

EN

ULTRA N-geneous® HDL CHOLESTEROL REAGENT

CATALOGUE NUMBER: 80-6283-00
80-6277-00

SIZE: R1 750 mL
R2 250 mL

Note: Changes are highlighted.

INTENDED USE

For the quantitative measurement of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) concentration in human serum or plasma.

TEST SUMMARY

Plasma lipoproteins are spherical particles containing varying amounts of cholesterol, triglycerides, phospholipids and proteins. The phospholipid, free cholesterol and protein constitute the outer surface of the lipoprotein particle, while the inner core contains mostly esterified cholesterol and triglyceride. These particles serve to solubilize and transport cholesterol and triglyceride in the bloodstream.

The relative proportions of protein and lipid determine the density of these lipoproteins and provide a basis on which to begin their classification.¹ The classes are: chylomicron, very-low-density lipoprotein (VLDL), low-density lipoprotein (LDL) and high-density lipoprotein (HDL). Numerous clinical studies have shown that the different lipoprotein classes have very distinct and varied effects on coronary heart disease risk.²

The principle 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 (a proposed cardioprotective mechanism).³ Low HDL-C levels are strongly associated with an increased risk of coronary heart disease and coronary artery disease.^{4,9} Hence, the determination of serum HDL-C is a useful tool in identifying high-risk patients.

The reference method for the quantification of HDL-C combines ultracentrifugation and chemical precipitation to separate HDL from other lipoproteins, followed by cholesterol measurement by the Abell-Kendall method.¹¹ The first routine methods widely utilized by laboratories involved selective precipitation and removal of LDL and VLDL, followed by the enzymatic measurement of HDL-C in the supernatant fraction.¹¹ Since these methods require off-line pretreatment and separation steps the assay procedures cannot be fully automated. As a result, routine determination of HDL-C has suffered from long handling times and poor reproducibility.

TEST PRINCIPLE

The Ultra N-geneous® HDL Cholesterol assay is a homogeneous method for directly measuring HDL-C concentrations in serum or plasma without the need for any off-line pretreatment or centrifugation steps.

The method is in a two reagent format and depends on the properties of a unique detergent, as illustrated. This method is based on accelerating the reaction of cholesterol oxidase (CO) with non-HDL unesterified cholesterol and dissolving HDL selectively using a specific detergent. In the first reagent, non-HDL unesterified cholesterol is subject to an enzyme reaction and the peroxide generated is consumed by a peroxidase reaction with DSBmT yielding a colorless product. The second reagent consists of a detergent capable of solubilizing HDL specifically, cholesterol esterase (CE) and chromogenic coupler to develop color for the quantitative determination of HDL-C. This may be referred to as the Accelerator Selective Detergent methodology.

Accelerator Selective Detergent Methodology

	Accelerator + CO	
HDL, LDL, VLDL, Chylomicrons	→	Non-Reactive LDL, VLDL, Chylomicrons
	DSBmT + Peroxidase	
	HDL Specific Detergent	
HDL	→	HDL Disrupted
	CE	
HDL Cholesterol	→	Δ ⁴ Cholesterone + H ₂ O ₂
	CO	
H ₂ O ₂ + DSBmT + 4-AAP	→	Color Development
	Peroxidase	

REAGENTS

Composition of Reagents:

Component	Ingredients	Concentration
Reagent 1	Buffer Cholesterol oxidase (Fr: <i>E. Coli</i>) Peroxidase (Fr: Horseradish) N,N -Bis(4-sulfobutyl)-m- toluidine, disodium (DSBmT) Accelerator Preservative Ascorbate oxidase (Fr: <i>Curcubita</i> sp.)	<1000 U/L <1300 ppg U/L <1 mM <1 mM <0.06% <3000 U/L
Reagent 2	Bufferoxidase Cholesterol esterase (Fr: <i>Pseudomonas</i> sp.) 4-Aminoantipyrine (4-AAP) Detergent Preservative	<1500 U/L <1mM <2%

WARNINGS AND PRECAUTIONS FOR USE

IVD

For *in vitro* diagnostic use

R₁ ONLY

Ultra N-geneous® HDL Cholesterol Reagent #1



Warning

Contains: reaction mass of 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1) (CAS No) 55965-84-9

Hazard statements

H317 - May cause an allergic skin reaction

Precautionary statements

- P261 - Avoid breathing dust/fume/gas/mist/vapors/spray.
- P272 - Contaminated work clothing must not be allowed out of the workplace.
- P280 - Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
- P302+P352 - If on skin: Wash with plenty of water.
- P321 - Specific treatment (see supplemental first aid instruction on this label).
- P333+P313 - If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.
- P363 - Wash contaminated clothing before reuse.
- P501 - Dispose of contents/container to hazardous or special waste collection point, in accordance with local, regional, national and/or international regulation.

Ultra N-geneous® HDL Cholesterol Reagent #2



Warning

Contains: reaction mass of 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1) (CAS No) 55965-84-9

Hazard statements

H317 - May cause an allergic skin reaction

Precautionary statements

- P261 - Avoid breathing dust/fume/gas/mist/vapors/spray.
- P272 - Contaminated work clothing must not be allowed out of the workplace.
- P280 - Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
- P302+P352 - If on skin: Wash with plenty of water.
- P321 - Specific treatment (see supplemental first aid instruction on this label).
- P333+P313 - If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.
- P363 - Wash contaminated clothing before reuse.
- P501 - Dispose of contents/container to hazardous or special waste collection point, in accordance with local, regional, national and/or international regulation.

Do not pipette by mouth.

All specimens used in the test should be considered potentially infectious. Universal precautions as they apply to your facility should be used for handling and disposal of materials during and after testing.

Do not use the reagents after the expiration date printed on the reagent label.

Ultra N-geneous® HDL Cholesterol Reagent must be used with Ultra N-geneous® HDL Cholesterol Calibrator or HDL Ultra Cholesterol Calibrator.

See Safety Data Sheet for additional information.

REAGENT PREPARATION, STORAGE AND STABILITY

Reagent 1: Ready to use as packaged.

Reagent 2: Ready to use as packaged.

Store Ultra N-geneous® HDL Cholesterol reagents at 2-8°C.

Unopened reagents are stable until the expiration date on the reagent bottle label.

Reagent 1 is stable open on the analyzer for 4 weeks at 2-8°C.

Reagent 2 is stable open on the analyzer for 4 weeks at 2-8°C.

DO NOT FREEZE

REAGENT DETERIORATION

The following indicate deterioration:

Inability to recover control values.

Presence of turbidity.

DISPOSAL

Reagents must be disposed of in accordance with all Federal, Provincial, State, and local regulations.

SPECIMEN

Serum, EDTA-treated or heparinized plasma drawn from the patient after a 12 – 14 hour fast are the required specimens.

Serum: Collect whole blood by venipuncture and allow to clot. Centrifuge and remove the serum as soon as possible after collection (within 3 hours).¹¹

Plasma: Specimens may be collected in EDTA or lithium or sodium heparin. Centrifuge and remove the plasma as soon as possible after collection (within 3 hours).¹¹

Serum or plasma should not remain at 15-30°C longer than 14 hours. If assays are not completed within 14 hours, serum or plasma should be stored at 2-8°C for up to 1 week. If specimens need to be stored for more than 1 week, they may be preserved at less than -70°C for up to 3 months. Samples may be frozen once. Refer to NCCLS Document H18-A for further instructions on specimen collection, handling, and storage.

ANALYTICAL SPECIFICITY

All interference studies were conducted according to a modified NCCLS guideline No. EP7 for interference testing in clinical chemistry.¹³

Substances Tested	Concentration with no significant (±10%) interference
Bilirubin Conjugated	60 mg/dL
Bilirubin Total	60 mg/dL
Hemoglobin	1000 mg/dL
Ascorbic Acid	100 mg/dL
Lipemia using Intralipid®	1800 mg/dL
Gamma-globulins	5000 mg/dL

Refer to the work of Young for a review of drug effects on serum HDL cholesterol levels.¹⁴

Samples containing elevated levels of Immunoglobulin M (IgM) or samples from patients with Waldenstrom's Macroglobulinemia may produce unreliable results.

Limitations

1. Anticoagulants containing citrate should not be used.
2. Protect the reagents from direct sunlight.
3. Store the reagents at 2-8°C. Do not freeze the reagents.
4. The NCEP recommends that dietary and/or drug treatment not be based on a single HDL cholesterol result.
5. Lipemia: no interference from Intralipid® up to 1800 mg/dL.
6. Endogenous triglyceride levels gave acceptable performance up to 2000 mg/dL. Samples with triglyceride level >2000 mg/dL should not be diluted.
7. Samples from patients of cirrhotic liver have been reported to give HDL results lower than reported from reference method.¹⁵
8. Samples containing the following should not be used:
N-acetylcysteine (NAC).

ANALYTICAL PROCEDURE

MATERIALS PROVIDED

Both the Ultra N-geneous® HDL Cholesterol Reagent 1 and Reagent 2 are required for the measurement of HDL cholesterol. The Ultra N-geneous® HDL Cholesterol reagents are packaged and sold separately. Any of the following items may be included in the package you receive.

Description	Volume Per Bottle	Catalog Number
Ultra N-geneous® HDL Cholesterol Reagent 1	750 mL	80-6283-00
Ultra N-geneous® HDL Cholesterol Reagent 2	250 mL	80-6277-00

MATERIALS REQUIRED (BUT NOT PROVIDED)

Description	Configuration	Catalog Number
Ultra N-geneous® HDL Cholesterol Calibrator	6 x 1 mL	80-6449-00
HDL Ultra Cholesterol Calibrator	3 x 1 mL	6272-3

1. HDL cholesterol control sera or quality control material (See "Quality Control Procedures").
2. Automated clinical chemistry analyzer capable of accommodating two-reagent assays.
3. Class A volumetric pipettes.
4. Distilled, deionized, Type II water or equivalent.

TEST CONDITION

Below is a general example of the Ultra N-geneous® HDL Cholesterol assay procedure for an automated analyzer.

Sample	+	Reagent 1	37°C		Measurement (absorbance
3µL		300µL	→	5 min	difference between
					700nm and 600nm)
Reagent 2	+	→	37°C		Measurement (absorbance
100µL			→	5 min	difference between
					700nm and 600nm) → HDL-C
					Result

For assistance with applications on automated analyzers, please contact SEKISUI Diagnostics Technical Services at 800-565-0265. Outside Canada and the U.S., please contact your local distributor.

CALIBRATION

The SEKISUI Diagnostics Ultra N-geneous® HDL Cholesterol Calibrator or the HDL Ultra Cholesterol Calibrator is required for calibration. The value of the HDL cholesterol calibrator was assigned by procedures traceable to the CDC HDL cholesterol reference method.^{20,21} Refer to the Ultra N-geneous® HDL Cholesterol Calibrator or the HDL Ultra Cholesterol kit package insert for instructions. Refer to the instrument operator's manual for analyzer specific procedures and for guidance in determining calibration frequency.

Quality Control values should be within the expected range

QUALITY CONTROL

Reliability of test results should be routinely monitored with control sera or quality control materials that reasonably emulate performance on patient specimens.¹¹ An acceptable range of HDL cholesterol values should be established by each laboratory. If control values are not within the expected range, confirm that procedures were performed correctly and follow normal troubleshooting measures. If assistance is required call SEKISUI Diagnostics Technical Services at (800)565-0265.

Quality control requirements should be established in accordance with local, state, and/or federal regulations or accreditation requirements.

