



BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANT :
BIOLABO SAS,

Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

CHOLESTEROL-HDL (PTA)

Précipitant

Pour le traitement des spécimens en vue
du dosage quantitatif du Cholestérol-HDL dans le sérum et le plasma humains

| | |
|------------------|--------------------------|
| REF 86516 | 1 x 125 mL Précipitant |
| | 1 x 5 mL Etalon 1,00 g/L |
| REF 86536 | 1 x 30 mL Précipitant |
| | 1 x 5 mL Etalon 1,00 g/L |

CODE CNQ : MX

SUPPORT TECHNIQUE et COMMANDES

Tel : (33) 03 23 25 15 50

Fax : (33) 03 23 256 256



USAGE IN VITRO

INTERET CLINIQUE (1) (7)

On considère que le rôle majeur des lipoprotéines de haute densité (HDL) est le transfert du cholestérol depuis les tissus périphériques vers le foie. Les HDL exercent un effet protecteur vis à vis de l'athérosclérose en général et en particulier de l'athérosclérose coronarienne. La diminution du taux de Cholestérol-HDL est donc un indicateur de risque athérogène. L'augmentation du rapport Cholestérol Total/Cholestérol-HDL, est significatif d'une augmentation du risque athérogène.

PRINCIPE (8)

Ce réactif est destiné uniquement au traitement des spécimens avant le dosage du Cholestérol-HDL avec un réactif de dosage du cholestérol total.

Les lipoprotéines de faible densité (LDL), les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et chylomicrons du spécimen sont précipités par l'acide phosphotungstique (PTA) et le chlorure de magnésium. Le Cholestérol-HDL obtenu dans le surnageant après centrifugation est ensuite dosé par un réactif pour le dosage du cholestérol total (exemple : CHOLESTEROL CHOD-PAP BIOLABO **REF** 80106).

REACTIFS

flacon R1 **PRECIPITANT**

Acide Phosphotungstique (PTA) 13,9 mmol/L
Chlorure de Magnésium 570 mmol/L

flacon R2 **ETALON**

Cholestérol 1,00 g/L (2,58 mmol/L)

PRECAUTIONS

Les réactifs BIOLABO sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro.

- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
 - Utiliser des équipements de protection (blouse, gants, lunettes).
 - Ne pas pipeter avec la bouche.
 - En cas de contact avec la peau ou les yeux, rincer abondamment à l'eau et consulter un médecin.
 - Les réactifs contiennent de l'azide de sodium (concentration < 0,1%) qui peut réagir avec les métaux tel que le cuivre ou le plomb des canalisations. Rincer abondamment.
 - La fiche de données de sécurité peut être obtenue sur simple demande.
 - Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.
- Par mesure de sécurité, traiter tout spécimen comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

PREPARATION DES REACTIFS

Le réactif est prêt à l'emploi.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (6)

Le patient doit être prélevé après 12 h à 14 h de jeûne.

Plasma : collecté sur EDTA. Séparer par centrifugation le plasma des cellules sanguines dans les 3 heures après prélèvement.

Sérum : Séparer par centrifugation le sérum des cellules sanguines dans les 3 heures après prélèvement.

L'oxalate, le fluorure, le citrate ou l'héparine ne conviennent pas.

Le cholestérol-HDL est stable :

- 1 à 3 jours à 2-8° C.
- 1 mois à - 20° C.

STABILITE ET CONSERVATION

Stocker à 2-8°C dans le flacon d'origine, bien bouché et à l'abri de la lumière.

- **Etalon (flacon R2)** : Transvaser la quantité nécessaire, bien reboucher et stocker à 2-8°C.
- En l'absence de contamination, les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret, s'ils sont utilisés et conservés dans les conditions préconisées.
- La présence d'un dépôt dans le flacon R1 n'est pas un signe d'altération, il sera précipité pendant la phase de centrifugation.

