	R1 5 x 20 mL + R2 1 x 25 mL
1 3521 99 10 026	R1 5 x 80 mL + R2 1 x 100 mL
1 3521 99 10 023	R1 1 x 800 mL + R2 1 x 200 mL
1 3521 99 10 704	R1 8 x 50 mL + R2 8 x 12,5 mL
1 3521 99 10 917	R1 8 x 60 mL + R2 8 x 15 mL
1 3521 99 10 930	R1 4 x 20 mL + R2 2 x 10 mL

Intérêt clinique [1,2]

Le cholestérol est un composant des membranes cellulaires, synthétisé par les cellules du corps et absorbé par l'alimentation ; il sert de précurseur pour les hormones stéroïdes et les acides biliaires. Le cholestérol est transporté dans le plasma par les lipoprotéines ; des complexes formés entre les lipides et les apolipoprotéines. Il existe quatre classes de lipoprotéines : les lipoprotéines de basse densité (LDL), les lipoprotéines de haute densité (HDL), les lipoprotéines de très basse densité (VLDL) et les chylomicrons. Le LDL est impliqué dans le transport du cholestérol vers les cellules périphériques, alors que le HDL est responsable de l'élimination du cholestérol des cellules. Les quatre classes de lipoprotéines sont différemment impliquées dans l'athérosclérose coronarienne. Le cholestérol-LDL contribue à la formation de la plaque athéromateuse dans l'intima artérielle ; il est fortement associé aux maladies coronariennes (MC) et à la mortalité qui s'y rapporte. Même avec une valeur de cholestérol total dans le domaine de référence, une concentration accrue en cholestérol-LDL traduit un risque élevé. Le cholestérol-HDL joue un rôle protecteur en gênant la formation de la plaque d'athérome et montre une relation inverse vis-à-vis de la prévalence des affections coronariennes. De fait, des valeurs basses en HDL-cholestérol constituent un facteur de risque indépendant.

La mesure isolée du taux de cholestérol total est utilisée au titre du dépistage. Pour une meilleure évaluation du risque, il est nécessaire d'y adjoindre la détermination du HDL-cholestérol et du LDL-cholestérol. Plusieurs essais cliniques contrôlés menés ces dernières années, basés sur l'alimentation, le style de vie et/ou différents médicaments (en particulier les inhibiteurs de la HMG CoA réductase [statines]) ont montré qu'un abaissement des taux de cholestérol total et de LDL-cholestérol réduit de façon drastique le risque d'affections coronariennes.

Méthode

Les anciennes méthodes de détermination du HDL-cholestérol reposaient sur des méthodes prolongées de précipitation [3]. Le test HDL-C Immuno FS est une méthode en phase homogène sans étape de centrifugation. Des anticorps dirigés contre les lipoprotéines humaines sont utilisés pour former des complexes antigènes-anticorps avec les LDL, les VLDL et les chylomicrons, de sorte que seul le HDL-cholestérol est mesuré de façon sélective par un dosage enzymatique de cholestérol [4].

Principe

LDL, VLDL, Chylomicrons $\xrightarrow{\text{Anticorps anti-humain-lipoprotéine}}$ Complexes Ag-Ac + HDL

HDL-chole + H₂O + O₂ $\xrightarrow{\text{CHE \& CHO}}$ Cholest-4-en-3-one + acides gras + H₂O₂

H₂O₂ + F-DAOS + 4-aminoantipyrine $\xrightarrow{\text{POD}}$ Complexe bleu + H₂O

Réactifs

Composants et Concentrations

R1 :	Tampon de Good	pH 7,0	25 mmol/L
	4-Aminoantipyrine		0,75 mmol/L
	Peroxydase (POD)		2000 U/L
	Acide ascorbique oxydase		2250 U/L
	Anticorps anti-β-lipoprotéine humaine (mouton)		
R2 :	Tampon de Good	pH 7,0	30 mmol/L
	Cholestérol-estérase (CHE)		4000 U/L
	Cholestérol-oxydase (CHO)		20000 U/L
	N-éthyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-diméthoxy-4-fluoroaniline, sel sodique (F-DAOS)		0,8 mmol/L

Conservation et stabilité des réactifs

Les réactifs sont stables jusqu'à la fin du mois de la date de péremption indiquée, conservés entre +2 °C et +8 °C en évitant toute contamination. Ne pas congeler le réactif et le protéger de la lumière !

Note : Il est à noter que la mesure n'est pas influencée par d'éventuels changements de couleurs tant que l'absorbance du réactif pré-mélangé (4 parts R1 + 1 part R2) soit < 0,03 à 600 – 700 nm.

Stabilité à bord d'un analyseur : 4 semaines entre +2 °C et +8 °C.

