



HDL Cholesterol

fast

Método colorimétrico homogéneo 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 birreactivo homogéneo para la determinación de HDL-colesterol. En la primera etapa de la reacción se solubiliza y consume el colesterol libre asociado a proteínas distintas de HDL, en una reacción que involucra a colesterol oxidasa (CHO) y catalasa (CAT), dando lugar a un producto no coloreado. En una segunda etapa, un agente específico (azida) bloquea la acción de CAT y un detergente solubiliza específicamente las HDL. El HDL-colesterol es así liberado para reaccionar con colesterol esterasa (CHE), CHO, 4-AAP (4-amino antipirina) y N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-toluidina disódica (TOOS), dando un producto coloreado que se lee a 540-600 nm.

LDL, VLDL, quilomicrones $\xrightarrow[\text{CAT}]{\text{CHO}}$ productos incoloros de LDL, VLDL y quilomicrones

HDL-colesterol $\xrightarrow{\text{detergente}}$ HDL-colesterol solubilizada

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

H₂O₂ + TOOS + 4-AAP $\xrightarrow{\text{POD}}$ desarrollo de color

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de colesterol oxidasa (< 3000 U/l), peroxidasa (< 5000 U/l), catalasa (< 3000 U/l) y N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-toluidina disódica (TOOS) (< 1 mM), en buffer de Good, con estabilizante y conservante apropiados.

B. Reactivo B: solución de detergente (< 2%), colesterol esterasa (< 3000 U/l) y 4-aminoantipirina (4-AAP) (< 1 mM), en buffer de Good, con azida sódica (0.9 g/l) y estabilizante apropiado.

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.
- **HDL Cholesterol Calibrator** (para las presentaciones que no proveen Calibrador).

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 infeccioso.
- 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 24 mg/dl, hemoglobina hasta 1000 mg/dl, bilirrubina hasta 80 mg/dl, ni triglicéridos hasta 3000 mg/dl (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO).

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

d) 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 Cholesterol fast** 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 540-600 nm (Blanco de Muestra).

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

Incubación 5 minutos a 37°C. Lectura del resultado a 540-600 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 encuentran 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 3000 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.
24,1 mg/dl	± 0,20 mg/dl	0,8%
50,9 mg/dl	± 0,34 mg/dl	0,7%
75,9 mg/dl	± 0,93 mg/dl	1,2%

Procesando la misma muestra en días diferentes, se obtuvo:

Nivel	D.S.	C.V.
24,1 mg/dl	± 0,49 mg/dl	2,0%
50,9 mg/dl	± 0,45 mg/dl	0,9%
75,9 mg/dl	± 1,84 mg/dl	2,3%

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 150 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

40 ml: - 1 x 30 ml Reactivo A

- 1 x 10 ml Reactivo B

(Cód. 1220229)

72 ml: - 2 x 27 ml Reactivo A
- 2 x 9 ml Reactivo B
- 1 x 1 ml Calibrador
(Cód. 1009804)*

80 ml: - 1 x 60 ml Reactivo A
- 1 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1220233)

160 ml: - 2 x 60 ml Reactivo A
- 2 x 20 ml Reactivo B
- 1 x 1 ml Calibrador
(Cód. 1009691)

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", AACCPress, 3rd ed., 1990.
- 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).
- CLSI. User verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline-second Edition. CLSI document EP15-A2 [ISBN 1-56238-574-7]. CLSI, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
- CLSI. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP6-A [ISBN 1-56238-498-8]. CLSI, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2003.
- CLSI. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline—Second Edition (Interim Revision). CLSI document EP09-A2-IR. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
- Glick, M.R., K.W. Ryder, and S.A. Jackson, Graphical comparisons of interferences in clinical chemistry instrumentation. Clin Chem, 1986. 32(3): p. 470-475.

SÍMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

	Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Uso diagnóstico "in vitro"
	Contenido suficiente para <n> ensayos
	Fecha de caducidad
	Límite de temperatura (conservar a)
	No congelar
	Riesgo biológico
	Volumen después de la reconstitución
	Contenido
	Número de lote
	Elaborado por:
	Nocivo
	Corrosivo / Cáustico
	Irritante
	Consultar instrucciones de uso
	Calibrador
	Control
	Control Positivo
	Control Negativo
	Número de catálogo



HDL Cholesterol

fast

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

SIGNIFICADO CLÍNICO

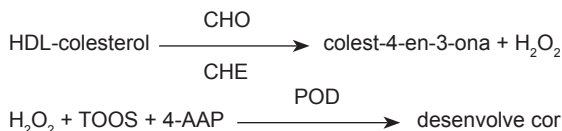
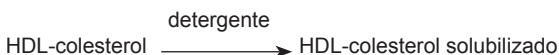
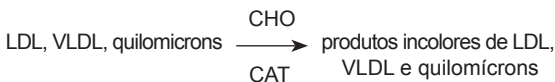
As lipoproteínas plasmáticas são partículas arredondas que contêm quantidades variáveis de colesterol, triglicerídeos, fosfolípidios e proteínas. Os fosfolípidios, o colesterol livre e as proteínas constituem a superfície externa da partícula lipoproteica, sendo que suas cores contêm em maior quantidades 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 cardioprotetivos).