INTERFERENCES (3) (5) (6)

La technique Acide phosphotungstique/Mg²⁺ est moins sujette à l'interférence de l'hyperlipémie que la méthode CDC héparine/Mn²⁺. La méthode est surtout sensible aux conditions de la réaction. Elle peut être affectée par la température ou le temps de séparation « surnageant-précipité ».

Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

1. Equipement de base du laboratoire d'analyses médicales.
2. Calibrateur HDL LDL CK-MB **REF** 95506
3. Sérums de contrôle HDL LDL CK-MB (origine humaine)
REF 95516 Contrôle HDL LDL CK-MB et lipides Taux 1
REF 95526 Contrôle HDL LDL CK-MB et lipides Taux 2
4. Réactif pour le dosage du cholestérol total (exemple : CHOLESTEROL CHOD-PAP BIOLABO **REF** 80106).

CALIBRATION (10)

- Utiliser l'Étalon du coffret (flacon R2) traçable sur SRM909b, ou équivalent. **Ne pas traiter l'étalon et multiplier les résultats par 1,1.**
- Ou utiliser le Calibrateur HDL LDL CK-MB [REF] 95506 (sérum humain traçable sur SRM 1951b). **Traiter le calibrateur comme un spécimen et ne pas multiplier les résultats par 1,1.**
- Volume spécimen : voir le tableau « Technique Manuelle » du § **MODE OPERATOIRE**

CONTRÔLE DE QUALITE CODE CNQ : MX

- [REF] 95516 Contrôle HDL LDL CK-MB et lipides Taux 1
 - [REF] 95526 Contrôle HDL LDL CK-MB et lipides Taux 2
 - Tout autre sérum de contrôle humain titré pour cette méthode (précipitation avec PTA).
 - Programme externe de contrôle de la qualité.
- Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :
- Au moins un contrôle par série.
 - Au moins un contrôle par 24 heures.
 - Changement de flacon de réactif.
 - Après opérations de maintenance sur l'analyseur.

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites de confiance indiquées, appliquer les actions suivantes :

- Répéter le test en utilisant le même contrôle.
- Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, préparer un sérum de contrôle fraîchement reconstitué et répéter le test.
- Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un autre flacon d'étalon ou équivalent et répéter le test.
- Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, calibrer à nouveau en utilisant un autre flacon de réactif de dosage du cholestérol total.
- Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local.

INTERVALLES DE REFERENCE (9)

| Cholestérol-HDL | g/L | [mmol/L] |
|---------------------------------|--------|----------|
| Taux faible (facteur de risque) | < 0,40 | < 1,04 |
| Taux élevé (facteur protecteur) | ≥ 0,60 | ≥ 1,55 |

Il est recommandé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence pour la population concernée.

PERFORMANCES

Avec réactif de dosage du Cholestérol Total (CHOD-PAP)

[REF] 80106 :

| Intra-série N = 10 | Taux moyen | Taux élevé | Inter-série N = 20 | Taux faible | Taux élevé |
|-----------------------|------------|------------|-----------------------|-------------|------------|
| Moyenne g/L | 0,73 | 1,25 | Moyenne g/L | 0,41 | 1,18 |
| S.D. g/L | 0,021 | 0,026 | S.D. g/L | 0,022 | 0,064 |
| C.V. % | 2,9 | 2,08 | C.V. % | 5,3 | 5,4 |

Limite de détection : 0,02 g/L.

Sensibilité : environ 0,579 Abs pour 1 g/L.

Comparaison avec méthode de référence :

$$y = 1,01x - 0,01 \quad r = 0,9948$$

LIMITE DE LINEARITE

Avec le réactif BIOLABO Cholestérol Total (CHOD PAP) [REF] 80106, la réaction est linéaire jusqu'à 2,00 g/L (5,17 mmol/L).

Au-delà, diluer le surnageant avec une solution NaCl à 9 g/L et refaire le dosage en tenant compte de la dilution dans le calcul du résultat.

La limite de linéarité dépend du rapport de dilution spécimen/réactif.

