

**Colesterol HDL MonlabTest®**



Directo. Enzimático colorimétrico.

**Determinación cuantitativa de Colesterol HDL**

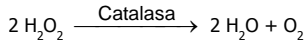
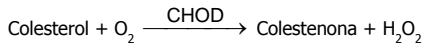
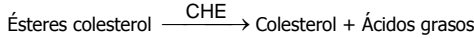
Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*. Conservar a 2-8 °C.

**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

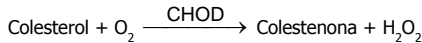
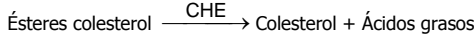
Determinación directa del HDLc (colesterol de lipoproteínas de alta densidad) sin necesidad de pre-tratamiento o centrifugado de la muestra<sup>3,5</sup>.

La determinación se realiza en dos pasos:

→ 1º Eliminación de lipoproteínas no-HDL



→ 2º Medición de HDLc



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de HDLc presente en la muestra ensayada.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

Las partículas de HDL son lipoproteínas de alta densidad que transportan el colesterol desde los tejidos del cuerpo hasta el hígado. Debido a que las HDL pueden retirar el colesterol de las arterias y transportarlo de vuelta al hígado para su excreción, se les conoce como el colesterol o 'lipoproteína buena', ya que niveles elevados están relacionados con un menor riesgo cardiovascular. Un nivel bajo de colesterol HDL es considerado uno de los principales factores de riesgo cardiovascular y enfermedades de las arterias coronarias<sup>1,2,4</sup>. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

<b>R1</b>	N,N-bis (2-hidroxiethyl)-2-aminoetanosulfónico ácido pH 6,6	100 mM
	N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxianilina (HDAOS)	0,7 mM
	Colesterol esterasa	≥800 U/L
	Colesterol oxidasa	≥ 500 U/L
	Catalasa	≥300 U/L
	Ascórbico oxidasa	≥3000 U/L
<b>R2</b>	N, N-bis (2-hidroxiethyl)-2-aminoetanosulfónico ácido pH 7,0	1,1 mmol/L
	4 - Aminoantipirina (4-AA)	100 mM
	Peroxidasa	≥ 3500 U/L
<b>CAL HDLc/ LDLc</b>	Calibrador. Suero humano liofilizado.	

**PRECAUCIONES**

**CAL HDLc/ LDLc**

Los componentes de origen humano han resultado ser negativos para el antígeno HBs, HCV y para el anti-HIV (1/2). Sin embargo, deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos.

**PREPARACIÓN**

R 1 y R 2: Listos para su uso.

CAL HDLc/ LDLc: Reconstituir el contenido de un vial con 1 mL de agua destilada. Tapar el vial y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

**CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD** NOTA 1

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación. No congelar los reactivos.

- HDLc/LDLc CAL: Una vez reconstituido es estable 30 horas a 20-25°C, 2 semanas a 2-8°C ó 3 meses a -20°C.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:**

- Presencia de partículas y turbidez.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro o analizador con cubeta para lecturas a 570 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

**MUESTRAS**

Suero, plasma heparinizado o plasma EDTA.

El suero es estable 6 días a 2-8°C y un año cuando se conserva a -70°C.

**PROCEDIMIENTO**

- Condiciones del ensayo:  
Longitud de onda: .....550-650 nm  
Cubeta: .....1 cm paso de luz  
Temperatura: ..... 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Calibrador	Muestra
R1 (µL)	300	300	300
Calibrador (µL)	--	3	--
Muestra (µL)	--	--	3

4. Mezclar e incubar 5 min a 37°C y leer la absorbancia (A<sub>1</sub>) del calibrador y la muestra.

5. Añadir:

	Blanco	Calibrador	Muestra
R2 (µL)	100	100	100

6. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C y leer la absorbancia (A<sub>2</sub>) frente al Blanco de reactivo.

**CÁLCULOS**

$$\frac{(A_2 - A_1) \text{ Muestra} - (A_2 - A_1) \text{ Blanco}}{(A_2 - A_1) \text{ Calibrador} - (A_2 - A_1) \text{ Blanco}} \times \text{Conc. Calibrador} = \text{mg/dL de HDL colesterol en muestra}$$

Factor de conversión: mg/dL x 0,0259 = mmol/L.