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 com alto risco.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

Este é um método bireagente homogêneo para a determinação de HDL-colesterol. Durante a primeira fase da reação é solubilizado e consumido o colesterol livre associado a proteínas distintas da HDL em uma reação que envolve a colesterol oxidase (CHO) e catalase (CAT), o que origina um produto sem cor. Em uma segunda fase, um agente específico (azida) bloqueia a ação da CAT e as HDL são especificamente solubilizadas por um detergente. O HDL-colesterol é liberado para reagir com colesterol esterase (CHE), CHO, 4-APP (4-aminoantipirina) e N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-toluidina dissódica (TOOS), dando um produto colorido que é lido a 540-600 nm.



REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: solução de colesterol oxidase (< 3000 U/l), peroxidase (< 5000 U/l), catalase (< 3000 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 (< 3000 U/l) e 4-aminoantipirina (4-AAP) (< 1 mM), em tampão de Good, com azida sódica (0,9 g/l) estabilizante apropriado.

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.
- **HDL Cholesterol Calibrador** (para as apresentações que não fornecem Calibrador)

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 contra 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.

* Não fornecido em algumas apresentações

Não congelar. 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.

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

c) Substâncias interferentes conhecidas: não se observam interferências por ácido ascórbico até 24 mg/dl, hemoglobina até 1000 mg/dl, bilirrubina até 80 mg/dl, nem triglicérides até 3000 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 Cholesterol fast** 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 540-600 nm (Branco de Amostra).

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

Incubação durante 5 minutos a 37°C. Leitura do resultado a 540-600 nm (concentração de HDL-colesterol).

CALIBRAÇÃO

O Calibrador deve se processar da mesma maneira que as amostras. 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 mudar 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 triglicérides superiores a 3000 mg/dl, diluir as mesmas com solução fisiológica.

PERFORMANCE

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

Nível	D.P.	C.V.
24,1 mg/dl	± 0,20 mg/dl	0,8%
50,9 mg/dl	± 0,34 mg/dl	0,7%
75,9 mg/dl	± 0,93 mg/dl	1,2%

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

Nível	D.S.	C.V.
24,1 mg/dl	± 0,49 mg/dl	2,0%
50,9 mg/dl	± 0,45 mg/dl	0,9%
75,9 mg/dl	± 1,84 mg/dl	2,3%

b) Linearidade: a reação é linear até 150 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

40 ml: - 1 x 30 ml Reagente A

- 1 x 10 ml Reagente B

(Cód. 1220229)

72 ml: - 2 x 27 ml Reagente A
- 2 x 9 ml Reagente B
- 1 x 1 ml Calibrador
(Cód. 1009804)*

80 ml: - 1 x 60 ml Reagente A
- 1 x 20 ml Reagente B
(Cód. 1220233)


160 ml: - 2 x 60 ml Reagente A
- 2 x 20 ml Reagente B
- 1 x 1 ml Calibrador
(Cód. 1009691)

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, 3rd ed., 1990.
- 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).

SÍMBOLOS

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.

 Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado na Comunidade Europeia

 Uso médico-diagnóstico "in vitro"

 Conteúdo suficiente para <n> testes

 Data de validade

 Limite de temperatura (conservar a)

 Não congelar

 Risco biológico

 Volume após a reconstituição

 Conteúdo


 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Caústico

 Irritante

 Consultar as instruções de uso

 Calibrador

 Controle

 Controle Positivo

 Controle Negativo

 Número de catálogo



HDL Cholesterol

fast

Homogeneous colorimetric method for HDL-cholesterol determination in serum or plasma

SUMMARY

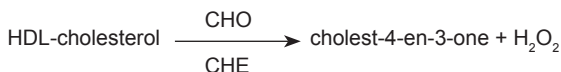
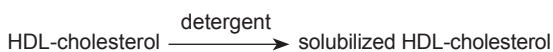
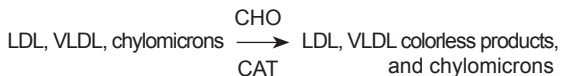
Plasma lipoproteins are spherical particles containing varying amounts of cholesterol, triglycerides, phospholipids and proteins. Phospholipids, free cholesterol and proteins constitute the outer surface of the lipoprotein particle, while the inner core contains mostly esterified cholesterol and triglycerides. 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 for HDL-cholesterol determination. 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) and catalase (CAT), yielding a non-colored product. During a second stage, a particular agent (azide) blocks CAT action and a detergent specifically solubilizes HDL. The HDL-cholesterol is released to react with cholesterol esterase (CHE), CHO, 4-AAP (4-aminoantipyrine) and N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3-toluidine disodium (TOOS), yielding a colored product, which may be read at 540-600 nm.



PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: cholesterol oxidase solution (< 3000 U/l), peroxidase (< 5000 U/l), catalase (< 3000 U/l) and N-ethyl-N-(2-hydroxy-3 sulfopropyl)-3-toluidine disodium (TOOS) (< 1 mM) in Good buffer with appropriate stabilizer and preservative.

B. Reagent B: detergent solution (< 2%), cholesterol esterase (< 3000 U/l) and 4-aminoantipyrine (4-AAP) (< 1 mM) in Good buffer with sodium azide (0.9 g/l) and appropriate stabilizer.

Calibrator*: lyophilized human serum containing various types of lipoproteins including HDL. The concentration varies from batch to batch (see title on the label).

NON-PROVIDED REAGENTS

- Distilled water.
- **HDL Cholesterol Calibrator** (for package sizes without Calibrator).

INSTRUCTIONS FOR USE

Reagents A and B: ready to use.

Calibrator: reconstitute with the volume of distilled water stated on the label. Replace the stopper and let stand for 5 minutes. Dissolve by gently rotating the vial avoiding foam formation. Do not shake.

WARNINGS

- The reagents are for "in vitro" diagnostic use.
- Do not pipette by mouth.
- The calibrator has been tested for HBsAg, HCV and antibodies to HIV 1/2, being nonreactive. However, it should be processed as if they were infectious material.
- Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.
- All reagents and samples should be discarded according to local regulations.

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

After reconstitution, the Calibrator is stable for 1 week in refrigerator (2-10°C) or for 1 month frozen (-20°C), avoiding thawing and refreezing.

SAMPLE

Serum or plasma

* Non-provided with some kit sizes

- a) Collection:** obtain the sample in the usual way.
- b) Additives:** heparin or EDTA when plasma is used as sample.
- c) Known interfering substances:** no interference is observed by ascorbic acid up to 24 mg/dl, hemoglobin up to 1000 mg/dl, bilirubin up to 8.0 mg/dl or triglycerides up to 3000 mg/dl (see PROCEDURE LIMITATIONS). Refer to the literature of Young for the effects of drugs on the present method.
- c) Stability and storage instructions:** centrifuge and separate the serum from the clot within 3 hours of extraction. If samples not processed immediately, they can be stored for 1 week in refrigerator (2-10°C).

MATERIAL REQUIRED (not provided)

- Volumetric material for measuring the stated volumes
- Autoanalyzer

PROCEDURE
(Automated analyzers)

A general procedure for **HDL Cholesterol fast** in an automatic analyzer is detailed. When the technique is implemented for a particular analyzer, follow its work instructions.

Sample or Calibrator	3 ul
Reagent A	300 ul

Incubate for 5 minutes at 37°C. Read the absorbance at 540-600 nm (Sample Blank).

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

Incubate for 5 minutes at 37°C. Read the result at 540-600 nm (HDL-cholesterol).

CALIBRATION

The Calibrator must be processed in the same manner as the samples. Calibrator concentrations are close to medical decision levels and vary batch to batch (see title on the label). Enter the concentration value of the calibrator each time a batch is changed.

QUALITY CONTROL METHOD

Process 2 levels of a quality control material (**Standatrol S-E 2 niveles**) with known concentrations of HDL-cholesterol, with each determination.

REFERENCE VALUES

The expected values of HDL-cholesterol are:
Men: 30-70 mg/dl
Women: 30-85 mg/dl

The expert panel of the National Cholesterol Education Program (NCEP) provides the following values of HDL cholesterol: 40 - 60 mg/dl

It is recommended that each laboratory establish its own reference values. However, values greater than 40 mg/dL are

considered desirable and those that are above 60 mg/dl were considered protective. By contrast, HDL-cholesterol values below 40 mg/dl are considered as significant risk of coronary heart disease.

PROCEDURE LIMITATIONS

Anticoagulants containing citrate should not be used. Do not expose reagents to light. Preserve the reagents according to the instructions. For samples with triglyceride levels above 3000 mg/dl, dilute with saline.

PERFORMANCE

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

Level	DS	CV
24.1 mg/dl	± 0.20 mg/dl	0.8%
50.9 mg/dl	± 0.34 mg/dl	0.7%
75.9 mg/dl	± 0.93 mg/dl	1.2%

Processing the same sample on different days the following values were obtained:

Level	DS	CV
24.1 mg/dl	± 0.49 mg/dl	2.0%
50.9 mg/dl	± 0.45 mg/dl	0.9%
75.9 mg/dl	± 1.84 mg/dl	2.3%

b) Linearity: the reaction is linear to 150 mg/dl. For higher values, dilute the sample with saline solution and multiply the result by the dilution factor used.

c) Quantification limit: the minimum quantifiable concentration of HDL-cholesterol is 4 mg/dl.

d) Recovery: adding known quantities of HDL-cholesterol to different sera, a recovery between 98.4 and 99.0% was obtained.

PARAMETERS FOR AUTOMATIC ANALYZERS

For programming instructions refer to the User Manual of the analyzer in use.

WIENER LAB. PROVIDES

40 ml: - 1 x 30 ml Reagent A
- 1 x 10 ml Reagent B
(Code 1220229)

72 ml: - 2 x 27 ml Reagent A
- 2 x 9 ml Reagent B
- 1 x 1 ml Calibrator
(Code 1009804)*

80 ml: - 1 x 60 ml Reagent A
- 1 x 20 ml Reagent B
(Code 1220233)

* CE mark pending


160 ml: - 2 x 60 ml Reagent A
 - 2 x 20 ml Reagent B
 - 1 x 1 ml Calibrator
 (Code 1009691)





















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, 3rd ed., 1990.
- 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).
- CLSI. User verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline—second Edition. CLSI document EP15-A2 [ISBN 1-56238-574-7]. CLSI, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
- CLSI. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP6-A [ISBN 1-56238-498-8]. CLSI, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2003.
- CLSI. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline—Second Edition (Interim Revision). CLSI document EP09-A2-IR. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
- Glick, M.R., K.W. Ryder, and S.A. Jackson, Graphical comparisons of interferences in clinical chemistry instrumentation. Clin Chem, 1986. 32(3): p. 470-475.

SYMBOLS

The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits.

 This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices

-  Authorized representative in the European Community
-  "In vitro" diagnostic medical device
-  Contains sufficient for <n> tests
-  Use by
-  Temperature limitation (store at)
-  Do not freeze
-  Biological risks
-  Volume after reconstitution
-  Contents
-  Batch code
-  Manufactured by:
-  Harmful
-  Corrosive / Caustic
-  Irritant
-  Consult instructions for use
-  Calibrator
-  Control
-  Positive Control
-  Negative Control
-  Catalog number



HDL Cholesterol

fast

Kolorymetryczna metoda homogenna do oznaczania cholesterolu HDL w surowicy krwi lub osocz

Nr kat. 1220229
Nr kat. 1220233
Nr kat. 1009691
Nr kat. 1009804

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.

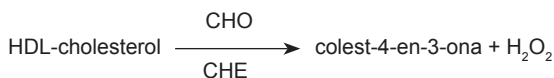
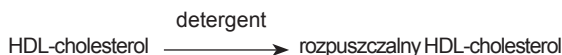
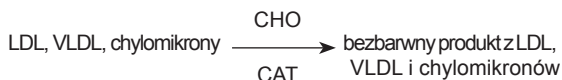
Odpowiedni stosunek białek i tłuszczów odpowiedzialny jest za gęstość lipoprotein i jest podstawą do ich klasyfikacji na: chylomikrony, lipoproteiny o bardzo niskiej gęstości (very-low-density lipoproteins VLDL), o niskiej gęstości (low-density lipoproteins LDL) oraz o wysokiej gęstości (high-density lipoproteins HDL). Wiele klinicznych badań wykazało, że różne klasy lipoprotein mają znaczący i zróżnicowany 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).

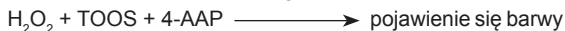
Niski poziom cholesterolu HDL jest związany ze zwiększonym ryzykiem choroby niedokrwiennej serca. Dlatego oznaczenie poziomu cholesterolu HDL w surowicy krwi jest użytecznym narzędziem w rozpoznawaniu grup pacjentów wysokiego ryzyka.

ZASADA DZIAŁANIA

Opisywana metoda do oznaczania cholesterolu HDL jest homogenna i oparta na dwóch odczynnikach. W trakcie pierwszego etapu cholesterol związany z proteinami odmiennymi od HDL, jest rozpuszczany i używany w reakcji przy udziale oksydazy cholesterolu (CHO) y katalazy (CAT), tworząc produkt bezbarwny. W trakcie drugiego etapu, specyficzny czynnik (azydek) blokuje działanie CAT detergent rozpuszcza specyficznie HDL. HDL-cholesterol jest uwalniany do reakcji z esterazą cholesterolu (CHE), oksydazą cholesterolu (CHO), 4-AAP i TOOS, dając barwny produkt reakcji, który mierzony jest przy długość fali 540-600 nm.



POD



DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: roztwór oksydazy cholesterolu (< 3000 U/l), peroksydazy (< 5000 U/l), katalazy (< 3000 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 detergentu (< 2%), esteraza cholesterolu (< 3000 U/l) oraz 4-aminoantypiryna (4-AAP) (< 1 mM), w buforze Gooda, z azydkiem sodowym (0.9 g/l) oraz z niezbędnymi substancjami utrwalającymi.

Kalibrator*: liofilizowana ludzka surowica zawierająca różne lipoproteiny, obejmując cholesterol HDL. Stężenie różni się w zależności od serii (patrz miano na etykiecie).

NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

- Woda destylowana.

- **HDL Cholesterol Calibrator** (W przypadku zestawów, które nie dostarczają kalibrator).

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 24 mg/dl, hemoglobina do 1000 mg/dl, bilirubiną do 80 mg/dl, oraz trójglicerydami do 3000 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 fast 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 długości fali 540-600 nm (Ślepa próba materiału badanego).

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

Inkubować przez 5 minut w temp. 37°C. Odczytać wynik przy długości fali 540-600 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 odczynniki przed bezpośrednim wpływem światła słonecznego.

Przechowywać odczynniki zgodnie z instrukcją.

W przypadku użycia materiału badanego ze stężeniem trójglicerydów powyżej 3000 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.
24,1 mg/dl	± 0,20 mg/dl	0,8%
50,9 mg/dl	± 0,34 mg/dl	0,7%
75,9 mg/dl	± 0,93 mg/dl	1,2%

Badanie tego samego materiału w różnych dniach przyniosło następujące wartości:

Poziom	S.D.	C.V.
24,1 mg/dl	± 0,49 mg/dl	2,0%
50,9 mg/dl	± 0,45 mg/dl	0,9%
75,9 mg/dl	± 1,84 mg/dl	2,3%

b) Linijność: reakcja jest liniowa do 150 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 i 99,0%.

PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Należy zapoznać się z instrukcją oprogramowania danego analizatora automatycznego.

WIENER LAB. DOSTARCZA

40 ml: - 1 x 30 ml odczynnik A
- 1 x 10 ml odczynnik B
(Nr kat. 1220229)

72 ml: - 2 x 27 ml Reagent A
- 2 x 9 ml Reagent B
- 1 x 1 ml Calibrator
(Code 1009804)

80 ml: - 1 x 60 ml odczynnik A
- 1 x 20 ml odczynnik B
(Nr kat. 1220233)





















160 ml: - 2 x 60 ml odczynnik A
- 2 x 20 ml odczynnik B
- 1 x → 1 ml Kalibrator
(Nr kat. 1009691)


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", AACC Press, 3rd ed., 1990.
- 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).
- CLSI. User verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline-second Edition. CLSI document EP15-A2 [ISBN 1-56238-574-7]. CLSI, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
- CLSI. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP6-A [ISBN 1-56238-498-8]. CLSI, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2003.
- CLSI. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline—Second Edition (Interim Revision). CLSI document EP09-A2-IR. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
- Glick, M.R., K.W. Ryder, and S.A. Jackson, Graphical comparisons of interferences in clinical chemistry instrumentation. Clin Chem, 1986. 32(3): p. 470-475.

Oznaczenia

Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.

-  Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"
-  Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej
-  Wyrób do diagnostyki "in vitro"
-  Zawartość wystarczająca dla <n> badań
-  Użyć przed
-  Ograniczenie dopuszczalnych temperatur
-  Nie zamrażać
-  Ryzyko biologiczne
-  Objętość po rozpuszczeniu
-  Zawartość
-  numer serii
-  Wytwórca
-  Substancja szkodliwa
-  Substancja żrące
-  Substancja drażniąca
-  Przed użyciem zapoznać się z instrukcją
-  Kalibrator
-  Próba kontrolna
-  Próba kontrolna dodatnia
-  Próba kontrolna ujemna
-  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.
PM-1102-115

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina