

COLESTEROLO HDL

Reagente precipitante PEG 6000

REF. 0056 2x100 ml



IVD

COMPANY WITH
QUALITY SYSTEM
ISO 9001 - ISO 13485
Certified by IMQ

GIESSE[®]
DIAGNOSTICS

USO PREVISTO

Reagente per la precipitazione delle betalipoproteine VLDL (very low density lipoproteins) e LDL (low density lipoproteins) da impiegare per laderminazione quantitativa del Colesterolo HDL nel siero.

PRINCIPIO

Le betalipoproteine VLDL e LDL vengono precipitate con un reagente polianionico (PEG 6000) e nel sovrantante, dopo centrifugazione, si determina la frazione alfa, il colesterolo HDL (high density lipoproteins) con il metodo enzimatico colorimetrico.

CAMPIONE

Sierofresco non emolizzato.

L'HDL nel campione è stabile 3 giorni a 2-8°C e un mese a -20°C.

COMPONENTI FORNITI

Reagente (A) HDL Volume = 2x100 ml	Tampone di Good PEG 6000 Sodio Azide	100 mmol/l 100 mmol/l 14 mmol/l
Standard CHOL Volume = 1x5 ml	Colesterolo Sodio azide	Valore in etichetta 14 mmol/l

I reagenti sono stabili fino alla data di scadenza indicata in etichetta se conservati a 2-8°C e protetti dalla luce. Non congelare. Una volta aperti, i reagenti sono stabili 2 mesi a 2-8°C in assenza di contaminazioni.

Conservare i flaconi chiusi quando non in uso.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Reagenti liquidi, da portare a temperatura ambiente (15-25°C) prima dell'uso.

PRECAUZIONED AVVERTENZE

Il reagente può contenere componenti non reattivi e conservanti di varia natura. A scopo cautelativo è opportuno evitare il contatto con la pelle e l'ingestione. Utilizzare le normali precauzioni previste in laboratorio.

Smaltire i rifiuti secondo le norme locali vigenti.

PROCEDIMENTO

Lunghezza d'onda:	510 nm (500 – 520)
Cammino ottico:	1 cm
Temperatura:	37°C
Lettura:	contro bianco reagente
Metodo:	End Point in incremento

FASE 1:

Pipettare:

Reagente (A) HDL	500 µl
Campione	500 µl

Agitare su vortex e lasciare incubare per 5 minuti a temperatura ambiente, centrifugare a 2000/3000 r.p.m. per 10 minuti.

N.B. nella Fase 1 il campione è diluito 1:2, sarà dunque necessario moltiplicare il risultato ottenuto nella Fase 2 per 2 (fattore di diluizione).

Raramente si avrà una precipitazione incompleta delle VLDL e LDL. Qualora però ci si accorgesse che la precipitazione non è completa (surnatante lipidico), si consiglia di aumentare il fattore di diluizione del campione ed usare 3 parti di Reagente (A) HDL ed una di campione. Moltiplicare poi il risultato ottenuto alla fine della Fase 2 per 4 (fattore di diluizione).

FASE 2:

Determinare il Colesterolo HDL nel surnatanteottenuto durante la Fase 1 con il kit **COLESTEROLO SL**metodo enzimatico colorimetrico (REF. 0045 – 0035 – 0093 – 0045L) come segue:

Pipettare:	Bianco	Campione	Standard
Reagente (A) COLESTEROLO SL	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Acqua	25 µl		
Campione		25 µl	
Standard			25 µl

Agitare, incubare a 37°C per 5 minuti, leggere l'assorbanza del campione (Ax) e dello standard (As).

I volumi di reazione possono essere variati proporzionalmente.

La presente metodica descrive l'utilizzo del kit in manuale.

Per l'utilizzo con analizzatori, consultare le applicazioni specifiche.

