



HDL Colesterol

monofase AA plus

Método colorimétrico sin precipitación para la determinación de HDL-colesterol en suero o plasma

SIGNIFICACION CLINICA

Las lipoproteínas plasmáticas son partículas esféricas que contienen cantidades variables de colesterol, triglicéridos, fosfolípidos y proteínas. Los fosfolípidos, el colesterol libre y las proteínas constituyen la superficie externa de la partícula lipoproteica, mientras que su core contiene en mayor proporción colesterol esterificado y triglicéridos. Estas partículas solubilizan y transportan el colesterol en el torrente sanguíneo.

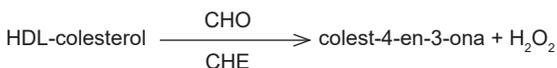
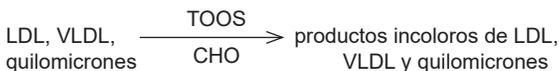
La proporción relativa de proteína y lípido determina la densidad de estas lipoproteínas y provee las bases sobre las cuales establecer una clasificación. Estas clases son: quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL - Very Low Density Lipoproteins), lipoproteínas de baja densidad (LDL - Low Density Lipoproteins) y lipoproteínas de alta densidad (HDL - High Density Lipoproteins). Numerosos estudios clínicos han demostrado que las diferentes clases de lipoproteínas tienen distintos y variados efectos en el riesgo de enfermedad coronaria.

La función principal de las HDL en el metabolismo lipídico es la captación y transporte de colesterol desde los tejidos periféricos al hígado en un proceso conocido como transporte reverso de colesterol (mecanismo cardioprotectivo).

El HDL-colesterol bajo, está asociado con un alto riesgo de enfermedad cardíaca. Por este motivo la determinación de HDL-colesterol es una herramienta útil en la identificación de individuos de alto riesgo.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El presente, es un método homogéneo que emplea dos reactivos. En la primera etapa de la reacción, se solubiliza y consume el colesterol libre o unido a proteínas distintas de la HDL en una reacción que involucra a colesterol oxidasa (CHO), peroxidasa (POD) y N-etil-N-(2-hidroxi-3-sul-fopropil)-3-toluidina disódica (TOOS) dando lugar a un producto no coloreado. En una segunda etapa, un detergente solubiliza específicamente las HDL. El HDL-colesterol es liberado para reaccionar con colesterol esterasa (CHE), colesterol oxidasa y TOOS, dando un producto coloreado:



REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de colesterol oxidasa (< 1000 U/l), peroxidasa (< 1300 U/l) y N-etil-N-(2-hidroxi-3-sul-fopropil)-3-toluidina disódica (TOOS) (< 1 mM), en buffer de Good, con estabilizante y conservante apropiados.

B. Reactivo B: solución de detergente (< 2%), colesterol esterasa (< 1500 U/l) y 4-aminoantipirina (4-AAP) (< 1 mM), en buffer de Good, con estabilizante y conservante apropiados.

Calibrador*: suero humano liofilizado conteniendo lipoproteínas de diversos tipos incluyendo HDL. La concentración es variable lote a lote (ver título en el rótulo).

REACTIVOS NO PROVISTOS

Agua destilada.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos A y B: listos para usar.

Calibrador: reconstituir con el volumen de agua destilada indicado en el rótulo. Tapar el vial y dejar en reposo durante 5 minutos. Ayudar a la disolución rotando el vial suavemente, evitando la formación de espuma. No agitar.

PRECAUCIONES

- Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".
- No pipetear con la boca.
- El Calibrador ha sido examinado para HBsAg, HCV y anticuerpos contra HIV 1/2, encontrándose no reactivo. No obstante, debe procesarse como si se tratara de material infectivo.
- Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.
- Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Los Reactivos Provistos son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar. Una vez abiertos los reactivos son estables durante 3 semanas en refrigerador (2-10°C).

Una vez reconstituido, el Calibrador es estable 1 semana en refrigerador (2-10°C) o 1 mes congelado (-20°C), evitando descongelar y volver a congelar.

MUESTRA

Suero o plasma

a) Recolección: obtener la muestra de la manera usual.

b) Aditivos: heparina o EDTA cuando se utilice plasma como muestra.

c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por ácido ascórbico hasta 100 mg/dl, hemoglobina hasta 1000 mg/dl, bilirrubina hasta 60 mg/dl, ni triglicéridos hasta 1200 mg/dl (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO).

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

c) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: centrifugar y separar el suero del coágulo dentro de las 3 horas posteriores a la extracción. De no procesar las muestras inmediatamente, las mismas pueden ser conservadas durante 1 semana en refrigerador (2-10°C).