MODE OPERATOIRE (TECHNIQUE MANUELLE)

(*) Préparation du Spécimen, Calibrateur et Contrôles sériques :

Ne pas traiter l'étalon à 1,00 g/L du coffret.

| Mesurer dans un tube à centrifuger : | Macro-méthode | Micro-méthode |
|--------------------------------------|---------------|---------------|
| Spécimen (*) | 1 mL | 0,5 mL |
| Réactif précipitant | 100 µL | 50 µL |

Bien mélanger, laisser reposer 10 minutes à température ambiante.
Centrifuger 15 minutes à 3500-4000 TPM. (1500 g)

Appliquer ensuite la procédure ci-dessous.

Dosage :

Avec réactif de dosage du Cholestérol Total BIOLABO (CHOD-PAP)

[REF] 80106 ou équivalent :

Ramener les réactifs et surnageant à température ambiante.

Calibrer avec l'étalon du coffret ou un calibrateur sérique prétraité.

| Mesurer dans des tubes à essais bien identifiés : | Blanc | Etalon | Dosage |
|---|-------|--------|--------|
| Réactif | 1 mL | 1 mL | 1 mL |
| Eau déminéralisée | 25 µL | | |
| Etalon 1,00 g/L | | 25 µL | |
| Surnageant (*) | | | 25 µL |

Mélanger. Laisser reposer 5 minutes à 37° C ou 10 minutes à température ambiante. Lire les absorbances à 500 nm (480-520) contre le blanc réactif. La coloration est stable une heure.

Remarques :

- ✓ (*) Surnageant : Spécimen, Contrôles [REF] 95516, [REF] 95526 ou Calibrateur [REF] 95506 (sérum humain).
- ✓ des procédures spécifiques sont disponibles pour les analyseurs automatiques. Contacter le service technique BIOLABO.
- ✓ Si après centrifugation, le surnageant reste trouble, répéter l'étape de précipitation sur spécimen dilué (1 + 1) dans NaCl 9 g/L et multiplier le résultat par 2.

CALCUL

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

| |
|---|
| Cas n°1 : Avec Etalon 1,00 g/L du coffret |
| Résultat = $\frac{\text{Abs (Dosage)}}{\text{Abs (Etalon)}} \times \text{Concentration de l'Etalon} \times 1,1$ |

L'étalon 1,00 g/L n'étant pas dilué, le facteur 1,1 tient compte de la dilution du spécimen lors de l'étape de précipitation.

| |
|--|
| Cas n°2 : Avec Calibrateur [REF] 95506 |
| Résultat = $\frac{\text{Abs (Dosage)}}{\text{Abs (Calibrateur)}} \times \text{Concentration du calibrateur}$ |

La calibrateur étant traité comme les spécimens, il n'est pas nécessaire de multiplier les résultats par 1,1

REFERENCES

- (1) Badimon J. J., Badimon L., Fuester V., Regression of atherosclerotic lesions by HDL plasma fraction in the Cholesterol-fed rabbit, *Journal of clinical investigation*, (1990), 85, p.1234-1241.
- (2) *Clinical Guide to Laboratory Test*, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 564-569
- (3) YOUNG D.S., *Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests*, 4th Ed. (1995) p 3-308 à 3-317
- (4) BURNSTEIN M. et Al., *Journal of Lipid Research*, 11, (1970), p.583-595
- (5) LOPES-VIRELLA M. F. et Al., *Clin. Chem.*, (1977), 23/5, p.882-884
- (6) NCEP-NIH Publication N°95-3044 (Sept. 1995)
- (7) Gotto, A.M., *Lipoprotein metabolism and the ethiology of hyperlipidemia*, *Hospital Practice*, 23 ; Suppl. 1, 4 (1988)
- (8) TIETZ N.W. *Text book of clinical chemistry*, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 819-861.
- (9) *Recommandations de l'AFSSAPS sur la prise en charge thérapeutique du patient dyslipémique*, p.9 (Mars 2005)
- (10) SRM : Standard Reference Material ®