CALCOLO DEI RISULTATI

HDL (mg/dl) = $Ax/As \times (\text{Valore standard}) \times 2$ (fattore diluizione)

Per il calcolo del Colesterolo LDL utilizzare la seguente formula:

LDL (mg/dl) = Colesterolo totale – HDL – (Trigliceridi/5)

Tale formula risulterà valida se il valore dei trigliceridi è inferiore a 400 mg/dl e il paziente non ha una iperlipoproteinemia di tipo III.

Fattore di conversione: mg/dl x 0.02586 = mmol/l

INTERVALLI DI RIFERIMENTO

HDL:

Donne: 42 - 88 mg/dl (1.09 - 2.28 mmol/l)

Uomini: 35 - 80 mg/dl (0.90 - 2.07 mmol/l)

LDL:

Adulti: 66 - 178 mg/dl (1.71 - 4.60 mmol/l)

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire gli intervalli di riferimento in relazione alla propria popolazione.

CONTROLLO DI QUALITA'

E' necessario eseguire i controlli ad ogni utilizzo del kit e verificare che i valori ottenuti siano inclusi nell'intervallo di riferimento riportato nelle istruzioni d'uso. A tale scopo si consiglia l'usodelcontrollo(REF. 6011).

PRESTAZIONI DEL METODO

Sensibilità: la sensibilità del metodo è: 2 mg/dl.

Linearità: il metodo è lineare fino a 700 mg/dl. Per valori superiori, diluire i campioni 1:5 e moltiplicare il risultato per 5.

Precisione nella serie:

	Livello 1	Livello 2
Media (mg/dl)	32.1	88.9
DS	0.18	0.61
CV %	0.55	0.68

Precisione tra le serie:

	Livello 1	Livello 2
Media (mg/dl)	32.8	100.1
DS	0.4	1.1
CV %	1.3	1.1

Interferenze: la bilirubina non interferisce fino a 20 mg/dl. L'emoglobina non interferisce fino a 500 mg/dl. I trigliceridi non interferiscono fino a 1000 mg/dl.

Correlazione con metodo di riferimento: $Y = 0.96x + 2.5$ $r = 0.998$

BIBLIOGRAFIA

- Trinder P., Ann. Clin. Biochem. 6, 24 (1969).
- Kaplan LA, Pesce AJ, Clinical Chemistry, Mosby Ed. 1989.
- Vassault A. et al., Ann. Biol. Clin., 44, 686 (1986).
- Young D.S., et al., Clin. Chem. 21:1D (1975).
- Friedewald W.F., et al., Clin. Chem. 18: 449-502, 1972.

HDL CHOLESTEROL

Precipitating Reagent PEG 6000

REF. 0056 2x100 ml



IVD

COMPANY WITH
QUALITY SYSTEM
ISO 9001 - ISO 13485
Certified by IMQ

GIESSE[®]
DIAGNOSTICS

INTENDED USE

Reagent for the precipitation of β -lipoproteins VLDL (very low-density lipoproteins) and LDL (low-density lipoproteins), to be used for the quantitative determination of HDL Cholesterol in serum.

PRINCIPLE

The β -lipoproteins VLDL and LDL are precipitated with a polyanionic reagent (PEG 6000) and on the supernatant, after centrifugation, the alpha fraction, HDL cholesterol (high density lipoproteins) is determined with colorimetric enzymatic method.

SAMPLE

Fresh unhemolyzed serum

HDL in the sample is stable 3 days at 2-8°C and one month at -20°C.

KIT COMPONENTS

Reagent (A) HDL Volume = 2x100 ml	Good Buffer PEG 6000 Sodium Azide	100 mmol/l 100 mmol/l 14 mmol/l
Standard CHOL Volume = 1x5 ml	Cholesterol Sodium azide	Value on label 14 mmol/l

The reagents are stable until the expiration date indicated on the label if stored at 2-8°C and protected from light. Do not freeze. Once opened reagents are stable for 2 months at 2-8°C if contamination is avoided.

Keep bottles closed when not in use.

REAGENTS PREPARATION

Liquid Reagents, bring to room temperature (15-25°C) before use.

PRECAUTIONS AND WARNINGS

Reagents may contain some non-reactive and preservative components. It is suggested to handle carefully it, avoiding contact with skin and swallow.