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Material volumétrico para medir los volúmenes indicados
- Analizador automático

PROCEDIMIENTO

(analizadores automáticos)

A continuación se detalla un procedimiento general para **HDL Colesterol monofase AA plus** en un analizador automático. Cuando se implemente la técnica para un analizador en particular seguir las instrucciones de trabajo del mismo.

Muestra o Calibrador	3 ul
-----------------------------	------

Reactivo A	300 ul
-------------------	--------

Incubación durante 5 minutos a 37°C. Lectura de absorbancia a 600/700 nm (Blanco de Muestra).

Reactivo B	100 ul
-------------------	--------

Incubación 5 minutos a 37°C. Lectura del resultado a 600/700 nm (concentración de HDL-colesterol).

CALIBRACION

El Calibrador debe procesarse de la misma manera que las muestras. Las concentraciones del Calibrador se encuentran alrededor de los niveles de decisión médica y son variables lote a lote (ver título en el rótulo). Ingresar el valor de concentración del calibrador cada vez que se cambie de lote.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de HDL colesterol, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

Los valores esperados de HDL colesterol son los siguientes:

Varones: 30 - 70 mg/dl

Mujeres: 30 - 85 mg/dl

El panel de expertos del National Cholesterol Education Program (NCEP) provee los siguientes valores de HDL colesterol: 40 - 60 mg/dl

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia. No obstante, valores mayores de 40 mg/dl se consideran recomendables y los que se encuentren por encima de 60 mg/dl se han considerado como

protectivos. Por el contrario, valores de HDL colesterol por debajo de 40 mg/dl se consideran como índice significativo de riesgo de enfermedad cardíaca coronaria.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

No deben emplearse anticoagulantes que contengan citrato.

No exponer los reactivos a la luz.

Conservar los reactivos de acuerdo a las instrucciones.

En caso de muestras con concentraciones de triglicéridos mayores a 1200 mg/dl, diluir las mismas con solución fisiológica.

PERFORMANCE

a) Precisión: procesando simultáneamente replicados de una misma muestra en un mismo día se obtiene lo siguiente:

Nivel	D.S.	C.V.
32,9 mg/dl	± 0,6 mg/dl	1,9 %
50,7 mg/dl	± 0,9 mg/dl	1,7 %
101,3 mg/dl	± 1,5 mg/dl	1,5 %

Procesando la misma muestra en días diferentes, se obtuvo:

Nivel	D.S.	C.V.
32,8 mg/dl	± 0,8 mg/dl	2,4 %
50,0 mg/dl	± 1,2 mg/dl	2,5 %
100,1 mg/dl	± 2,3 mg/dl	2,3 %

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 200 mg/dl. Para valores superiores, diluir la muestra con solución fisiológica y multiplicar el resultado por el factor de dilución empleado.

c) Límite de cuantificación: la mínima concentración cuantificable de HDL colesterol es de 4 mg/dl.

d) Recuperación: agregando cantidades conocidas de HDL colesterol a distintos sueros, se obtuvo una recuperación entre 98,4 y 99,0%.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

PRESENTACION

- 80 ml (1 x 60 ml + 1 x 20 ml), con Calibrador (Cód. 1220223)

- 80 ml (1 x 60 ml + 1 x 20 ml), sin Calibrador (Cód. 1220224)

- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), con Calibrador (Cód. 1009328)

- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), con Calibrador (Cód. 1009280)

- 160 ml (2 x 60 ml + 2 x 20 ml), con Calibrador (Cód. 1009622)

BIBLIOGRAFIA

- Castelli, W. et al. - Circulation, 55:767 (1977).

- Gordon, T. et al. - Am. J. Med. 62:707 (1977).

- Warnick, G. - Clin. Chem. 41:10, 1427 (1995).

- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).

- Tietz N.W., Clinical Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunderson Co., Philadelphia, pag. 256, 1986.

- Westgard, J. et al. - Clin. Chem. 20:825 (1974).



HDL Colesterol

monofase AA plus

Método colorimétrico sem precipitação para a determinação de HDL-colesterol em soro ou plasma

SIGNIFICADO CLÍNICO

As lipoproteínas plasmáticas são partículas arredondas que contêm quantidades variáveis de colesterol, triglicerídeos, fosfolipídios e proteínas. Os fosfolipídios, o colesterol livre e as proteínas constituem a superfície externa da partícula lipoproteica, sendo que suas cores contêm em maior quantidades colesterol esterificado e triglicerídeos. Estas partículas solubilizam e transportam o colesterol na corrente sanguínea.