REFERENCE INTERVALS

The following NCEP cutpoints for patient classification are used to assess the risk and management of coronary heart disease.^{10,16}

Males:	30 - 70 mg/dL
Females:	30 - 85 mg/dL

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

RESULTS

To convert from conventional units to S.I. units, multiply the conventional units by 0.0259

$$\text{mg/dL} \times 0.0259 = \text{mmol/L HDL-Cholesterol}$$

REPORTABLE RANGE

Linearity studies were conducted using a cholesterol linearity verifier. Linearity samples were prepared according to the package insert instructions. The Ultra N-geneous® HDL Cholesterol reagent was found to be linear from 2.5 mg/dL to 200 mg/dL with a deviation from the linear line of less than or equal to 4 mg/dL or 5%. Patient samples with HDL cholesterol levels exceeding 200 mg/dL should be diluted with physiological saline before assaying. Multiply the result obtained from the manual dilution by the appropriate dilution factor.

PRECISION STUDIES

Within-run precision for the Ultra N-geneous® HDL Cholesterol method was determined using three levels of frozen pooled human serum. Each run consisted of twenty replicate samples. Within-run precision studies produced the following results on the Hitachi 911 Analyzer:

Serum Pool	LOW	MID	HIGH
n	20	20	20
Mean (mg/dL)	32.9	50.6	101.4
Standard Deviation (mg/dL)	0.3	0.2	0.7
Coefficient of Variation (%)	0.8	0.5	0.7

Between-run precision was determined using three levels of frozen pooled human serum. The Ultra N-geneous® HDL Cholesterol assay was run in duplicate and analyzed twice per day over 10 days. Between-run precision studies produced the following results:

Serum Pool	LOW	MID	HIGH
n	40	40	40
Mean HDL Cholesterol(mg/dL)	32.8	50.0	100.1
Standard Deviation (mg/dL)	0.4	0.7	1.1
Coefficient of Variation (%)	1.3	1.5	1.1

TOTAL ERROR DETERMINATION

Total error^{11,17,18} is a measure of the overall analytical performance of an assay, and combines both accuracy and precision. Total error is equal to the % Bias + 1.96 x the Total C.V. (CV_T).¹⁹ The % Bias of the Ultra N-geneous® HDL Cholesterol assay was calculated using the linear regression formula, derived from the comparison of the Ultra N-geneous® HDL Cholesterol method to the Designated Comparison Method for HDL cholesterol shown above.^{17,18} The CV is calculated as $CV_T = (CV_b^2 + CV_w^2)^{1/2}$.¹⁹ The results of the total error analysis for the Ultra N-geneous® HDL Cholesterol assay on the Hitachi 911 Analyzer at low, medium and high HDL Cholesterol levels using samples with triglycerides <400 mg/dL are shown below.

HDL Cholesterol Concentration	% Bias	Total CV	Total Error
30 mg/dL	8.05%	1.53%	11.05%
50 mg/dL	4.31%	1.58%	7.40%
80 mg/dL	2.21%	1.29%	4.73%

ACCURACY

Accuracy of the Ultra N-geneous® HDL Cholesterol method was verified by comparison to the Designated Comparison Method (DCM) for HDL cholesterol¹² and the previous Liquid N-geneous® HDL Cholesterol Assay.

Studies comparing the Ultra N-geneous® HDL Cholesterol Assay to the DCM produced the following results on the Hitachi 911 Analyzer:

Method	Ultra N-geneous® HDL Cholesterol	Designated Comparison Method (DCM)
n	52	52
Mean (mg/dL)	58.3	56.3
Range (mg/dL)	33.6-133.0	32.0-133.0
Regression Analysis	Ultra = 0.99(DCM) + 2.81 mg/dL	
Correlation Coefficient	0.996	

Studies comparing the Ultra N-geneous® HDL Cholesterol method to the previous Liquid N-geneous® HDL method produced the following results:

Method	Ultra N-geneous® HDL Cholesterol	Liquid N-geneous® HDL Cholesterol
n	101	101
Mean (mg/dL)	56.4	54.2
Range (mg/dL)	33.6-133.0	31.5-132.8
Regression Analysis	Ultra = 0.98 (Liquid) + 3.42 mg/dL	
Correlation Coefficient	0.996	

OTHER PERFORMANCE STUDIES

In a study comparing the Ultra N-geneous® HDL Cholesterol method to the Reference Method (RM) for HDL cholesterol (ultracentrifugation, chemical precipitation and Abell-Kendall cholesterol analysis)¹¹ 41 patient specimens with elevated triglyceride values (triglyceride levels greater than the 95th percentile) were analyzed. The correlation coefficient for this study was r = 0.968 and the regression equation was Ultra N-geneous® HDL Cholesterol = 1.01 RM - 2.48 mg/dL. Patient specimens with triglyceride levels up to 2,000 mg/dL may be used.

Separate studies comparing the lyophilized N-geneous® HDL Cholesterol assay to the phosphotungstic acid (PTA) precipitation method at three Physician's Office Laboratories (POL) produced the following results:

POL Current Method	POL Site 1	POL Site 2	POL Site 3
n	40	42	40
N-geneous® Mean (mg/dL)	47	45	58
N-geneous® Range (mg/dL)	24.4-89.7	28.3-94.9	25.8-97.1
Slope	0.88	1.05	0.77
Intercept (mg/dL)	2.90	-1.32	11.10
Correlation Coefficient	0.97	0.99	0.98

Within-run precision at the three POL sites was determined using three levels of frozen pooled human serum. Each run consisted of twenty replicate samples.

Within-run precision studies at the three POL sites produced the following results:

Serum Pool	LOW <35 mg/dL	MID 35-60 mg/dL	HIGH >60 mg/dL
POL Site 1	n=20	n=20	n=20
Mean (mg/dL)	19.5	44.1	70.8
S.D. (mg/dL)	0.6	1.8	1.1
C.V. (%)	2.9	4.0	1.5
POL Site 2	n=20	n=20	n=20
Mean (mg/dL)	29.5	49.3	71.5
S.D. (mg/dL)	1.8	2.4	3.6
C.V. (%)	6.2	4.8	5.1
POL Site 3	n=20	n=20	n=20
Mean (mg/dL)	33.3	45.6	76.8
S.D. (mg/dL)	0.3	0.4	0.5
C.V. (%)	1.0	0.8	0.7

Note: Each site received a unique set of three serum pools.