Use the normal precautions required in the laboratory.

Dispose of waste according to local laws.

PROCEDURE

Wavelength:	510 nm (500 – 520)
Lightpath:	1 cm
Temperature:	37°C
Reading:	against blank reagent
Method:	Increasing End Point

PHASE 1:

Pipette:

Reagent (A) HDL	500 μ l
Sample	500 μ l

Mix on vortex and incubate for 5 minutes at room temperature, centrifuge at 2000/3000 r.p.m. for 10 minutes.

N.B. In Phase 1, the sample is diluted 1:2; therefore, it will be necessary to multiply the result obtained in Phase 2 by 2 (dilution factor).

Incomplete precipitation of VLDL and LDL will rarely occur. However, if it becomes evident that precipitation is not complete (lipid supernatant), it is recommended to increase the dilution factor of the sample and use 3 parts of HDL Reagent (A) and 1 part of sample. Then multiply the result obtained at the end of Phase 2 by 4 (dilution factor).

PHASE 2:

Determine the HDL Cholesterol in the supernatant obtained during Phase 1 using the **CHOLESTEROL SL** kit, enzymatic colorimetric method (REF. 0045 – 0035 – 0093 – 0045L), as follows:

Pipette:	Blank	Sample	Standard
Reagent (A) CHOLESTEROL SL	1000 μ l	1000 μ l	1000 μ l
Water	25 μ l		
Sample		25 μ l	
Standard			25 μ l

Mix, incubate at 37°C for 5 minutes, read the absorbance of the sample (Ax) and the standard (As).

Volumes can be proportionally modified.

This method describes the manual procedure to use the kit.

For automated procedure, ask for specific applications.

RESULTS CALCULATION

HDL (mg/dl) = $A_x/A_s \times (\text{Standard Value}) \times 2$ (dilution factor)

For the calculation of LDL Cholesterol use the following formula:

LDL (mg/dl) = Total Cholesterol – HDL – (Triglycerides/5)

This formula will be valid if the value of triglycerides is less than 400 mg/dl and the patient does not have a type III hyperlipoproteinemia.

Conversion factor: mg/dl x 0.02586 = mmol/l

EXPECTED VALUES

HDL:

Women: 42 - 88 mg/dl (1.09 - 2.28 mmol/l)

Men: 35 - 80 mg/dl (0.90 - 2.07 mmol/l)

LDL:

Adults: 66 - 178 mg/dl (1.71 - 4.60 mmol/l)

Each laboratory should establish appropriate reference intervals related to its population.

QUALITY CONTROL

You must perform the controls at each kit's use and verify that the values obtained are within the reference range reported in the operating instructions. For this purpose we recommend the use of the control (REF.6011).

PERFORMANCE

Sensitivity: the sensitivity of the method is: 2 mg/dl.

Linearity: the method is linear up to 700 mg/dl. For higher values, dilute the sample 1:5 and multiply the result by 5.

Precision intra-assay:

	Level 1	Level 2
Mean (mg/dl)	32.1	88.9
SD	0.18	0.61
CV %	0.55	0.68

Precision inter-assay:

	Level 1	Level 2
Mean (mg/dl)	32.8	100.1
SD	0.4	1.1
CV %	1.3	1.1

Interferences: bilirubin does not interfere up to 20 mg/dl. Hemoglobin does not interfere up to 500 mg/dl. Triglycerides do not interfere up to 1000 mg/dl.

Correlation against a reference method: $Y = 0.96x + 2.5$ $r = 0.998$

REFERENCES

- Trinder P., Ann. Clin. Biochem. 6, 24 (1969).
- Kaplan LA, Pesce AJ, Clinical Chemistry, Mosby Ed. 1989.
- Vassault A. et al., Ann. Biol. Clin., 44, 686 (1986).
- Young D.S., et al., Clin. Chem. 21:1D (1975).
- Friedewald W.F., et al., Clin. Chem. 18: 449-502, 1972.