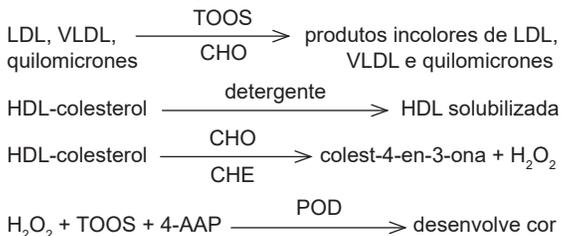
A proporção relativa de proteína e lipídios determina a densidade destas lipoproteínas e provêem as bases sobre as quais pode-se estabelecer uma classificação. A mesma pode ser: quilomicrons, lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL - Very Low Density Lipoproteins), lipoproteínas de baixa densidade (LDL - Low Density Lipoproteins) e lipoproteínas de alta densidade (HDL - High Density Lipoproteins). Diferentes estudos clínicos demonstraram que as variadas classes de lipoproteínas tem diferentes e variados efeitos no risco de doenças coronárias.

A função principal das HDL no metabolismo lipídeo é a captação e transporte de colesterol desde os tecidos periféricos ao fígado com um processo conhecido como transporte reverso do colesterol (mecanismos cardioprotetivo).

O HDL-colesterol baixo, associa-se com um alto risco de doença cardíaca. Porém, a determinação de HDL-colesterol é uma ferramenta útil na identificação de indivíduos de com alto risco.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

Este é um método homogêneo que utiliza dois reagentes. Durante a primeira etapa da reação é solubilizado e consumido o colesterol livre ou unido a proteínas distintas da HDL em uma reação que envolve à colesterol oxidase (CHO), peroxidase (POD) e N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-toluidina dissódica (TOOS), o que origina um produto sem cor. Em uma segunda etapa, as HDL são especificamente solubilizadas por um detergente. O HDL-colesterol é liberado para reagir com colesterol esterase (CHE), colesterol oxidase e TOOS, dando um produto colorido:



REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: solução de colesterol oxidase (< 1000 U/l), peroxidase (< 1300 U/l) e N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-toluidina dissódica (TOOS) (< 1 mM), em tampão de Good, com estabilizante e conservador apropriados.

B. Reagente B: solução de detergente (< 2%), colesterol esterase (< 1500 U/l) e 4-aminoantipirina (4-AAP) (< 1 mM), em tampão de Good, com estabilizante e conservador apropriados.

Calibrador*: soro humano liofilizado contendo lipoproteínas de diferentes tipos incluindo HDL. A concentração é variável de acordo com o lote (vide concentração no rótulo).

REAGENTES NÃO FORNECIDOS

Água destilada.

INSTRUÇÕES DE USO

Reagentes A e B: prontos para uso.

Calibrador: reconstituir com o volume de água destilada indicado no rótulo. Tampar o frasco e deixar em repouso durante 5 minutos. Ajudar à dissolver homogeneizando o frasco suavemente, evitando a formação de espuma. Não agitar.

PRECAUÇÕES

- Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".
- Não pipetar com a boca.
- O Calibrador foi examinado para HBsAg, HCV e anticorpos contra os vírus HIV 1/2 encontrando-se não reativo. O mesmo deve ser utilizado como se tratando de material infectante.
- Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.
- Todos os reagentes e as amostras devem ser descartados conforme à regulação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Os Reagentes Fornecidos são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem. Uma vez utilizados os reagentes são estáveis durante 3 semanas sob refrigeração (2-10°C). Uma vez reconstituído, o Calibrador é estável 1 semana sob refrigeração (2-10°C) ou 1 mês congelado (-20°C). Não congelar e descongelar repetidamente.

AMOSTRA

Soro ou plasma

a) Coleta: obter a amostra da maneira habitual.

* Não fornecido em algumas apresentações

b) Aditivos: heparina ou EDTA quando for utilizado plasma como amostra.

c) Substâncias interferentes conhecidas: não se observam interferências por ácido ascórbico até 100 mg/dl, hemoglobina até 1000 mg/dl, bilirrubina até 60 mg/dl, nem triglicerídeos até 1200 mg/dl. (Vide LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO). Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas e doenças neste método.

c) Estabilidade e instruções de armazenamento: centrifugar e separar o soro do coágulo dentro das 3 horas após a coleta. Se não processar na hora, as amostras podem-se conservar durante 1 semana sob refrigeração (2-10°C).

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Material volumétrico para medir os volumes indicados.
- Analisador automático.

PROCEDIMENTO

(analisador automático)

A seguir, detalha-se um procedimento geral para **HDL Colesterol monofase AA plus** em um analisador automático. Quando seja utilizada a técnica para um analisador em particular deve seguir as instruções de trabalho do mesmo.

Amostra ou Calibrador	3 ul
------------------------------	------

Reagente A	300 ul
-------------------	--------

Incubação durante 5 minutos a 37°C. Leitura de absorbância a 600/700 nm (Branco de Amostra).

Reagente B	100 ul
-------------------	--------

Incubação durante 5 minutos a 37°C. Leitura do resultado a 600/700 nm (concentração de HDL-colesterol).