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

CONTROL Normal y Patológico (MO-165107 y MO-165108).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**VALORES DE REFERENCIA**

	Hombres	Mujeres
Riesgo menor	> 50 mg/dL	> 60 mg/dL
Riesgo normal	35 - 50 mg/dL	45 - 60 mg/dL
Riesgo elevado	< 35 mg/dL	< 45 mg/dL

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO**

**Rango de medida:** Desde el límite de detección de 5,0 mg/dL hasta el límite de linealidad de 151 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con NaCl 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

**Precisión:**

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
Media (mg/dL)	28,0	76,1	27,5	75,3
SD	0,25	0,81	1,26	2,04
CV (%)	0,89	1,06	4,60	2,71

**Sensibilidad analítica:** 1mg/dL = 0,001399 (A)

**Exactitud:** Los reactivos MonlabTest (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r)<sup>2</sup>: 0,938.  
Ecuación de la recta de regresión: y= 0,9825x + 1,41606.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**INTERFERENCIAS**

No se han observado interferencias con Bilirrubina hasta 30 mg/dL, hemoglobina hasta 500 mg/dL factores reumatoides hasta 1000 UI/mL o lipemia hasta 1200 mg/dL. Muestras lipémicas con concentración de triglicéridos mayor a 1200 mg/dL, se deben diluir 1/10 con NaCl 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.

**NOTAS**

- El reactivo 2 presenta coloración amarillenta debido a la peroxidasa que contiene, lo cual no afecta en absoluto la funcionalidad del reactivo.
- MONLAB dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

**BIBLIOGRAFÍA**

- National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Triglyceride, High Density Lipoprotein and Coronary Heart Disease. Washington D.C. Feb 26-28, 1992.
- Izawa S., Okada M., Matsui H., and Horita Y. J. Medicine and Pharmaceutical Sci., 1385 - 1388, 37 (1997).
- Shih WJ, Bachorik PS, Haga JA, Myers GL, Stein EA; Clinical Chemistry, 2000; 46:3:351 - 364
- Third Report of the National Cholesterol Education Programme (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA Publication, Vol 285, No. 19, P2486 - 2497; 2001.
- Jacobs, D. et al. In Laboratory and Test Handbook; Jacobs, D.S; Kasten, B.L., De Mott, W.R., Wolfson, W.L., Eds; Lexi - Comp Inc: Hudson (Cleveland), 1990; P. 219.

**PRESENTACIÓN**

Ref. MO-165026	Ref. MO-165088	Ref. MO-165195
R1: 1 x 240 mL	R1: 1 x 60 mL	R1: 1 x 30 mL
R2: 1 x 80 mL	R2: 1 x 20 mL	R2: 1 x 10 mL
CAL: 1 x 1 mL	CAL: 1 x 1 mL	CAL: 1 x 1 mL

**SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS IVD**

	Fabricante		Uso de diagnóstico <i>in vitro</i>
	No reutilizar		Consultar las instrucciones de uso
	Contiene suficiente para <n> test		Mantener seco
	Código		Límite de temperatura
	Número de lote		Fecha de caducidad

**HDL Cholesterol MonlabTest®**



Direct. Enzymatic colorimetric.



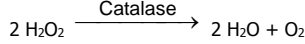
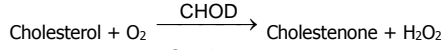
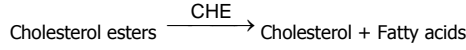
Quantitative determination of HDL Cholesterol

Only for professional *in vitro* diagnostic use. Store at 2 - 8°C.

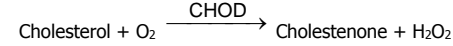
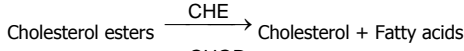
**PRINCIPLE OF THE METHOD**

Directly determination of serum HDLc (high-density lipoprotein cholesterol) levels without the need for any pre-treatment or centrifugation of the sample<sup>3,5</sup>. The assay takes place in two steps.

→ 1<sup>o</sup> Elimination of lipoprotein no-HDL



→ 2<sup>o</sup> Measurement of HDLc



The intensity of the color formed is proportional to the HDLc concentration in the sample.

**CLINICAL SIGNIFICANCE**

HDL particles are high-density lipoproteins that transport cholesterol from the body tissues to the liver. Since HDL can remove cholesterol from the arteries and carry it back to the liver for their excretion, HDL is known as "good cholesterol" because high levels are thought to lower the risk of heart disease and coronary artery disease.

A low HDL cholesterol levels, is considered a greater heart disease risk<sup>1,2,4</sup>.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

**REAGENTS**

<b>R1</b>	N,N-bis(2-hydroxyethyl)-2-aminoethanesulphonic acid pH 6.6	100 mM
	N-(2-hydroxy-3-sulfo-propyl)-3,5-dimethoxyaniline (HDAOS)	0.7 mM
	Cholesterol Esterase	≥ 800 U/L
	Cholesterol oxidase	≥ 500 U/L
	Catalase	≥ 300 U/L
<b>R2</b>	Ascorbic oxidase	≥ 3000 U/L
	N,N-bis(2-hydroxyethyl)-2-aminoethanesulphonic acid pH 7.0	1.1 mmol/L
	4 - Aminoantipyrine (4-AA)	100 mM
<b>HDLc/ LDLc CAL</b>	Peroxidase	≥ 3500 U/L
	Calibrator. Lyophilized human serum.	

**PRECAUTIONS**

**HDLc/ LDLc CAL**

Components from human origin have been tested and found to be negative for the presence of HBsAg, HCV, and antibody to HIV (1/2). However handle cautiously as potentially infectious.

**PREPARATION**

R 1 and R 2: Are ready to use.

HDLc/ LDLc CAL: Dissolve the contents with 1 mL of distilled water. Cap vial and mix gently to dissolve contents.

**STORAGE AND STABILITY** NOTE 1

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations are prevented during their use. Do not freeze the reagents.

- HDLc/ LDLc CAL: Once reconstitute 30 hours at 20-25°C, 2 weeks at 2-8°C or 3 months at -20°C.

Do not use reagents over the expiration date.

**Signs of reagent deterioration:**

- Presence of particles and turbidity.

**ADDITIONAL EQUIPMENT**

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 570 nm.
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment.

**SAMPLES**

Serum, heparinized plasma or EDTA plasma. If any samples show precipitates, centrifuge before using.

Stability of the sample: 6 days at 2-8°C and 1 year when stored at -70°C.

**PROCEDURE**

- Assay conditions:  
Wavelength: ..... 550-650 nm  
Cuvette: ..... 1 cm light path  
Temperature: ..... 37°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water.

3. Pipette into a cuvette:

	Blank	Calibrator	Sample
R1 (µL)	300	300	300
Calibrator (µL)	--	3	--
Sample (µL)	--	--	3

4. Mix and incubate for 5 min at 37°C and read the absorbance (A<sub>1</sub>) of the samples and calibrator.

5. Add:

	Blank	Calibrator	Sample
R2 (µL)	100	100	100

6. Mix and incubate for 5 min at 37°C and read the absorbance (A<sub>2</sub>) of the samples and calibrator, against the Blank.

**CALCULATIONS**

$(A_2 - A_1) \text{ Sample} - (A_2 - A_1) \text{ Blank} \times \text{Calibrator conc.} = \text{mg/dL of HDL-c in the sample}$

$(A_2 - A_1) \text{ Calibrator} - (A_2 - A_1) \text{ Blank}$

Conversion factor: mg/dL x 0.0259= mmol/L.

**QUALITY CONTROL**

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: CONTROL Normal and Pathologic (MO-165107 and MO- 165108).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

**REFERENCE VALUES**

	Men	Women
Low risk	> 50 mg/dL	> 60 mg/dL
Normal risk	35 - 50 mg/dL	45 - 60 mg/dL
High risk	< 35 mg/dL	< 45 mg/dL

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

**PERFORMANCE CHARACTERISTICS**

**Measuring range:** From detection limit of 5.0 mg/dL to linearity limit of 151mg/dL.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

**Precision:**

Mean (mg/dL)	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
	SD	CV (%)	27.5	75.3
28.0	0.25	0.81	1.26	2.04
76.1	0.89	1.06	4.60	2.71

**Sensitivity:** 1mg/dL = 0.001399 (A)

**Accuracy:** Results obtained using MonlabTest reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r)<sup>2</sup>: 0.938.

Regression equation: y= 0.9825x + 1.41606.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

**INTERFERENCES**

No interferences were observed to bilirubin up to 30 mg/dL, hemoglobin up to 500 mg/dL, rheumatoid factors up to 1000 IU/mL or lipemia up to 1200 mg/dL. Lipemic samples with a triglyceride concentration >1200 mg/dL should be diluted 1/10 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 10.

**NOTES**

- The reagent 2 presents yellowish coloration due to the peroxidase, but it does not affect its functionality.
- MONLAB has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

**BIBLIOGRAPHY**

- National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Triglyceride, High Density Lipoprotein and Coronary Heart Disease. Washington D.C. Feb 26-28, 1992.
- Izawa S., Okada M., Matsui H., and Horita Y. J. Medicine and Pharmaceutical Sci., 1385 - 1388, 37 (1997).
- Shih WJ, Bachorik PS, Haga JA, Myers GL, Stein EA; Clinical Chemistry, 2000; 46:3:351 - 364
- Third Report of the National Cholesterol Education Programme (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA Publication, Vol 285, No. 19, P2486 - 2497; 2001.
- Jacobs, D. et al. In Laboratory and Test Handbook; Jacobs, D.S; Kasten, B.L., De Mott, W.R., Wolfson, W.L., Eds; Lexi - Comp Inc: Hudson (Cleveland), 1990; P. 219.

**PACKAGING**

Ref. MO-165026	Ref. MO-165088	Ref. MO-165195
R1: 1 x 240 mL	R1: 1 x 60 mL	R1: 1 x 30 mL
R2: 1 x 80 mL	R2: 1 x 20 mL	R2: 1 x 10 mL
CAL: 1 x 1 mL	CAL: 1 x 1 mL	CAL: 1 x 1 mL

**SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS**

	Manufacturer		For <i>in vitro</i> diagnostic use only
	Don't re-use		Consult instructions for use
	Contains sufficient for <n> tests		Keep dry
	Catalogue Code		Temperature limitation
	Lot Number		Use by