

Reattivo precipitante per la determinazione del colesterolo HDL nel siero o plasma - Metodo precipitante PEG 6000

Il procedimento e le performances in seguito descritte si riferiscono all'utilizzo del precipitante unitamente al reattivo "CHOLESTEROL" ref. 10027

PRINCIPIO

Le lipoproteine a bassa densità (LDL e VLDL) e le frazioni di chilomicroni precipitano quantitativamente con aggiunta di PEG 6000 tamponato. Dopo centrifugazione, viene determinata la concentrazione della frazione di colesterolo HDL che resta nel sovranatante.

REATTIVI - Concentrazione iniziale

R1 PEG 6000 tamponato 20.0 g/l:

R2 Standard colesterolo HDL 50 mg/dl (1.29 mmol/l).

CAMPIONI

- Siero o plasma anticoagulato con EDTA.

Note

- Gli anticoagulanti come eparina, EDTA, ossalato o fluoruro non interferiscono.
 - Il colesterolo HDL è stabile nei campioni 7 giorni a 2-8°C.

VALORI DI RIFERIMENTO

	Normale	Rischio moderato	Alto rischio
Uomini	> 55 mg/dl	35 - 55 mg/dl	< 35 mg/dl
Donne	> 65 mg/dl	45 - 65 mg/dl	< 45 mg/dl

I valori di riferimento sono da considerarsi indicativi in quanto ogni laboratorio dovrebbe ricercare quelli della popolazione su cui opera. I risultati del test dovrebbero essere interpretati unitamente alle informazioni derivanti dalle valutazioni cliniche del paziente.

PREPARAZIONE DEI REATTIVI

I reattivi sono liquidi e pronti all'uso. Togliere i reattivi dal frigo solo il tempo necessario per il loro utilizzo e richiuderli subito dopo.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Conservare il kit a temperatura ambiente. Non congelare i reattivi.

NOTE

- Valutare attentamente i risultati se l'estinzione del reattivo di lavoro è > 0.600 a 510 nm.
 - Evitare di esporre i reattivi alla luce diretta, contaminazione ed evaporazione.
 - I volumi indicati nel procedimento possono essere variati proporzionalmente.
 - In caso di reclamo o di richiesta del controllo di qualità del presente kit, indicare il numero di lotto riportato sulla confezione o, in alternativa, il numero di lotto dei singoli componenti.

MATERIALI AUSILIARI

Materiali necessari non contenuti nel kit: soluzioni diluenti, vetreria e monouso, sistemi di dosaggio e misurazione, calibratori per la taratura degli strumenti.

CONTROLLO DI QUALITÀ

È 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.

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

Il prodotto non è classificato come sostanza pericolosa (DLg. N.285 art.28 Legge n.128 del 1998). La concentrazione totale dei componenti è inferiore ai limiti riportati dalle Direttive 67/548/CEE e 88/379/CEE e successive modifiche sulla classificazione, imballaggio ed etichettatura delle sostanze pericolose.

È consigliabile tuttavia maneggiare il prodotto con cautela secondo le norme di buona pratica di laboratorio.

Attenzione: i reattivi contengono Sodio Azide (0.095%) come conservante. Evitare l'ingestione ed il contatto con pelle, occhi e mucose.

SMALTIMENTO RIFIUTI

Il prodotto deve essere smaltito secondo le locali normative in materia di gestione dei rifiuti.

PROCEDIMENTO

Pipettare in provetta da centrifuga:

CAMPIONE	500 µl
REATTIVO R1	500 µl
Miscelare e, dopo 5', centrifugare a 300 rpm per 10'. Accertarsi che il sovranatante sia limpido: Determinare il colesterolo HDL sul sovranatante con il reattivo colesterolo.	

Lunghezza d'onda	λ: 510 nm
Temperatura di lavoro	37°C
Cammino ottico	1 cm
Tipo di reazione	end point

Portare i reattivi a 15-25°C prima del loro utilizzo.