Avertissements et précautions d'emploi

- Réactif 1: Attention. Contient : Mélange de: 5-chloro-2-méthyl-2H-isothiazol-3-on- et de 2-méthyl-2H-isothiazol-3-on (3:1). H317 Peut provoquer une allergie cutanée. H412 Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P273 Éviter le rejet dans l'environnement. P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux. P302+P352 En cas de contact avec la peau : laver abondamment à l'eau/au savon. P333+P313 En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin.
- Les réactifs contiennent de la matière animale. Manier le produit comme potentiellement infectieux selon les précautions universelles et de bonne pratique de laboratoire.
- Dans de très rares cas, des spécimens de patients souffrant de gammopathie peuvent produire des valeurs faussées [8].
- La N-acétylcystéine (NAC), l'acétaminophène et les médicaments métamizole conduisent aux résultats faussement bas dans les spécimens de patients.
- Merci de vous référer aux fiches de sécurité et prendre les précautions nécessaires habituelles 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 des réactifs

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Matériels requis mais non fournis

Solution NaCl 9 g/L
Équipement général de laboratoire

Spécimen

Sérum, plasma recueilli sur héparine [5]

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

Éliminer les échantillons contaminés ! Congélation unique

Mode opératoire

Des notices d'application adaptées aux systèmes automatisés sont disponibles sur demande.

Longueur d'onde	600/700 nm (mesure bichromatique)
Trajet optique	1 cm
Température de mesure	+37 °C
Mesure	Contre le blanc réactif

	Blanc	Échantillon/ Standard
Échantillon/Standard	-	2,4 µL
Réactif 1	240 µL	240 µL
Mélanger, incubé 5 min. à +37 °C, lire l'absorbance A1, puis ajouter :		
Réactif 2	60 µL	60 µL
Mélanger, incubé 5 min. à +37 °C, lire l'absorbance A2.		

$$\Delta A = (A2 - A1) \text{ Échantillon / Calibrant}$$

Calcul

Avec le calibrant

$$\text{HDL - C [g / L]} = \frac{\Delta A \text{ Échantillon}}{\Delta A \text{ Calibrant}} \times \text{Conc. Cal. [g / L]}$$

Facteur de conversion

$$\text{HDL-C [g/L]} \times 2,586 = \text{HDL-C [mmol/L]}$$

Calibrants et Contrôles

Pour la calibration des systèmes photométriques automatisés, le calibrant TruCal Lipid de DiaSys est recommandé. Les valeurs de ce calibrant sont établies par rapport au matériel de référence NIST-SRM®-1951 Niveau 2. Pour le contrôle de qualité interne, le contrôle DiaSys TruLab L est recommandé. Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites de confiance.

	Référence	Taille coffret
TruCal Lipid	1 3570 99 10 045	3 x 2 mL
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

Performances

Domaine de mesure

Le test a été développé pour la détermination des concentrations en HDL-C dans un domaine de mesure compris entre 0,01 et 1,80 g/L (0,03 – 4,7 mmol/L). Au delà de cet intervalle, diluer l'échantillon 1 + 2 avec de la solution de chlorure de sodium (9 g/L) et multiplier le résultat par 3.

Spécificité/Interférences

Aucune perturbation n'a été observée par la présence d'acide ascorbique jusqu'à 500 mg/L, de bilirubine jusqu'à 400 mg/L, d'hémoglobine jusqu'à 5 g/L et de lipémie jusqu'à 12 g/L de triglycérides. Pour plus d'informations au sujet des interférences, voir Young DS [6].

Sensibilité/Limite de détection

La limite inférieure de détection analytique est de 0,01 g/L (0,03 mmol/L).

Etude de précision (n = 20)

Intra série n = 20	Moyenne [g/L]	DS [g/L]	CV [%]
Échantillon 1	0,204	0,0017	0,81
Échantillon 2	0,560	0,0041	0,73
Échantillon 3	1,25	0,0103	0,82

Inter série n = 20	Moyenne [g/L]	DS [g/L]	CV [%]
Échantillon 1	0,440	0,0083	1,88

Comparaison de méthodes

Une comparaison de la méthode HDL-C Immuno FS de DiaSys (y) avec une méthode disponible sur le marché (x), réalisée sur 100 échantillons, a donné les résultats suivants :

$$y = 1,05 x + 5,71 \text{ mg/L ; coefficient de corrélation : } r = 0,995$$

Valeurs usuelles [7]

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. Wiebe DA, Warnick GR. Measurement of high-density lipoprotein cholesterol. In: Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, eds. Handbook of lipoprotein testing. Washington: AACC Press, 1997: p. 127-44.
4. Nauck M, Maerz W, Wieland H. New immunoseparation-based homogenous assay for HDL-cholesterol compared with three homogenous and two heterogeneous methods for HDL-cholesterol. Clin Chem 1998; 44: 1443-51.
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. 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.
8. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: Mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007; 45(9): 1240-1243.

Fabricant



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim
(Allemagne)