CALIBRAÇÃO

O Calibrador deve processar-se junto com as amostras e da mesma maneira que estas. As concentrações do Calibrador encontram-se em volta dos níveis do critério médico e são variáveis lote a lote (vide concentração no rótulo). Ingressar o valor de concentração do calibrador cada vez que se mude o lote.

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Standatrol S-E 2 níveis**) com concentrações conhecidas de HDL colesterol, com cada determinação.

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores esperados de HDL colesterol são os seguintes:

Homens: 30 - 70 mg/dl

Mulheres: 30 - 85 mg/dl

O painel de expertos do National Cholesterol Education Program (NCEP) fornece os seguintes valores de HDL colesterol: 40-60 mg/dl

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência. No entanto, valores maiores de 40 mg/dl consideram-se recomendáveis e os que

encontram-se acima de 60 mg/dl foram considerados de proteção. Porém, valores de HDL colesterol por baixo de 40 mg/dl consideram-se como índice significativo de risco de doença cardíaca coronária.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Não devem utilizar-se anticoagulantes que contenham citrato. Não expor os reagentes à luz.

Conservar os reagentes conforme às instruções.

No caso de amostras com concentrações de triglicerídeos superiores a 1200 mg/dl, diluir as mesmas com solução fisiológica.

PERFORMANCE

a) Reprodutibilidade: processando simultaneamente replicados de uma mesma amostra em um mesmo dia, obteve-se:

Nível	D.P.	C.V.
32,9 mg/dl	± 0,6 mg/dl	1,9 %
50,7 mg/dl	± 0,9 mg/dl	1,7 %
101,3 mg/dl	± 1,5 mg/dl	1,5 %

Processando a mesma amostra em dias diferentes, obteve-se:

Nível	D.P.	C.V.
32,8 mg/dl	± 0,8 mg/dl	2,4 %
50,0 mg/dl	± 1,2 mg/dl	2,5 %
100,1 mg/dl	± 2,3 mg/dl	2,3 %

b) Linearidade: a reação é linear até 200 mg/dl. Para valores superiores, diluir a amostra com solução fisiológica e multiplicar o resultado pelo fator de diluição utilizado.

c) Limite de detecção: a mínima concentração quantificável de HDL colesterol é 4 mg/dl.

d) Recuperação: acrescentando quantidades conhecidas de HDL colesterol a distintos soros, obteve-se uma recuperação entre 98,4 e 99,0%.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para as instruções de programação deve-se consultar o manual de uso do analisador.

APRESENTAÇÃO

- 80 ml (1 x 60 ml + 1 x 20 ml), com Calibrador (Cód. 1220223)

- 80 ml (1 x 60 ml + 1 x 20 ml), sem Calibrador (Cód. 1220224)

- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), com Calibrador (Cód. 1009328)

- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), com Calibrador (Cód. 1009280)

- 160 ml (2 x 60 ml + 2 x 20 ml), com Calibrador (Cód. 1009622)

REFERÊNCIA

- Castelli, W. et al. - Circulation, 55:767 (1977).

- Gordon, T. et al. - Am. J. Med. 62:707 (1977).

- Warnick, G. - Clin. Chem. 41:10, 1427 (1995).

- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).

- Tietz N.W., Clinical Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunder Co., Philadelphia, pag. 256, 1986.

- Westgard, J. et al. - Clin. Chem. 20:825 (1974).



HDL Cholesterol

monofase AA plus

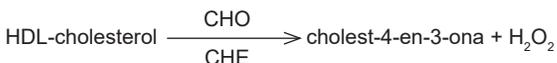
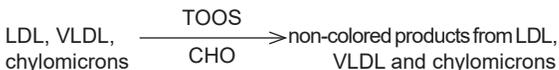
Colorimetric method without precipitation for the determination of HDL-cholesterol in serum or plasma

SUMMARY

Plasma lipoproteins are spherical particles containing varying amounts of cholesterol, triglycerides, phospholipids and proteins. Phospholipids, free cholesterol and proteins constitute the outer surface of the lipoprotein particle, while the inner core contains mostly esterified cholesterol and triglycerides. These particles solubilize and transport cholesterol into the bloodstream. The relative proportion of protein and lipid determines the density of these lipoproteins and provides the basis to establish a classification. The classes are: chylomicron, very-low-density lipoproteins (VLDL), low-density lipoproteins (LDL) and high-density lipoproteins (HDL). Numerous clinical studies have shown that the different lipoprotein classes have very distinct and varied effects on coronary heart disease risk. The main role of HDL in lipid metabolism is the uptake and transport of cholesterol from peripheral tissues to the liver through a process known as reverse cholesterol transport (cardioprotective mechanism). Low HDL-cholesterol levels are associated with an increased risk of coronary heart disease. Hence, the determination of serum HDL-cholesterol is a useful tool for identifying high-risk patients.

