

HDL-CHOLESTEROL

DIRECT

Enzymatic colorimetric method

FIXED TIME

REF KR10242 5 x 40 mL CONTENTS R1.Reagent 5 x 30 mL R2.Reagent 5 x 10 mL	REF KR10245 11 x 40 mL CONTENTS R1.Reagent 11 x 30 mL R2.Reagent 11 x 10 mL
For <i>in vitro</i> diagnostic use only	

SUMMARY

This direct method^{1,2} for quantifying cholesterol in high-density lipoproteins (HDL) is a homogeneous enzymatic test in which the differential precipitation and further sedimentation of the rest of lipoproteins and quilomicrons is avoided.

The procedure comprises two steps. In the first step cholesterol in lipoproteins other than HDL in the test sample are decomposed by the simultaneous action of cholesterol esterase (CE) and cholesterol oxidase (CO) at pH 7.0, giving as end products cholestenone and hydrogen peroxide, the latter being decomposed to water and oxygen by catalase.

In the second step a surfactant which specifically acts on HDL is added to the reaction product of the first step being the remaining cholesterol quantified by a Trinder's type reaction in which the aniline derivate, HDAOS*, and 4-aminoantipyrine (4-AA) as a coupling reagent are condensed by the H₂O₂ in presence of peroxidase (POD) to form a red quinoneimine dye proportional to the concentration of HDL-cholesterol present in the sample.

* *N*-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyaniline

REAGENTS

R1. Enzyme. GOOD's buffer 100 mmol/L pH 7.0, MgCl₂ 18 mmol/L, CE 800 U/L, CO 500 U/L, catalase 100 KU/L, HDAOS 0.7 mmol/L.

R2. POD/4-AA reagent. POD 4 KU/L, 4-AA 4 mmol/L, N₃Na < 0.1%, specific surfactants < 1.5 % (v/v).

PREPARATION

The Reagents are ready-to-use.

STORAGE AND STABILITY

Store at 2-8°C. The Reagents are stable until the expiry date stated on the label. After daily use stored tightly closed and protected from light. On board the reagents are stable 30 days. Discard if appear signs of deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 600 nm < 0.080 in 1cm cuvette.

SAMPLE COLLECTION

Serum, EDTA or heparinized plasma obtained by the patient after an overnight fast. Remove from cells within 3 hours of venipuncture. Samples may be kept at 4-8°C for 2 weeks or at -20°C for 3 months.

INTERFERENCES

- Lipemia (Triglycerides < 12 g/L) does not interfere.
- Bilirubin (< 30 mg/dL) does not interfere.
- Hemoglobin (< 5 mg/dL) does not interfere.
- Ascorbate (< 50 mg/dL) does not interfere.
- Other drugs and substances may interfere⁶⁻⁷.

INSTRUMENTATION AND MATERIALS

- KROMA analyzer.
- Laboratory equipment.
- iso-Clean Solution. Ref. CT18002.
- Multicalibrator CC/H 10x3 mL Ref. CT19750

AUTOMATED PROCEDURE

A graphic display pictures the specific sets corresponding to the technical application outlined for this test. Any new application, to the instrument should be validated to confirm that results meet the analytical performance of the method. It is recommended to validate periodically the instrument.

CALIBRATION

Recalibrate weekly, when a new lot of reagent is used, when control recovery falls out of the expected range or when adjustments are made to the instrument. Two point calibration is recommended (S1: NaCl 9 g/L and S2: Calibrator). A reagent blank should be run daily before sample analysis.

RESULTS

If results are to be expressed as SI units apply:
mg/dL x 0.0259 = mmol/L

EXPECTED VALUES³⁻⁵

Clinical values of HDL-Cholesterol used to classify risk groups.

Cholesterol from lipoproteins of high density		RISK
Men	> 55 mg/dL (> 1.42 mmol/L)	Low
	40-55 mg/dL (0.90-1.42 mmol/L)	Moderate
	< 40 mg/dL (< 1.04 mmol/L)	High
Women	> 65 mg/dL (> 1.68 mmol/L)	Low
	45-65 mg/dL (1.16-1.68 mmol/L)	Moderate
	< 45 mg/dL (< 1.16 mmol/L)	High

QUALITY CONTROL

To ensure adequate quality control (QC), each run should include a set of controls (normal and abnormal) with assayed values handled as unknowns. Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS

Low HDL-cholesterol is a strong independent predictor of coronary heart disease. In ATP III⁴, low HDL cholesterol is defined categorically as a level < 40 mg/dL (1.04 mmol/L), a change from the level of < 35 mg/dL in ATPII (1993).

Low HDL cholesterol is used as a risk factor to estimate 10-year risk for coronary heart disease, having several causes: elevated triglycerides, overweight and obesity, physical inactivity, and type 2 diabetes.

Other causes are, cigarette smoking, very high carbohydrate intakes (> 60% of calories), and certain drugs as anabolic steroids and progestational agents.

Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance characteristics are available on request.

BIBLIOGRAPHY

1. US Patent No.: 6,479,249 B2 (Nov 12,2002).
2. Sachiko Izawa. J.Med. and Pharm. Sci. 37 : 1325 (1997).
3. Warnick, G. y Wood, P.D., Clin. Chem. 41 : 1427 (1995).
4. SPECIAL REPORT. Executive Summary of the 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). JAMA. 285 : 2486 (2001).
5. Tietz. N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry,p.940. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1987).
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests. 5th ed. AACC (Press 2000).
7. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.



COLESTEROL-HDL

DIRECTO

Método enzimático colorimétrico

PUNTO FIJO

REF KR10242 5 x 40 mL CONTENIDO R1.Reactivo 5 x 30 mL R2.Reactivo 5 x 10 mL	REF KR10245 11 x 40 mL CONTENIDO R1.Reactivo 11 x 40 mL R2.Reactivo 11 x 10 mL
Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i>	

FUNDAMENTO

Este método directo^{1,2} para cuantificar el colesterol en las lipoproteínas de alta densidad (HDL) es una prueba enzimática homogénea en la que la precipitación diferencial y la posterior sedimentación del resto de lipoproteínas y quilomicrones ha sido eliminada.

El procedimiento consta de dos etapas. En la primera el colesterol de las lipoproteínas distintas a las HDL presentes en la muestra se descomponen por la acción simultánea de la colesterol esterasa (CE) y la colesterol oxidasa (CO) a pH 7,0, dando como productos finales colesteno y peróxido de hidrógeno convirtiéndose éste último en oxígeno y agua por la acción de la catalasa. En una segunda etapa, un tensioactivo que actúa específicamente sobre la HDL se añade al producto del paso anterior, cuantificándose el colesterol residual mediante una reacción tipo Trinder en la que el derivado anilínico, HDAOS*, y la 4-aminoantipirina (4-AA) se condensan por el H₂O₂ en presencia de peroxidasa (POD) para formar una quinonaimina roja proporcional a la concentración de colesterol-HDL presente en la muestra.

* N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxianilina

REACTIVOS

R1. Reactivo enzimático. Tampón GOOD 100 mmol/L pH 7,0, MgCl₂ 18 mmol/L, CE 800 U/L, CO 500 U/L, catalasa 100 KU/L, HDAOS 0,7 mmol/L.

R2. Reactivo POD/4-AA. POD 4 KU/L, 4-AA 4 mmol/L, N₃Na < 0.1%, tensioactivos específicos < 1.5 % (v/v).

PREPARACION

Los reactivos **R1** y **R2** están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conservar a 2-8°C. Los Reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Después de su uso diario, mantenerlos bien cerrados y protegidos de la luz. En el analizador son estables 30 días.

Descartar si se observan signos de deterioro:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia del Blanco (A) a 600 nm < 0,080 en cubeta de 1 cm.

MUESTRAS

Suero o plasma heparinizado u obtenido con EDTA. El paciente estará en ayunas desde la noche anterior a la extracción. Separar las células dentro de las 3 horas siguientes a la venipuntura. Las muestras pueden conservarse 2 semanas a 4-8°C ó 3 meses a -20°C.

INTERFERENCIAS⁶⁻⁷

- Lípidos (Triglicéridos < 12 g/L) no interfiere.
- Bilirrubina (< 30 mg/dL) no interfiere.
- Hemoglobina (< 5 mg/dL) no interfiere.
- Ascorbato (< 50 mg/dL) no interfiere.
- Otros medicamentos y sustancias pueden interferir⁶⁻⁷.

EQUIPO ADICIONAL

- Analizador KROMA.
- Material de laboratorio.
- iso-Clean Solution. Ref. CT18002.
- Multicalibrador CC/H 10x3 mL. Ref. CT19750

TECNICA AUTOMATICA

Una representación gráfica visualiza los ajustes específicos correspondientes a la aplicación técnica diseñada para este ensayo. Cualquier aplicación nueva al instrumento deberá validarse para confirmar que los resultados cumplen las características del método. Se recomienda validar periódicamente el instrumento.

CALIBRACION

Recalibrar semanalmente, al cambiar el lote de reactivos, cuando los valores del control estén fuera del rango de aceptación o cuando se realicen ajustes en el instrumento. Se recomienda la Calibración de dos puntos (M1: CINA 9 g/L y M2: Calibrador). Realizar un blanco del reactivo cada día de trabajo antes de analizar las muestras.

CALCULOS

Para expresar los resultados en unidades SI aplicar:
mg/dL x 0,0259 = mmol/L

VALORES DE REFERENCIA³⁻⁵

Valores clínicos de HDL-Colesterol empleados para clasificar grupos de riesgo.

Colesterol de lipoproteínas de alta densidad		RIESGO
Hombres	> 55 mg/dL (> 1,42 mmol/L)	Bajo
	40-55 mg/dL (0,90-1,42 mmol/L)	Moderado
	< 40 mg/dL (< 1,04 mmol/L)	Alto
Mujeres	> 65 mg/dL (> 1,68 mmol/L)	Bajo
	45-65 mg/dL (1,16-1,68 mmol/L)	Moderado
	< 45 mg/dL (< 1,16 mmol/L)	Alto

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

Para un control de calidad (CC) adecuado, se incluirán en cada serie controles valorados (normal y abnormal) que se tratarán como muestras problema. Cada laboratorio debe establecer su propio Control de Calidad y sus medidas correctoras cuando los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

SIGNIFICADO CLINICO

Un valor de Colesterol-HDL bajo es un indicador independiente y firme de enfermedad coronaria. En ATP III⁴, el valor bajo de Colesterol-HDL quedó categóricamente definido como un nivel < 40 mg/dL (1,04 mmol/L), un cambio en relación al nivel < 35 mg/dL establecido anteriormente en ATP II (1993).

Un valor bajo de Colesterol-HDL se emplea como un estimador de riesgo a 10 años, de padecer la enfermedad cardíaca coronaria debiéndose ésta a diversas causas: triglicéridos elevados, sobrepeso y obesidad, inactividad física, tabaco, ingestas muy altas de carbohidratos (> 60% de calorías) y ciertas drogas como los esteroides y anabolizantes. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

CARACTERISTICAS ANALITICAS

Las características analíticas están disponibles bajo solicitud.

REFERENCIAS

1. US Patent No.: 6,479,249 B2 (Nov 12,2002).
2. Sachiko Izawa. J.Med. y Pharm. Sci. 37 : 1325 (1997).
3. Warnick, G. y Wood, P.D., Clin. Chem. 41 : 1427 (1995).
4. SPECIAL REPORT. Executive Summary of the 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). JAMA. 285 : 2486 (2001).
5. Tietz. N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry, p.940. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1987).
6. Friedman y Young. Effects of disease on clinical laboratory tests. 5th ed. AACC (Press 2000).
7. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.



Aplicaciones en KROMA
Applications on KROMA



HDL-CHOLESTEROL DIRECT

Two reagents method

HDL-Cholesterol Direct (5 x 40 mL), Code KR10242
HDL-Cholesterol Direct (11 x 40 mL), Code KR10245

USO
USE

Reactivo de diagnóstico *in vitro* para la determinación de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) en suero o plasma.
In vitro diagnostic reagent for the determination of high density lipoproteins (HDL) in serum or plasma.

METODO
METHOD

Enzimático colorimétrico.
Enzymatic colorimetric.

MUESTRA
SAMPLE

Suero o plasma heparinizado u obtenido con EDTA.
Serum or EDTA or heparinized plasma.

REACTIVOS
REAGENTS

Los reactivos R1 y R2 están listos para su uso.
The reagents R1 and R2 are ready to use.

CALIBRADOR
STANDARD

HDL/LDL Calibrator, Code CT19750

CONTROL CALIDAD
QUALITY CONTROL

Linear Human Multisera Normal CT19800
Linear Human Multisera Abnormal CT19850

DETERMINACIONES
NUMBER OF TESTS

1000 tests/kit, Code KR10242
2200 tests/kit, Code KR10245
(no se considera el volumen muerto).
(dead volume is not taken in consideration).

LINEALIDAD
LINEARITY

Sin post-dilución automática: Hasta 150 mg/dL
Without automatic post-dilution: Up to 150 mg/dL

NOTA
NOTE

Para más información lea el prospecto del reactivo.
For additional information read reagent packaging insert.

NOTA DE AVISO
WARNING

La aplicación incluida se da solamente como pauta. Cualquier aplicación deberá ser validada con el fin de demostrar que se cumplen las características analíticas del método.
The reported application is given only as a guideline. Any application to an instrument should be validated to demonstrate that results meet the performance characteristics of the method.



General Info

Name: HDL Chol. Dir. Code: HDL Barcode: b6 Unit: mg/dl Decimal digits: 1

Visible: Type: Endpoint Na+ No. of rgt: 2 Multiply diluted result:

Notes:

Filters

F1: 578nm F2: not used

Volumes [microlitres]

Sample: 3

R1: 150 R2: 50 R3: 0

Bottle sizes

R1: 30 ml R2: 20 ml R3: 20 ml

Reagents

Include blank in calc.

Blank Abs (min; max): 0.001 1

Reagent linearity: 150

Detection limit: 3

Incubation/Reading time [sec]

Substrate/Sample Start: Substrate Start

R1,S -> R2: 180 R1,R2,S -> R3: 36 Final incub.: 420

Kinetic/Fixed Time data

Calibrations

No. of Standards: 2

Piecewise Linear Calib. Curve

Reference Ranges

Sample type: Serum

Patien...	Min	Max
Female	0.00	0.00
Male	0.00	0.00
Paediatric	0.00	0.00

Instrument Factor (Y = aX + b)

a: 1.000 b: 0.000

Controls

C1: C2: C3:

Dilutions by sample

Formula Builder Print Delete Save

Name	N. of Standards	N. of rep.	Units	Stability
HDL-Cholesterol Direct	2	1	mg/dL	

Dil.ratio	Std value	O.D.	Reagent ...
	*		

Factor	Factor Min	Factor Max

* entered by the user

KR10242-45-1/0907