Between-run precision was determined at three POL sites using three levels of frozen pooled human serum. The N-geneous® HDL Cholesterol assay was run in duplicate over multiple days. Between-run precision studies produced the following results:

Serum Pool	LOW <35 mg/dL	MID 35-60 mg/dL	HIGH >60 mg/dL
POL Site 1	n=16	n=16	n=16
Mean (mg/dL)	19.0	41.2	65.3
S.D. (mg/dL)	1.3	1.8	3.4
C.V. (%)	6.9	4.5	5.2
POL Site 2	n=20	n=20	n=20
Mean (mg/dL)	25.7	46.4	68.2
S.D. (mg/dL)	1.4	1.6	2.4
C.V. (%)	5.3	3.4	3.5
POL Site 3	n=40	n=40	n=40
Mean (mg/dL)	33.6	45.7	76.2
S.D. (mg/dL)	0.8	0.9	1.5
C.V. (%)	2.4	2.0	2.0

Note: Each site received a unique set of three serum pools.

All other trademarks are the property of their respective owners.

FR

ULTRA N-geneous® HDL CHOLESTEROL REAGENT

NUMÉRO DE CATALOGUE : 80-6283-00
80-6277-00

TAILLE : R1 750 mL
R2 250 mL

Remarque : les changements sont mis en évidence.

UTILISATION PRÉVUE

Pour la mesure quantitative de la concentration de cholestérol des lipoprotéines à haute densité (HDL-C) dans le sérum humain ou le plasma.

RÉSUMÉ DES TESTS

Les lipoprotéines du plasma sont des particules sphériques contenant des quantités variables de cholestérol, de triglycérides, de phospholipides et de protéines. Les phospholipides, le cholestérol libre et la protéine constituent la surface extérieure de la particule de lipoprotéine, alors que le noyau interne contient surtout du cholestérol estérifié et des triglycérides. Ces particules servent à solubiliser et à transporter le cholestérol et les triglycérides dans le courant sanguin.

Les proportions relatives de protéines et de lipides déterminent la densité de ces lipoprotéines et forment une base sur laquelle commencer leur classification.¹ Ces classes sont : chylomicron, lipoprotéine à très faible densité (VLDL), lipoprotéine à faible densité (LDL) et lipoprotéine à haute densité (HDL). De nombreuses études cliniques ont montré que les différentes classes de lipoprotéines ont des effets très distincts et variés sur le risque de coronaropathie.²

Le principal rôle du HDL dans le métabolisme des lipides est le captage et le transport du cholestérol des tissus périphériques vers le foie par un processus connu sous le nom de transport inverse du cholestérol (un mécanisme cardioprotecteur proposé).³ Des niveaux faibles de HDL-C sont fortement associés à un risque accru de coronaropathie et de maladie coronarienne.^{4,9} Par conséquent, la détermination du sérum HDL-C est un outil utile pour déterminer les patients à haut risque.

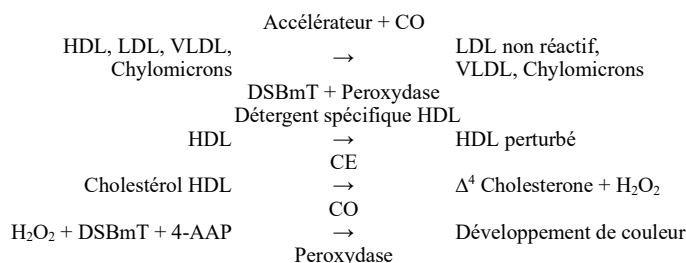
La méthode de référence pour la quantification du HDL-C combine l'ultracentrifugation et la précipitation chimique pour séparer le HDL des autres lipoprotéines, suivi de la mesure du cholestérol par la méthode Abell-Kendall.¹¹ Les premières méthodes de routine largement utilisées par les laboratoires impliquaient la précipitation sélective et le retrait du LDL et du VLDL, suivi par la mesure enzymatique du HDL-C dans la fraction surnageante.¹¹ Puisque ces méthodes nécessitaient un prétraitement hors ligne et des étapes de préparation, les procédures de dosage ne pouvaient pas être entièrement automatisées. Ainsi, la détermination de routine du HDL-C a souffert de temps de traitement longs et d'une faible reproductibilité.

PRINCIPE DU TEST

Le dosage Ultra N-geneous® HDL Cholesterol est une méthode homogène pour mesurer directement les concentrations de HDL-C dans le sérum ou le plasma sans avoir besoin d'un prétraitement hors ligne ou d'étapes de centrifugation.

La méthode est dans un format à deux réactifs et dépend des propriétés d'un détergent unique, comme illustré. Cette méthode est basée sur l'accélération de la réaction du cholestérol oxydase (CO) avec un cholestérol non HDL non estérifié et sur la dissolution sélective du HDL en utilisant un détergent spécifique. Dans le premier réactif, le cholestérol non HDL non estérifié est soumis à une réaction enzymatique et le peroxyde généré est consommé par une réaction peroxydase avec DSBmT donnant un produit sans couleur. Le second réactif consiste en un détergent capable de solubiliser le HDL spécifiquement, un cholestérol estérase (CE) et un coupleur chromogène pour développer une couleur pour la détermination quantitative du HDL-C. On peut désigner ce processus comme étant la méthodologie détergent sélectif et accélérateur.

Méthodologie détergent sélectif et accélérateur



RÉACTIFS

Composition des réactifs :

Composant	Ingrédients	Concentration
Réactif 1	Tampon	
	Cholestérol oxydase (Fr : <i>E. Coli</i>)	<1000 U/L
	Peroxydase (Fr : Raifort)	<1300 ppg U/L
	N,N -Bis(4-sulphobutyl)-m-toluidine- disodium(DSBmT)	<1 mM
	Accélérateur	<1 mM
	Préservatif	<0,06 %
Réactif 2	Oxydase ascorbique (Fr : <i>Curcubita</i> sp.)	<3000 U/L
	Tampon	
	Cholestérol estérase (Fr : <i>Pseudomonas</i> sp.)	<1500 U/L
	4-Aminoantipyrine (4-AAP)	<1 mM
	Détergent	<2 %
	Préservatif	

PRÉCAUTIONS ET MISES EN GARDE RELATIVES À L'EMPLOI



Pour usage diagnostique *in vitro*

ROONLY

Ultra N-geneous® HDL Cholesterol Reagent #1



Attention

Contient : masse de réaction de 5-chloro-2-méthyl-2H-isothiazol-3-one et de 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one (3:1) (N° CAS) 55965-84-9

Mentions de danger

H317 - Peut provoquer une allergie cutanée.

Conseils de prudence

P261 - Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.

P272 - Les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail.

P280 - Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

P302+P352 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : laver abondamment à l'eau.

P321 - Traitement spécifique (voir les instructions complémentaires de premiers secours sur cette étiquette).

P333+P313 - En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin.

P362+P364 - Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.

P501 - Éliminer le contenu/récipient dans un centre de collecte de déchets dangereux ou spéciaux, conformément à la réglementation locale, régionale, nationale et/ou internationale.

Ultra N-geneous® HDL Cholesterol Reagent #2



Attention

Contient : masse de réaction de 5-chloro-2-méthyl-2H-isothiazol-3-one et de 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one (3:1) (N° CAS) 55965-84-9

Mentions de danger

H317 - Peut provoquer une allergie cutanée.

Conseils de prudence

P261 - Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.

P272 - Les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail.

P280 - Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

P302+P352 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : laver abondamment à l'eau.

P321 - Traitement spécifique (voir les instructions complémentaires de premiers secours sur cette étiquette).

P333+P313 - En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin.

P362+P364 - Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.

P501 - Éliminer le contenu/récipient dans un centre de collecte de déchets dangereux ou spéciaux, conformément à la réglementation locale, régionale, nationale et/ou internationale.

Ne pas pipetter par la bouche.

Tous les échantillons utilisés dans le test doivent être considérés comme potentiellement infectieux. Utiliser les précautions universelles en vigueur dans votre établissement pour manipuler et mettre au rebut les produits pendant et après le test.

Ne pas utiliser les réactifs après la date d'expiration imprimée sur l'étiquette du réactif.

Le réactif Ultra N-geneous® HDL Cholesterol doit être utilisé avec le calibrateur Ultra N-geneous® HDL Cholesterol ou le calibrateur HDL Ultra Cholesterol.

Voir la fiche signalétique pour plus d'informations.

PRÉPARATION, CONSERVATION ET STABILITÉ DU RÉACTIF

Réactif 1 : prêt à l'emploi tel qu'emballé.

Réactif 2 : prêt à l'emploi tel qu'emballé.

Conserver les réactifs Ultra N-geneous® HDL Cholesterol à 2-8 °C.

Les réactifs non ouverts sont stables jusqu'à la date d'expiration sur l'étiquette de la bouteille de réactif.

Le réactif 1 est stable ouvert sur l'analyseur durant 4 semaines à 2-8 °C.

Le réactif 2 est stable ouvert sur l'analyseur durant 4 semaines à 2-8 °C.

NE PAS CONGELER

DÉTÉRIORATION DU RÉACTIF

Les signes suivants indiquent une détérioration :

Incapacité à recouvrer les valeurs de contrôle.

Présence de turbidité.

ÉLIMINATION

Les réactifs doivent être éliminés conformément à toutes les réglementations locale, fédérale, provinciale et de l'État.

SPÉCIMEN

Les échantillons requis sont le sérum, le plasma traité EDTA ou hépariné prélevé du patient après un jeûne de 12 à 14 heures.

Sérum : recueillir le sang total par ponction veineuse et laisser coaguler. Centrifuger et enlever le sérum aussitôt que possible après la collecte (dans les 3 heures).¹¹

Plasma : les échantillons peuvent être recueillis avec l'EDTA, l'héparine au lithium ou au sodium. Centrifuger et enlever le plasma aussitôt que possible après la collecte (dans les 3 heures).¹¹

Le sérum ou le plasma ne devraient pas demeurer à 15-30 °C durant plus de 14 heures. Si les dosages ne sont pas complétés dans les 14 heures, le sérum ou le plasma devrait être conservé à 2-8 °C jusqu'à 1 semaine. Si les échantillons doivent être stockés durant plus d'une semaine, ils peuvent être conservés à moins de -70 °C durant au plus 3 mois. Les échantillons peuvent être congelés une fois. Se référer au

document NCCLS H18-A pour de plus amples instructions sur la collecte d'échantillons, leur manipulation et leur stockage.

SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

Toutes les études d'interférences ont été menées conformément à une directive NCCLS modifiée No. EP7 pour les tests d'interférences en chimie clinique.¹³

Substances testées

Concentration sans interférence significative (±10 %)

Bilirubine (directe)	60 mg/dL
Bilirubine (totale)	60 mg/dL
Hémoglobine	1000 mg/dL
Acide ascorbique	100 mg/dL
Lipémie en utilisant Intralipid®	1800 mg/dL
Gamma-globulines	5000 mg/dL

Se référer aux travaux de Young pour une révision des effets des médicaments sur les niveaux de cholestérol HDL dans le sérum.¹⁴

Les échantillons contenant des taux élevés d'immunoglobuline M (IgM) ou les échantillons provenant de patients atteints de macroglobulinémie de Waldenström peuvent donner des résultats peu fiables.

Limites

1. Les anticoagulants contenant du citrate ne devraient pas être utilisés.
2. Protéger les réactifs de la lumière directe du soleil.
3. Conserver les réactifs à 2-8 °C. Ne pas congeler les réactifs.
4. Le NCEP recommande qu'un traitement diététique et/ou médicamenteux ne soit pas basé sur un seul résultat de cholestérol HDL.
5. Lipémie : aucune interférence causée par Intralipid® jusqu'à 1800 mg/dL.
6. Les niveaux de triglycéride endogène ont donné une performance acceptable jusqu'à 2000 mg/dL. Les échantillons avec un niveau de triglycéride >2000 mg/dL ne devraient pas être dilués.
7. On rapporte que les échantillons de patients avec un foie cirrhotique donnent des résultats HDL plus faibles que ceux obtenus selon la méthode de référence.¹⁵
8. Les échantillons contenant l'élément suivant ne doivent pas être utilisés : N-acétylcystéine (NAC).

PROCÉDURE ANALYTIQUE

MATÉRIEL FOURNI

Les réactifs 1 et 2 Ultra N-geneous® HDL Cholesterol sont nécessaires pour mesurer le cholestérol HDL. Les réactifs Ultra N-geneous® HDL Cholesterol sont emballés et vendus séparément. L'un ou l'autre des articles ci-dessus peuvent être inclus dans l'emballage que vous recevez.

Description	Volume par bouteille	Numéro de catalogue
Réactif 1 Ultra N-geneous® HDL Cholesterol	750 mL	80-6283-00
Réactif 2 Ultra N-geneous® HDL Cholesterol	250 mL	80-6277-00

MATÉRIEL REQUIS (MAIS NON FOURNI)

Description	Configuration	Numéro de catalogue
Calibrateur Ultra N-geneous® HDL Cholesterol	6 x 1 mL	80-6449-00
Calibrateur HDL Ultra Cholesterol	3 x 1 mL	6272-3

1. Les sérums de contrôle de cholestérol HDL ou du matériel de contrôle de qualité (Voir « Procédures de contrôle de qualité »).
2. Automate d'analyse de chimie clinique pouvant effectuer des analyses biochimiques à deux réactifs.
3. Pipettes volumétriques classe A.
4. Eau distillée, déminéralisée, Type II ou équivalent.

CONDITIONS DU TEST

Voici un exemple général de procédure de dosage Ultra N-geneous® HDL Cholesterol pour un analyseur automatique.

Échantillon 3 µL	+ Réactif 1 300 µL	37 °C → 5 min	Mesure (différence d'absorbance entre 700 nm et 600 nm)	
Réactif 2 100 µL	+ 37 °C → 5 min	Mesure (différence d'absorbance entre 700 nm et 600 nm)	→	Résultat HDL-C

Pour tout renseignement complémentaire concernant les applications sur les automates d'analyses, contacter SEKISUI Diagnostics Technical Services au 800-565-0265. À l'extérieur du Canada et des États-Unis, prendre contact avec votre distributeur local.

ÉTALONNAGE

Le calibrateur Ultra N-geneous® HDL Cholesterol ou le calibrateur HDL Ultra Cholesterol de SEKISUI Diagnostics est requis pour la calibration. La valeur du calibrateur de cholestérol HDL a été assignée par les procédures traçables de la méthode de référence du cholestérol HDL du CDC.^{20,21} Se référer à la notice de l'ensemble de calibrateur Ultra N-geneous® HDL Cholesterol ou le HDL Ultra Cholesterol pour les instructions. Consulter le manuel d'utilisation de l'instrument pour les procédures spécifiques de l'automate d'analyses et les directives de calcul de la fréquence de calibration.

Les valeurs de contrôle de qualité devraient se trouver dans les limites de la fourchette prévue.

CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

La fiabilité des résultats de test devrait être surveillée de façon routinière avec un sérum de contrôle ou des matériaux de contrôle de qualité qui imitent raisonnablement la performance des échantillons de patients.¹¹ Une plage de valeurs de cholestérol HDL acceptable devrait être établie par chaque laboratoire. Si les valeurs de contrôle ne sont pas à l'intérieur de la plage attendue, confirmer que les procédures ont été effectuées correctement et suivre les mesures de dépannage normales. Pour obtenir de l'aide, contacter SEKISUI Diagnostics Technical Services au 800-565-0265.

Les exigences de contrôle de qualité devraient être établies en accord avec les réglementations locales, régionales et/ou fédérales ou avec les exigences d'accréditation.

INTERVALLES DE RÉFÉRENCE

Les seuils suivant du NCEP pour la classification de patient sont utilisés pour évaluer le risque et pour la gestion de la coronaropathie.^{10,16}

Hommes:	30 - 70 mg/dL
Femmes:	30 - 85 mg/dL

CARACTÉRISTIQUES LIÉES AU COMPORTEMENT

RÉSULTATS

Pour convertir des unités conventionnelles aux unités SI, multiplier les unités conventionnelles par 0,0259

$$\text{mg/dL} \times 0,0259 = \text{mmol/l de cholestérol HDL}$$

INTERVALLE DE SIGNALLEMENT

Des études de linéarité ont été menées à l'aide du vérificateur de linéarité de cholestérol. Les échantillons de linéarité ont été préparés conformément aux instructions de la notice. Le réactif Ultra N-geneous® HDL Cholesterol a été déterminé comme étant linéaire de 2,5 mg/dL à 200 mg/dL avec une déviation de la ligne linéaire inférieure ou égale à 4 mg/dL ou 5 %. Les échantillons de patients avec des niveaux de cholestérol HDL excédant 200 mg/dL devraient être dilués avec une solution physiologique avant le dosage. Multiplier le résultat obtenu de la dilution manuelle par le facteur de dilution approprié.

ÉTUDES DE PRÉCISION

À l'intérieur de chaque lot, la précision de la méthode Ultra N-geneous® HDL Cholesterol a été déterminée en utilisant trois niveaux de mélanges de sérums humains congelés. Chaque lot consistait en vingt échantillons reproduits. Les études de précision pour chaque lot ont donné les résultats suivants pour l'analyseur Hitachi 911 :

Mélange de sérum	FAIBLE	MOYEN	ÉLEVÉ
n	20	20	20
Moyenne (mg/dL)	32,9	50,6	101,4
Déviat. standard (mg/dL)	0,3	0,2	0,7
Coefficient de variation (%)	0,8	0,5	0,7

La précision entre les lots a été déterminée en utilisant trois niveaux de mélanges de sérums humains congelés. Le dosage Ultra N-geneous® HDL Cholesterol a été effectué en double et analysé deux fois par jour durant 10 jours. Les études de précision entre les lots ont donné les résultats suivants :

Mélange de sérum	FAIBLE	MOYEN	ÉLEVÉ
n	40	40	40
Cholestérol HDL moyen (mg/dL)	32,8	50,0	100,1
Déviat. standard (mg/dL)	0,4	0,7	1,1
Coefficient de variation (%)	1,3	1,5	1,1

DÉTERMINATION DE L'ERREUR TOTALE

L'erreur totale^{11,17,18} est une mesure de la performance analytique globale pour un dosage et combine l'exactitude et la précision. L'erreur totale est égale au % de tendance + 1,96 x le C.V. total (CVT).¹⁹ Le % de tendance du dosage Ultra N-geneous® HDL Cholesterol a été calculé en utilisant la formule de régression linéaire, dérivée d'une comparaison de la méthode Ultra N-geneous® HDL Cholesterol à la méthode de comparaison désignée pour le cholestérol HDL montrée ci-dessus.^{17,18} Le CV est calculé comme $CV_T = (CV_B^2 + CV_W^2)^{1/2}$.¹⁹ Les résultats de l'analyse d'erreur totale pour le dosage Ultra N-geneous® HDL Cholesterol sur l'analyseur Hitachi 911 aux niveaux de cholestérol HDL faible, moyen et élevé en utilisant des échantillons avec des triglycérides <400 mg/dL sont montrés ci-dessous.

Concentration de cholestérol HDL	% de tendance	CV total	Erreur totale
30 mg/dL	8,05 %	1,53 %	11,05 %
50 mg/dL	4,31 %	1,58 %	7,40 %
80 mg/dL	2,21 %	1,29 %	4,73 %

EXACTITUDE

L'exactitude de la méthode Ultra N-geneous® HDL Cholesterol a été vérifiée en comparaison avec la méthode de comparaison désignée (MCD) pour le cholestérol HDL¹² et le dosage précédent par Liquid N-geneous® HDL Cholesterol.

Des études comparant le dosage Ultra N-geneous® HDL Cholesterol à la MCD ont donné les résultats suivants sur l'analyseur Hitachi 911 :

Méthode	Ultra N-geneous® HDL Cholesterol	Méthode de comparaison désignée (MCD)
n	52	52
Moyenne (mg/dL)	58,3	56,3
Plage (mg/dL)	33,6-133,0	32,0-133,0
Analyse de régression	Ultra = 0,99 (MCD) + 2,81 mg/dL	
Coefficient de corrélation	0,996	

Des études comparant la méthode Ultra N-geneous® HDL Cholesterol à la méthode précédente Liquid N-geneous® HDL ont donné les résultats suivants :

Méthode	Ultra N-geneous® HDL Cholesterol	Liquid N-geneous® HDL Cholesterol
n	101	101
Moyenne (mg/dL)	56,4	54,2
Plage (mg/dL)	33,6-133,0	31,5-132,8
Analyse de régression	Ultra = 0,98 (Liquid) + 3,42 mg/dL	
Coefficient de corrélation	0,996	

AUTRES ÉTUDES DE PERFORMANCE

Dans une étude comparant la méthode Ultra N-geneous® HDL Cholesterol à la méthode de référence (MR) pour le cholestérol HDL (ultracentrifugation, précipitation chimique et analyse de cholestérol Abell-Kendall)¹¹, 41 échantillons de patients avec des valeurs de triglycéride élevées (niveaux de triglycérides plus grands que le 95e percentile) ont été analysés. Le coefficient de corrélation pour cette étude était $r = 0,968$ et l'équation de régression était Ultra N-geneous® HDL Cholesterol = $1,01 \text{ MR} - 2,48 \text{ mg/dL}$. Les échantillons de patient avec des niveaux de triglycérides jusqu'à 2 000 mg/dL peuvent être utilisés.

Des études distinctes comparant le dosage N-geneous® HDL Cholesterol lyophilisé à la méthode de précipitation de l'acide phosphotungstique (APT) dans trois laboratoires de cabinet médical (LCM) ont donné les résultats suivants :

Méthode actuelle LCM	LCM Site 1	LCM Site 2	LCM Site 3
n	40	42	40
N-geneous® moyen (mg/dL)	47	45	58
Plage N-geneous® (mg/dL)	24,4-89,7	28,3-94,9	25,8-97,1
Pente	0,88	1,05	0,77
Point d'intersection (mg/dL)	2,90	-1,32	11,10
Coefficient de corrélation	0,97	0,99	0,98

À l'intérieur de chaque lot, la précision dans les trois sites LCM a été déterminée en utilisant trois niveaux de mélanges de sérums humains congelés. Chaque lot consistait en vingt échantillons reproduits.

Les études de précision pour chaque lot dans les trois sites LCM ont donné les résultats suivants :

Mélange de sérum	FAIBLE <35 mg/dL	MOYEN 35-60 mg/dL	ÉLEVÉ >60 mg/dL
Site LCM 1	n=20	n=20	n=20
Moyen (mg/dL)	19,5	44,1	70,8
D.S. (mg/dL)	0,6	1,8	1,1
C.V. (%)	2,9	4,0	1,5
Site LCM 2	n=20	n=20	n=20
Moyen (mg/dL)	29,5	49,3	71,5
D.S. (mg/dL)	1,8	2,4	3,6
C.V. (%)	6,2	4,8	5,1
Site LCM 3	n=20	n=20	n=20
Moyen (mg/dL)	33,3	45,6	76,8
D.S. (mg/dL)	0,3	0,4	0,5
C.V. (%)	1,0	0,8	0,7

Remarque : chaque site a reçu un ensemble unique de trois mélanges de sérum.

La précision entre les lots a été déterminée dans les trois sites LCM en utilisant trois niveaux de mélanges de sérums humains congelés. Le dosage N-geneous® HDL Cholesterol a été effectué en double durant plusieurs jours. Les études de précision entre les lots ont donné les résultats suivants :

Mélange de sérum	FAIBLE <35 mg/dL	MOYEN 35-60 mg/dL	ÉLEVÉ >60 mg/dL
Site LCM 1	n=16	n=16	n=16
Moyen (mg/dL)	19,0	41,2	65,3
D.S. (mg/dL)	1,3	1,8	3,4
C.V. (%)	6,9	4,5	5,2
Site LCM 2	n=20	n=20	n=20
Moyen (mg/dL)	25,7	46,4	68,2
D.S. (mg/dL)	1,4	1,6	2,4
C.V. (%)	5,3	3,4	3,5
Site LCM 3	n=40	n=40	n=40
Moyenne (mg/dL)	33,6	45,7	76,2
D.S. (mg/dL)	0,8	0,9	1,5
C.V. (%)	2,4	2,0	2,0

Remarque : chaque site a reçu un ensemble unique de trois mélanges de sérum.

Toutes les marques de commerce sont la propriété de leurs propriétaires respectifs.

Symbols / Symboles

LOT

Batch Code
Numéro de lot



Manufacturer
Fabricant



Consult instructions for use
Consulter les directives d'utilisation

IVD

In vitro diagnostic medical device
Appareil médical de diagnostic *in vitro*



Use by Date
YYYY-MM-DD or YYYY-MM
Date limite d'utilisation
AAAA-MM-JJ ou AAAA-MM

REF

Catalog number
Numéro de catalogue



Temperature limit
Limite de température



Exclamation mark
Point d'exclamation

R_x ONLY

For use by or on the order of a physician only (applicable to USA classification only)
Pour une utilisation uniquement par ou sur ordre d'un médecin (applicable uniquement à la classification des États-Unis)

REFERENCES / RÉFÉRENCES

1. Gotto, AM, Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia, Hospital Practice, 23; Suppl. 1, 4 (1988).
2. Crouse, JR et al., Studies of low density lipoprotein molecular weight in human beings with coronary artery disease, J. Lipid Res., 26:566 (1985).
3. Badimon, JJ, Badimon, L., Fuester V., Regression of Atherosclerotic Lesions by High Density Lipoprotein Plasma Fraction in the Cholesterol-Fed Rabbit, Journal of Clinical Investigation, 1990; 85:1234-41.
4. Castelli, WP et al., HDL Cholesterol and other lipids in coronary heart disease, Circulation, 55:767 (1977).
5. Barr, DP, Russ EM, Eder, HA, Protein-lipid relationships in human plasma, Am. J. Med., 11; 480 (1951).
6. Gordon, T. et al., High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease, Am. J. Med., 62:707 (1977).
7. Williams, P., et al, High density lipoprotein and coronary risk factor, Lancet, 1; 72, (1979).
8. Kannel, WB, Castelli, WP, Gordon, T., Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease; New perspectives based on the Framingham study, Ann. Intern. Med., 90:85, (1979).
9. National Institutes of Health publication No. 93-3095, September, (1993).

10. Special Communication, 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, Vol. 285, No. 19, May 16, 2001, pages 2486 – 2497.
11. Warnick, GR, Wood, PD, National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol: Executive Summary, Clinical Chemistry, Vol. 41, No. 10, 1427-1433 (1995).
12. Kimberly MM, Leary ET, Cole TG and Waymack PP. Selection, validation, standardization, and performance of a designated comparison method for HDL-cholesterol for use in the cholesterol reference method laboratory network. Clin Chem 1999; 45:1803-12.
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation Protocol Number 7, Vol. 6, No. 13, August (1986).
14. Young, DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 3rd ed., AAC Press, Washington, DC, 1990, 3-104 thru 3-106.
15. Camps, J, Altered Composition of Lipoproteins in Liver Cirrhosis Compromises Three Homogeneous Methods for HDL-Cholesterol, Clinical Chemistry, 1999; 45:685-688.
16. Tietz, NW, Clinical Guide to Laboratory Tests, WB Saunders Co., Philadelphia, 1986, p. 256.
17. Carey RN, Garber CC. Evaluation of methods. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry: theory, analysis and correlation. Third Edition. St. Louis: The CV Mosby Company, St. Louis, MO., 1996: 402-423.
18. Westgard JO, Carey RN, Wold S. Criteria for judging precision and accuracy in method development and evaluation. Clinical Chemistry 1974; 20:825-833.
19. Bachorik PS, Ross JW, for the National Cholesterol Education Program Working Group on Lipoprotein Measurements. National Cholesterol Education Program recommendations for measurement of low-density lipoprotein cholesterol: executive summary. Clin Chem 1995, 41:1414-1433.
20. National Reference system for Cholesterol. CRMLN HDL Cholesterol Protocol, November 2002.
21. Kimberly MM, Leary ET, Cole TG, Waymack PW. Selection, validation, standardization, and performance of a designated comparison method for HDL-cholesterol for use in the Cholesterol Reference Method Laboratory Network. Clinical Chemistry 1999; 45:1803-12.

N-geneous® is a registered trademark of SEKISUI Diagnostics, LLC
©2023 SEKISUI Diagnostics, LLC - All rights reserved.

Licensed under PCT/JP00/03860 and PCT/JP97/04442
Intralipid® is a registered trademark of Fresenius Kabi Nutrition AB

N-geneous® est une marque de commerce déposée de SEKISUI Diagnostics, LLC
©2023 SEKISUI Diagnostics, LLC - Tous droits réservés.

Licencié sous PCT/JP00/03860 et PCT/JP97/04442
Intralipid® est une marque de commerce déposée de Fresenius Kabi Nutrition AB

The word SEKURE and the Sekure logo are trademarks of SEKISUI Diagnostics, LLC.

IN80627700-8
May 5, 2023

The Americas

SEKISUI Diagnostics P.E.I. Inc.
70 Watts Avenue
Charlottetown, PE C1E 2B9
Canada
Phone: 800-565-0265
Fax: 902-628-6504
Email: questions@sekisuidiagnostics.com
techservices@sekisuidiagnostics.com

International

SEKISUI Diagnostics (UK) Limited
Liphook Way
Allington, Maidstone
KENT, ME16 0LQ, UK
Email: info@sekisuidiagnostics.com

SEKISUI
DIAGNOSTICS

sekisuidiagnostics.com