PRINCIPLE

The present is a homogeneous method using two reagents. During the first reaction stage, free cholesterol or cholesterol bound to proteins different from HDL is solubilized and consumed in a reaction involving cholesterol oxidase (CHO), peroxidase (POD) and N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulphopropyl)-3-dissodium toluidine (TOOS) yielding a non-colored product. During a second stage, a surfactant specifically solubilizes HDL. The HDL-cholesterol is released to react with cholesterol esterase (CHE), cholesterol oxidase and TOOS, yielding a colored product:



PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: cholesterol oxidase solution (< 1000 U/l), peroxidase (< 1300 U/l) and N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulphopropyl)-3-dissodium toluidine (TOOS) (< 1 mM) in

Good buffer with appropriate stabilizing agent and preservative.

B. Reagent B: surfactant solution (< 2%), cholesterol esterase (< 1500 U/l) and 4-aminoantipyrine (4-AAP) (< 1 mM) in Good buffer, with appropriate stabilizing agent and preservative.

Calibrator*: lyophilized human serum containing different types of lipoproteins including HDL. Concentration varies batch to batch (see titer on label).

NON-PROVIDED REAGENTS

Distilled water.

INSTRUCTIONS FOR USE

Reagents A and B: ready to use.

Calibrator: reconstitute with the volume of distilled water indicated on the label. Cap the vial and let stand for 5 minutes. Help dissolution by gently rotating the vial, avoiding foam formation. Do not shake.

WARNINGS

- Reagents are for "in vitro" diagnostic use.
- Do not pipette by mouth.
- The Calibrator has been tested and found non-reactive for HBsAg, HCV and antibodies against HIV 1/2. Nevertheless, they should be treated as if capable of transmitting infection.
- Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.
- The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents are stable in refrigerator (2-10°C) until the expiration date shown on the box. Do not freeze.

Once opened, reagents are stable for 3 weeks in refrigerator (2-10°C).

Once reconstituted, the Calibrator stable for 1 week in refrigerator (2-10°C) or for 1 month frozen (-20°C), avoiding repeated freezing and thawing.

SAMPLE

Serum or plasma

a) Collection: obtain sample in the usual way.

b) Additives: use heparin or EDTA when plasma is used as sample.

c) Known interfering substances: no interferences have been observed from ascorbic acid up to 100 mg/dl, hemoglobin up to 1000 mg/dl, bilirubin up to 60 mg/dl and triglycerides up to 1200 mg/dl (see PROCEDURE LIMITATIONS).

Refer to Young, D.S. in References for drugs' effect on the present method.

d) Stability and storage instructions: centrifuge and separate serum from clot within 3 hours of extraction. If samples are not processed immediately they can be stored for 1 week in refrigerator (2-10°C).

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Volumetric material appropriate for measuring stated volumes.
- Autoanalyzer.

PROCEDURE

(autoanalyzers)

Below is a general example of the **HDL Cholesterol monofase AA plus** test procedure for an autoanalyzer. Whenever a technique for a particular analyzer is performed, follow its working instructions.

Sample or Calibrator	3 ul
-----------------------------	------

Reagent A	300 ul
------------------	--------

Incubate for 5 minutes at 37°C. Read absorbance at 600/700 nm (Sample Blank).

Reagent B	100 ul
------------------	--------

Incubate for 5 minutes at 37°C. Read result at 600/700 nm (HDL-cholesterol concentration).

CALIBRATION

The Calibrator should be processed together with and in the same way as the samples. Calibrator concentrations are close to medical decision levels and vary from batch to batch (see titer on label). Enter the calibrator's concentration value every time that a batch is replaced.

QUALITY CONTROL METHOD

Each time the test is run, analyze two levels of a quality control material (**Standatrol S-E 2 niveles**) with known LDL cholesterol concentration.

REFERENCE VALUES

Expected HDL cholesterol values are the following:

Men: 30 - 70 mg/dl

Women: 30 - 85 mg/dl

The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel provided the following references values:

40 - 60 mg/dl

It is recommended that each laboratory establish its own reference values. However, values over 40 mg/dl are recommended. Values over 60 mg/dl have been regarded as protective. On the contrary, HDL-cholesterol values below 40 mg/dl are considered as an indicator of coronary heart disease risk.

PROCEDURE LIMITATIONS

Anticoagulants containing citrate should not be used. Protect

the reagents from direct sunlight. Store reagents according to the instructions. In case of using samples with triglycerides concentration over 1200 mg/dl, dilute the sample with saline solution.

PERFORMANCE

a) Precision: simultaneously processing replicates of the same sample on the same day, the following values are obtained:

Level	S.D.	C.V.
32.9 mg/dl	± 0.6 mg/dl	1.9 %
50.7 mg/dl	± 0.9 mg/dl	1.7 %
101.3 mg/dl	± 1.5 mg/dl	1.5 %

Processing the same sample on different days, the following values are obtained:

Level	S.D.	C.V.
32.8 mg/dl	± 0.8 mg/dl	2.4 %
50.0 mg/dl	± 1.2 mg/dl	2.5 %
100.1 mg/dl	± 2.3 mg/dl	2.3 %

b) Linearity: reaction is linear up to 200 mg/dl. For higher values dilute the sample with saline solution and multiply the result by the dilution factor used.

c) Detection limit: the minimum measurable HDL cholesterol concentration is 4 mg/dl.

d) Recovery: by adding known amounts of HDL cholesterol to different sera, it was observed that recovery ranged between 98.4 and 99.0%.

PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

For programming instructions check the user manual of the autoanalyzer in use.

WIENER LAB. PROVIDES

- 80 ml (1 x 60 ml + 1 x 20 ml), with Calibrator (Cat. 1220223)
- 80 ml (1 x 60 ml + 1 x 20 ml), without Calibr. (Cat. 1220224)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), with Calibrator (Cat. 1009328)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), with Calibrator (Cat. 1009280)
- 160 ml (2 x 60 ml + 2 x 20 ml), with Calibrator (Cat. 1009622)

REFERENCES

- Castelli, W. et al. - Circulation, 55:767 (1977).
- Gordon, T. et al. - Am. J. Med. 62:707 (1977).
- Warnick, G. - Clin. Chem. 41:10, 1427 (1995).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).
- Tietz N.W., Clinical Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunder Co., Philadelphia, pag. 256, 1986.
- Westgard, J. et al. - Clin. Chem. 20:825 (1974).



Nr kat. 1220223
Nr kat. 1220224
Nr kat. 1009280
Nr kat. 1009328
Nr kat. 1009622



HDL Cholesterol

monofase AA plus

Kolorymetryczna metoda bezstrąceniowa do oznaczania cholesterolu HDL w surowicy krwi lub osoczu

WSTĘP

Lipoproteiny osocza to kuliste cząsteczki zawierające różne ilości cholesterolu, trójglicerydów, fosfolipidów i białek. Fosfolipidy, wolny cholesterol i białka tworzą zewnętrzną powierzchnię cząsteczki lipoprotein, natomiast wewnętrzny rdzeń składa się głównie z estryfikowanego cholesterolu z trójglicerydami. Cząsteczki te rozpuszczają i transportują cholesterol do strumienia krwi. Odpowiedni stosunek białek i tłuszczów odpowiedzialny jest za gęstość lipoprotein i jest podstawą do ich klasyfikacji na: chylomikrony, lipoproteiny o bardzo niskiej gęstości (very-low-density lipoproteins VLDL), o niskiej gęstości (low-density lipoproteins LDL) oraz o wysokiej gęstości (high-density lipoproteins HDL). Wiele klinicznych badań wykazało, że różne klasy lipoprotein mają znaczący i różnicowany wpływ na ryzyko choroby niedokrwiennej serca.

Główną rolą HDL w metabolizmie tłuszczów jest wychwyt i transport cholesterolu z tkanek obwodowych do wątroby w tzw. procesie transportu zwrotnego cholesterolu (mechanizm kardioprotekcyjny). Niski poziom cholesterolu HDL jest związany ze zwiększonym ryzykiem choroby niedokrwiennej serca. Dlatego oznaczenie poziomu cholesterolu HDL w surowicy krwi jest użytecznym narzędziem w rozpoznawaniu grup pacjentów wysokiego ryzyka.

ZASADA DZIAŁANIA

Opisywana metoda homogenna oparta jest na dwóch odczynnikach. W trakcie reakcji pierwszego etapu cholesterol lub cholesterol związany z proteinami odmiennymi od HDL jest rozpuszczany i zużywany w reakcji przy udziale oksydazy cholesterolu (cholesterol oxidase, CHO), peroksydazy (POD) oraz TOOS (N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulphopropyl)-3-dissodium toluidine) tworząc produkt bezbarwny.

W trakcie drugiego etapu surfaktant rozpuszcza specyficznie HDL. HDL-cholesterol jest uwalniany do reakcji z esterazą cholesterolu (cholesterol esterase, CHE), oksydazą cholesterolu i TOOS, dając barwny produkt reakcji:

LDL, VLDL, chylomikrony $\xrightarrow[\text{CHO}]{\text{TOOS}}$ bezbarwny produkt z LDL, VLDL i chylomikronów

HDL-cholesterol $\xrightarrow{\text{surfaktant}}$ rozpuszczalny HDL

HDL-cholesterol $\xrightarrow[\text{CHE}]{\text{CHO}}$ cholest-4-en-3-ona + H₂O₂

H₂O₂ + TOOS + 4-AAP $\xrightarrow{\text{POD}}$ pojawienie się barwy

DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: roztwór oksydazy cholesterolu (< 1000 U/l), peroksydazy (< 1300 U/l) oraz TOOS (N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulphopropyl)-3-dissodium toluidine) (< 1 mM) w buforze Gooda z niezbędnymi substancjami konserwującymi i utrwalającymi.

B. Odczynnik B: roztwór surfaktantu (< 2%), esteraza cholesterolu (< 1500 U/l) oraz 4-aminoantypiryna (4-AAP) (< 1 mM) w roztworze Gooda z niezbędnymi substancjami konserwującymi i utrwalającymi.

Kalibrator*: liofilizowana ludzka surowica zawierająca różne klasy lipoprotein włącznie z HDL. Stężenie różni się w zależności od serii (patrz miano na etykiecie).

NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

Woda destylowana.

INSTRUKCJA UŻYCIA

Odczynniki A i B: gotowe do użycia.

Kalibrator: rozpuścić dodając podaną na etykiecie objętość wody destylowanej. Zamknąć fiolkę i odstawić na 5 minut. Pomocne w rozpuszczeniu jest delikatne obracanie fiolką, unikać spienienia. Nie wstrząsać.

OSTRZEŻENIA

- Odczynniki diagnostyczne do zastosowania "in vitro".
- Nie wkładać pipety do ust.
- Kalibratory zostały przygotowane z materiału nie reagującego na HBsAg, HCV oraz HIV. Jakkolwiek powinny być traktowane jako materiał potencjalnie zakaźny.
- Stosuj odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych.
- Odczynniki i materiał badany powinni być odrzucone zgodnie z lokalnymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczane odczynniki są trwałe w lodówce (2-10°C) do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu. Nie zamrażać.

Po otwarciu odczynniki są trwałe przez 3 tygodnie w lodówce (2-10°C).

Po rozpuszczeniu kalibrator jest trwały przez 1 tydzień w lodówce (2-10°C) lub przez 1 miesiąc zamrożony (-20°C), unikać powtórnego zamrażania i rozmrażania.

MATERIAŁ BADANY

Surowica krwi lub osocze

a) Pobranie: pobrać materiał w klasyczny sposób.

b) Substancje dodatkowe: kiedy osocze jest materiałem

badanym stosować heparynę lub EDTA.

c) Znane interakcje: nie obserwowano żadnych interakcji z kwasem askorbinowym do poziomu 100 mg/dl, hemoglobina do 1000 mg/dl, bilirubiną do 60 mg/dl oraz trójglicerydami do 1200 mg/dl (patrz OGRANICZENIA PROCEDURY). Zobacz źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie.

d) Trwałość i instrukcja przechowywania: odwirować i oddzielić surowicę od skrzepu w ciągu 3 godzin od pobrania. Jeżeli materiał nie może zostać od razu poddany analizie może być przechowywany przez 1 tydzień w lodówce (2-10°C).

WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczane)

- Sprzęt do pomiaru objętości.
- Analizator automatyczny.

PROCEDURA

(analizatory automatyczne)

Poniżej podano przykład procedury dla HDL Cholesterol monofaze AA plus przy zastosowaniu analizatora automatycznego.

Za każdym razem gdy badanie jest przeprowadzone na analizatorze należy zapoznać się z podstępowaniem dla danego urządzenia.

Materiał badany lub Kalibrator	3 ul
---------------------------------------	------

Odczynnik A	300 ul
--------------------	--------

Inkubować przez 5 minut w temp. 37°C. Odczytać absorbancję przy absorbancji 600/700 nm (Ślepa próba materiału badanego).

Odczynnik B	100 ul
--------------------	--------

Inkubować przez 5 minut w temp. 37°C. Odczytać wynik przy długości fali 600/700 nm (stężenie cholesterolu HDL).

KALIBRACJA

Kalibrator należy poddać takiej samej procedurze jak materiał badany. Stężenia kalibratora są zależne od serii i bliskie poziomom zalecanym (patrz wartość na etykiecie). Wprowadzić wartość kalibratora za każdym razem przy zmianie serii.

METODA KONTROLI JAKOŚCI

W trakcie przeprowadzania badania za każdym razem należy przeprowadzać analizę jakości na dwóch poziomach (**Standatrol S-E 2 niveles**) ze znanym stężeniem cholesterolu HDL.

WARTOŚCI REFERENCYJNE

Oczekiwany zakres cholesterolu HDL:

Mężczyźni: 30 - 70 mg/dl

Kobiety: 30 - 85 mg/dl

Zespół Ekspertów National Cholesterol Education Program (NCEP) rekomenduje następujące wartości:

40 - 60 mg/dl

Zaleca się dla każdego laboratorium określenie własnych wartości referencyjnych. Jakkolwiek zaleca się wartości

powyżej 40 mg/dl. Wartości powyżej 60 mg/dl uznawane są za kardioprotekcyjne. Z drugiej strony wartości cholesterolu HDL poniżej 40 mg/dl rozważane są jako wskaźnik ryzyka choroby niedokrwiennej serca.