- PROCEDIMENTO

	BIANCO	STD	CAMPIONE
SOVRANATANTE	--	--	50 µl
STANDARD	--	50 µl	--
REATTIVO CHOLESTEROL	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Mescolare ed incubare per 5' a 37°C o 10' a 15-25°C. Leggere l'estinzione del campione (EC) e dello standard (ES) contro il bianco reattivo.			

CALCOLO

$EC/ES \times Conc\ STD \times 2 = mg\ (mmol)\ di\ colesterolo\ HDL/dl\ (L)\ di\ campione$

FATTORE DI CONVERSIONE

Colesterolo [mg/dl] \times 0.02586 = Colesterolo [mmol/l]

PRESTAZIONI DEL REATTIVO

Interferenze

La bilirubina non interferisce con il test sino alla concentrazione di 15 mg/dl.
 L'emoglobina non interferisce sino alla concentrazione di 500 mg/dl.
 I trigliceridi non interferiscono sino alla concentrazione di 1000 mg/dl.

Linearità

La reazione è lineare sino alla concentrazione di 150 mg/dl con un intervallo di misura di 5.03-150 mg/dl. Campioni superiori a 150 mg/dl devono essere diluiti con soluzione fisiologica. Moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Precisione "intra-Assay" (NELLA SERIE)

Determinata su 30 replicati per ciascun controllo (N-H) (Normal-High). Risultati ottenuti:

MEDIA (mg/dl)	N = 26.20	H = 88.80
D.S.	0.84	1.30
C.V.%	3.19	1.47

Precisione "inter-Assay" (FRA LE SERIE)

Determinata su 15 replicati per ciascun controllo (N-H) per 3 giorni. Risultati ottenuti:

MEDIA (mg/dl)	N = 26.07	H = 86.73
D.S.	0.95	5.63
C.V.%	3.63	6.73

Sensibilità analitica

Soglia di sensibilità espressa dal metodo: 5.03 mg/dl.

Correlazione

Un metodo equivalente preso a riferimento, correlato su 21 campioni con il reattivo in esame, ha dato un fattore di correlazione $r = 0.95$

BIBLIOGRAFIA

Grove TH. Effect of reagent pH on determination of high-density lipoprotein cholesterol by precipitation with sodium phosphotungstate-magnesium. *Clin. Chem.* 1979; 25: 560-564.

Burstein M., Scholnick HR and Morfin R. rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *Scand J Clin Lab Invest* 1980 ; 40 : 583-595.

National Cholesterol Education Program Expert Panel. Third report of the national Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III). NIH Publication. Bethesda: national Heart, Lung, and Blood Institute; 2001.

Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.

Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co, 1991.

Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.

SIMBOLOGIA



Consultare istruzioni per l'uso



Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79/CE)



Limiti temperatura di conservazione



Dispositivo medico-diagnostico in vitro



Fabbricante

Precipitating reagent for measurement of HDL cholesterol in serum or plasma - PEG 6000 precipitating method

The following procedure and performances refer to the use of precipitating joined to reagent "CHOLESTEROL" ref. 10027

PRINCIPLE

Low density lipoproteins (LDL and VLDL) and chylomicron fractions precipitate quantitatively by adding buffered PEG 6000. After centrifugation, is determined the concentration of HDL (high density lipoprotein) cholesterol fraction which remains in the supernatant.

REAGENTS

- R1 Buffered PEG 6000 20.0 g/l
R2 HDL cholesterol standard 50 mg/dl (1.29 mmol/l).

SAMPLE

- Serum or EDTA plasma.

Note

- Anticoagulants as heparin, EDTA, oxalate or fluoride do not interfere.
- The HDL cholesterol is stable in the samples for 7 days if stand at 2-8°C.

REFERENCE VALUES

	Normal	Moderate risk	High risk
Man	> 55 mg/dl	35 - 55 mg/dl	< 35 mg/dl
Woman	> 65 mg/dl	45 - 65 mg/dl	< 45 mg/dl

References values are considered indicatives since each laboratory should establish references ranges for its own patient's population. The analytical results should be evaluated with other information coming from patient's clinical story.

PREPARATION OF REAGENTS

Reagents are liquid and ready to use. Keep out the reagents from refrigerator only for the use and recap them immediately.

STORAGE AND STABILITY

- Store the kit at room temperature. Do not freeze the reagents.

NOTE

- Evaluate carefully the results if working reagent absorbance is > 0.600 at 510 nm.
- Avoid direct light, contamination and evaporation.
- The volumes in the procedure can be changed proportionally.
- In case of complaint or quality control request, refer to the lot number on the package or the lot number on the singles vials.

AUXILIARY EQUIPMENT

Materials not included in the kit: diluent solutions, laboratory glassware, disposable tips, photometers and calibrators.

QUALITY CONTROLS

It's necessary, every time the kit is used, to make the quality controls and to check that values obtained are within the acceptance range provided in the insert.

PRECAUTION IN USE

The product is not classified as dangerous (DLg. N. 285 art. 28 l. n. 128/1998). The total concentration of components is lower than the limits reported by 67/548 and 88/379 CE Regulations (and following modifications) about classification, packaging and labelling of dangerous substances.

However the reagent should be handled with caution, according to good laboratory practice.

Caution: the reagents contain Sodium Azide (0.095%) as preservative. Avoid swallowing and contacting with skin, eyes and mucous membranes.

WASTE MANAGEMENT

Please refer to the local legal requirements.

PROCEDURE

Pipette into centrifuge tubes:

SAMPLE	500 µl
REAGENT R1	500 µl
Mix and after 5' centrifuge at 300 rpm for 10'. Check up the supernatant is clear. Determine HDL cholesterol on supernatant with cholesterol reagent.	

Wavelength	λ: 510 nm
Working temperature	37°C
Optical path	1 cm
Reaction	"end point"

Bring the reagents at 15-25°C before using them.

- PROCEDURE

	BLANK	STD	SAMPLE
SUPERNATANT	--	--	50 µl
STANDARD	--	50 µl	--
REAGENT CHOLESTEROL	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Mix then incubate for 5' at 37°C or 10' at 15-25°C. Measure the absorbance of the sample (EC) and standard (ES) against the reagent blank.			

CALCULATION

$EC/ES \times \text{Conc STD} \times 2 = \text{mg (mmol) of cholesterol HDL/dl (L) of sample}$

CONVERSION FACTOR

$\text{Cholesterol [mg/dl]} \times 0.02586 = \text{Cholesterol [mmol/l]}$

ANALYTICAL PERFORMANCES

Interferences

Bilirubin does not interfere up to concentration of 15 mg/dl.
Hemoglobin does not interfere up to concentration of 500 mg/dl.
Triglycerides do not interfere up to concentration of 1000 mg/dl.

Linearity

Reaction is linear up to a concentration of 150 mg/dl with a range of 5.03-150 mg/dl. Samples with values exceeding 150 mg/dl must be diluted with saline solution. Multiply, then, the result for diluting factor.

"Intra-Assay" precision (within-Run)

Determined on 30 samples for each control (N-H) (Normal-High).

Results:

MEAN (mg/dl)	N = 26.20	H = 88.80
S.D.	0.84	1.30
C.V.%	3.19	1.47

"Inter-Assay" precision (between-Run)

Determined on 15 samples for each control (N-H) for 3 days.

Results:

MEAN (mg/dl)	N = 26.07	H = 86.73
S.D.	0.95	5.63
C.V.%	3.63	6.73

Analytical sensitivity

The test sensitivity in terms of detection limit is 5.03 mg/dl.

Correlation

A study based comparing this method with a similar method on 21 samples has given a correlating factor $r = 0.95$

BIBLIOGRAPHY

Grove TH. Effect of reagent pH on determination of high-density lipoprotein cholesterol by precipitation with sodium phosphotungstate-magnesium. *Clin. Chem.* 1979; 25: 560-564.
Burstein M., Scholnick HR and Morfin R. rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *Scand J Clin Lab Invest* 1980 ; 40 : 583-595.
National Cholesterol Education Program Expert Panel. Third report of the national Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III). NIH Publication. Bethesda: national Heart, Lung, and Blood Institute; 2001.
Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co, 1991.
Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.

SYMBOLS



Read instruction for use



CE mark (requirement of 98/79 CE regulation)



Storing temperature limits



In vitro medical device



Producer