OGRANICZENIA PROCEDURY

Antykoagulant zawierający cytrynian nie powinien być stosowany. Chronić odczynnik przed bezpośrednim wpływem światła słonecznego. Przechowywać odczynnik zgodnie z instrukcją. W przypadku użycia materiału badanego ze stężeniem trójglicerydów powyżej 1200 mg/dl, należy rozcieńczyć materiał badany solą fizjologiczną.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) Precyzja: równocześnie badanie tej samej próbki powtórzone tego samego dnia i otrzymano następujące wyniki:

Poziom	S.D.	C.V.
32,9 mg/dl	± 0,6 mg/dl	1,9 %
50,7 mg/dl	± 0,9 mg/dl	1,7 %
101,3 mg/dl	± 1,5 mg/dl	1,5 %

Badanie tego samego materiału w różnych dniach przyniosło następujące wartości:

Poziom	S.D.	C.V.
32,8 mg/dl	± 0,8 mg/dl	2,4 %
50,0 mg/dl	± 1,2 mg/dl	2,5 %
100,1 mg/dl	± 2,3 mg/dl	2,3 %

b) Linijność: reakcja jest liniowa do 200 mg/dl. Dla wyższych wartości rozcieńczyć materiał badany solą fizjologiczną i pomnożyć wyniki przez współczynnik rozcieńczenia.

c) Zakres oznaczalności: najniższy wymierny stężenie HDL cholesterolu wynosi 4 mg/dl.

d) Ograniczenie ilościowe metody: poprzez dodanie znanych ilości HDL do różnych próbek otrzymano odzysk pomiędzy 98.4% a 99,0%.

WIENER LAB. DOSTARCZA

- 80 ml (1 x 60 ml + 1 x 20 ml), z Kalibratorem (Nr kat. 1220223)
- 80 ml (1 x 60 ml + 1 x 20 ml), bez kalibratora (Nr kat. 1220224)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), z Kalibratorem (Nr kat. 1009328)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), z Kalibratorem (Nr kat. 1009280)
- 160 ml (2 x 60 ml + 2 x 20 ml), z Kalibratorem (Nr kat. 1009622)

ŹRÓDŁA

- Castelli, W. et al. - Circulation, 55:767 (1977).
- Gordon, T. et al. - Am. J. Med. 62:707 (1977).
- Warnick, G. - Clin. Chem. 41:10, 1427 (1995).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCC Press, 4th ed., 2001.
- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).
- Tietz N.W., Clinical Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunderson Co., Philadelphia, pag. 256, 1986.
- Westgard, J. et al. - Clin. Chem. 20:825 (1974).

SÍMBOLOS // SÍMBOLOS // SYMBOLS // OZNACZENIA

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits. // Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"// Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"// This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices// Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea// Representante autorizado na Comunidade Europeia// Authorized representative in the European Community// Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Uso diagnóstico "in vitro"// Uso médico-diagnóstico "in vitro"// "In vitro" diagnostic medical device// Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos// Conteúdo suficiente para <n> testes// Contains sufficient for <n> tests// Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Fecha de caducidad// Data de validade// Use by// Użyć przed

 Límite de temperatura (conservar a)// Limite de temperatura (conservar a)// Temperature limitation (store at)// Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 No congelar// Não congelar// Do not freeze// Nie zamrażać

 Riesgo biológico// Risco biológico// Biological risks// Ryzyko biologiczne

 Volumen después de la reconstitución// Volume após a reconstituição// Volume after reconstitution// Objętość po rozpuszczeniu

 Contenido// Conteúdo// Contents// Zawartość

 Número de lote// Número de lote// Batch code// numer serii

 Elaborado por:// Elaborado por:// Manufactured by:// Wytwórca

 Nocivo// Nocivo// Harmful// Substancja szkodliwa

 Corrosivo / Cástico // Corrosivo / Cástico // Corrosive / Caustic// Substancja żrąca

 Irritante// Irritante// Irritant// Substancja drażniąca

 Consultar instrucciones de uso// Consultar as instruções de uso// Consult instructions for use// Przed użyciem zapoznać się z instrukcją

 Calibrador// Calibrador// Calibrator// Kalibrator

 Control// Controle// Control// Próba kontrolna

 Control Positivo// Controle Positivo// Positive Control// Próba kontrolna dodatnia

 Control Negativo// Controle Negativo// Negative Control// Próba kontrolna ujemna

 Número de catálogo// Número de catálogo// Catalog number// Numer katalogowy

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. N°: 4980/04
Lic N°: PCT/JP00/03860 -
PCT/JP97/04442

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina