



LDL Colesterol

monofase AA

Para la determinación de LDL colesterol en suero o plasma

SIGNIFICACION CLINICA

Las lipoproteínas plasmáticas son partículas esféricas que contienen cantidades variables de colesterol, triglicéridos, fosfolípidos y proteínas. Estas partículas solubilizan y transportan el colesterol en el torrente sanguíneo.

La proporción relativa de proteína y lípido determina la densidad de estas lipoproteínas y provee las bases sobre las cuales establecer una clasificación. Estas clases son: quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL - Very Low Density Lipoproteins), lipoproteínas de baja densidad (LDL - Low Density Lipoproteins) y lipoproteínas de alta densidad (HDL - High Density Lipoproteins). Numerosos estudios clínicos han demostrado que las diferentes clases de lipoproteínas tienen distintos y variados efectos en el riesgo de enfermedad coronaria. Estos estudios señalan al LDL colesterol como el factor clave en la patogénesis de la aterosclerosis y la enfermedad cardíaca coronaria (ECC), mientras que el HDL colesterol es considerado como factor protector. Puede ocurrir un aumento en el LDL colesterol, aún con concentraciones normales de colesterol, asociado a un incremento en el riesgo de ECC.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El presente método es un ensayo homogéneo sin precipitación, en dos pasos. En el primero, se agrega un tensioactivo (Reactivo A) que solubiliza las partículas lipoproteicas no-LDL. El colesterol liberado es consumido por la colesterol esterasa y la colesterol oxidasa en una reacción sin desarrollo de color. Un segundo tensioactivo (Reactivo B) solubiliza las partículas de LDL formándose, por la presencia de enzimas y un Reactivo cromogénico, un color proporcional a la cantidad de LDL colesterol presente en la muestra.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución conteniendo colesterol esterasa 1000 U/l, colesterol oxidasa 1200 U/l, peroxidasa 1250 U/l, ascorbato oxidasa 3000 U/l, 4-aminoantipirina 1 g/l y tensioactivo 7 g/l en buffer MES 50 mM.

B. Reactivo B: solución conteniendo N,N-bis-(4-sulfobutil)-m-toluidina disódica (DSBmT) 0,4 g/l y tensioactivo 10 g/l en buffer MES 50 mM.

Calibrador: suero humano liofilizado conteniendo lipoproteínas de diversos tipos incluyendo LDL. La concentración es variable lote a lote (ver título en el rótulo).

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos A y B: listos para usar.

Calibrador: reconstituir con el volumen de agua destilada indicado

en el rótulo. Cerrar el vial y dejar 5 minutos. Luego disolver el contenido del vial por agitación suave evitando la formación de espuma.

PRECAUCIONES

- Los Reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".
- No pipetear con la boca.
- El Calibrador ha sido examinado para HBsAg, HCV y anticuerpo contra HIV 1/2, encontrándose no Reactivo. No obstante debe procesarse como si se tratara de material infeccioso.
- Utilizar los Reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.
- Todos los Reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Los Reactivos Provistos son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar. Una vez abierto los Reactivos son estables durante 4 semanas en refrigerador (2-10°C).

Calibrador: estable en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Una vez reconstituido es estable 2 semanas en refrigerador (2-10°C). Puede fraccionarse en alícuotas debiendo ser conservado a -80°C.

MUESTRA

Suero o plasma

- a) Recolección:** obtener la muestra de la manera usual.
- b) Aditivos:** en caso de que la muestra a emplear sea plasma usar EDTA o heparina como anticoagulantes.
- c) Sustancias interferentes conocidas:** no se encuentran interferencias por ácido ascórbico hasta 50 mg/dl, hemoglobina hasta 500 mg/dl, bilirrubina hasta 20 mg/dl y γ -globulina hasta 50 g/l. En caso de muestras con concentraciones superiores de interferentes, deberán diluirse con solución fisiológica antes de proceder a su ensayo, multiplicando el resultado obtenido por la dilución efectuada. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.
- d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** centrifugar y separar el suero del coágulo dentro de las 3 horas posteriores a la extracción. De no procesar las muestras inmediatamente, las mismas pueden ser conservadas durante 5 días en refrigerador (2-10°C).

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Material volumétrico para medir los volúmenes indicados.
- Analizador automático.

PROCEDIMIENTO

(analizadores automáticos)

A continuación se detalla un procedimiento general para **LDL Colesterol monofase AA** en un analizador automático. Cuando se implemente la técnica para un analizador en particular seguir las instrucciones de trabajo del mismo.

Muestra o Calibrador 3 ul

Reactivo A 300 ul

Incubación durante 5 minutos a 37°C. Lectura de absorbancia a 660/546 nm (Blanco de Muestra).

Reactivo B 100 ul

Incubación durante 5 minutos a 37°C. Lectura del resultado a 660/546 nm (concentración de LDL-colesterol).

CALIBRACION

El Calibrador debe procesarse junto con las muestras y en la misma forma que éstas. Las concentraciones del Calibrador se encuentran alrededor de los niveles de decisión médica y son variables lote a lote (ver título en el rótulo). Ingresar el valor de concentración del calibrador cada vez que se cambie de lote.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

LDL colesterol (mmol/l) = LDL colesterol (mg/dl) x 0,02586

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de LDL colesterol, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

El panel de expertos del National Cholesterol Education Program (NCEP) provee los siguientes valores de LDL colesterol en relación al riesgo de contraer enfermedad cardíaca coronaria (ECC):

- **Riesgo bajo o nulo** (sujetos normales): valores de LDL colesterol menores de 129 mg/dl.
- **Riesgo moderado a elevado** (individuos con probabilidad de contraer ECC): valores entre 130 y 189 mg/dl.
- **Riesgo muy elevado** (individuos sospechosos de padecer ECC): valores de LDL colesterol \geq 190 mg/dl.

No obstante, es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

No deben emplearse anticoagulantes que contengan citrato.

PERFORMANCE

a) Exactitud: la exactitud del método descrito se verificó por comparación con los valores obtenidos por el método de referencia de ultracentrifugación y análisis del colesterol y con el método directo de inmunoseparación de LDL.

Los resultados de la comparación fueron los siguientes:

Método	LDL Colesterol monofase AA	Referencia
Nº de muestras	54	54
promedio (mg/dl)	122,5	125,1
desvío standard (mg/dl)	30,7	30,9
coeficiente de correlación: 0,96		

Método	LDL Colesterol monofase AA	Método directo
Nº de muestras	92	92
promedio (mg/dl)	120,0	122,8
desvío standard (mg/dl)	30,5	31,6
coeficiente de correlación: 0,97		

b) Precisión: procesando simultáneamente 20 muestras en el mismo día se obtuvo la siguiente variación intraensayo:

Nivel	D.S.	C.V.
98,1 mg/dl	\pm 0,72 mg/dl	0,73 %
146,5 mg/dl	\pm 0,96 mg/dl	0,66 %
209,8 mg/dl	\pm 1,31 mg/dl	0,62 %

c) Límite de detección: 0,278 mg/dl.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

PRESENTACION

- 80 ml (1 x 60 ml + 1 x 20 ml), con Calibrador (Cód. 1220220)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), con Calibrador (Cód. 1009283)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), con Calibrador (Cód. 1009348)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), con Calibrador (Cód. 1008103)*
- 160 ml (2 x 60 ml + 2 x 20 ml), con Calibrador (Cód. 1009627)
- 160 ml (2 x 60 ml + 2 x 20 ml), con Calibrador (Cód. 1009935)

BIBLIOGRAFIA

- Crouse, J.R. et al. - J- Lipid Res. 26: 566, 1985.
- Barr, D.P.; Russ, E.M.; Eder, H.A. - Am. J. Med. 11:480, 1951.
- William, P. Robinson, D.; Baily, A. - Lancet 1:72, 1979.
- Kannel, W.B.; et al. - Am. Intern. Med. 90/1:85, 1979.
- Bachorik, P.S.; et al. - Clin. Chem. 41/10, 1995.
- Grundy, S.M. et al. - JAMA 269/23:3015, 1993.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Tietz, N.W. - W.B. Saunders Co., Philadelphia, p.256, 1986.
- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).

* Marcado CE pendiente



LDL Colesterol

monofase AA

Para a determinação de LDL-colesterol em soro ou plasma

SIGNIFICADO CLÍNICO

As lipoproteínas plasmáticas são partículas arredondadas que contém quantidades variáveis de colesterol, triglicerídeos, fosfolípidos e proteínas. Estas partículas solubilizam e transportam o colesterol no corrente sanguínea.

A proporção relativa de proteína e lípidos determina a densidade destas lipoproteínas e fornecem as bases sobre as quais pode-se estabelecer uma classificação. A mesma pode ser: quilomícrons, lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL - Very Low Density Lipoproteins), lipoproteínas de baixa densidade (LDL - Low Density Lipoproteins) e lipoproteínas de alta densidade (HDL - High Density Lipoproteins). Diferentes estudos clínicos demonstraram que as variadas classes de lipoproteínas tem diferentes e variados efeitos no risco de doenças coronárias. Estes estudos indicam que o LDL colesterol é a chave na patogenia da aterosclerose e da doença cardíaca coronária, enquanto o HDL colesterol é considerado fator protetor. Podem-se obter níveis altos de LDL colesterol, embora os níveis de colesterol sejam normais, o que se associa num aumento no risco de doença cardíaca coronária.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

O método se baseia num ensaio homogêneo em dois passos, sem precipitação. No primeiro passo se acrescenta um tensioativo (Reagente A) que solubiliza as partículas lipoproteicas não-LDL. O colesterol liberado é consumido pela colesterol esterase e a colesterol oxidase numa reação sem desenvolvimento de cor. Outro tensioativo (Reagente B) solubiliza as partículas de LDL formando, na presença de enzimas e um reagente cromogênico, uma cor proporcional à quantidade de LDL colesterol presente na amostra.

REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: solução contendo colesterol esterase 1000 U/l, colesterol oxidase 1200 U/l, peroxidase 1250 U/l, ascorbato oxidase 3000 U/l, 4-aminoantipirina 1 g/l e tensioativo 7 g/l em tampão MES 50 mM.

B. Reagente B: solução contendo N,N-bis-(4-sulfobutil)-m-toluidina dissódica (DSBmT) 0,4 g/l e tensioativo 10 g/l em tampão MES 50 mM.

Calibrador: soro humano liofilizado contendo lipoproteínas de diferentes tipos incluindo LDL, com concentração variável lote por lote (vide título no rótulo).

INSTRUÇÕES DE USO

Reagentes A e B: prontos para uso.

Calibrador: reconstituir com o volume de água destilada indicado no rótulo. Fechar o frasco e deixar repousar durante

5 minutos. Após dissolver o conteúdo do frasco agitando suavemente sem formar espuma.

PRECAUÇÕES

- Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".
- Não pipetar com a boca.
- O Calibrador foi examinado para HBsAg, vírus HCV e anticorpos contra HIV 1/2, encontrando-o não reativo. No entanto, deve-se processar como se tratando de material infectante.
- Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.
- Todos os reagentes e as amostras devem ser descartados conforme à regulação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Os Reagentes Fornecidos são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem. Não congelar.

Após abrirem, os reagentes são estáveis por 4 semanas sob refrigeração (2-10°C).

Calibrador: estável sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem. Após reconstituir, é estável por 2 semanas sob refrigeração (2-10°C). Pode-se fracionar em porções, devendo-as conservar a -80°C.

AMOSTRA

Soro ou plasma

a) Coleta: obter a amostra da maneira habitual.

b) Aditivos: se a amostra a utilizar for plasma, utilizar EDTA ou heparina como anticoagulante.

c) Substâncias interferentes conhecidas: não interferem ácido ascórbico até 50 mg/dl, hemoglobina até 500 mg/dl, bilirrubina até 20 mg/dl nem γ -globulina até 50 g/l. Se as amostras tivessem concentrações maiores às nomeadas, devem-se diluir com solução fisiológica antes de ensaiar. Multiplicar o resultado pela diluição efetuada.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: centrifugar e separar o soro do coágulo dentro das 3 horas após a coleta. Se as amostras não se processam logo, devem-se conservar durante 5 dias sob refrigeração (2-10°C).

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Material volumétrico para medir os volumes indicados.
- Analisador automático.

PROCEDIMENTO (analisador automático)	
O seguinte é um procedimento geral para LDL Colesterol monofase AA num analisador automático. Quando seja utilizada a técnica em um analisador determinado, deve-se seguir as instruções de trabalho do mesmo.	
Amostra ou Calibrador	3 ul
Reagente A	300 ul
Incubação durante 5 minutos a 37°C. Leitura de absorvância a 660/546 nm (Branco de Amostra).	
Reagente B	100 ul
Incubação durante 5 minutos a 37°C. Leitura do resultado a 660/546 nm (concentração de LDL-colesterol).	

CALIBRAÇÃO

O Calibrador deve-se processar junto com as amostras e da mesma maneira que estas. As concentrações do Calibrador encontram-se ao redor dos níveis de decisão médica e são variáveis lote por lote (vide título no rótulo). Deve-se ingressar o valor de concentração do calibrador quando mudar o lote.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

LDL colesterol (mmol/l) = LDL colesterol (mg/dl) x 0,02586

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Standatrol S-E 2 níveis**) com concentrações conhecidas de LDL colesterol, com cada determinação.

VALORES DE REFERÊNCIA

O painel de expertos do National Cholesterol Education Program (NCEP) fornece os seguintes valores de LDL colesterol na relação ao risco de contrair doenças cardíacas coronárias (DCC):

- **Risco baixo ou nulo** (indivíduos normais): valores de LDL colesterol < 129 mg/dl.
- **Risco moderado a elevado** (indivíduos com probabilidade de contrair DCC): valores de LDL colesterol entre 130 e 189 mg/dl.
- **Risco muito elevado** (indivíduos suspeitos de ter DCC): valores de LDL colesterol ≥ 190 mg/dl.

É recomendável que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. Não devem empregar-se anticoagulantes contendo citrato.

DESEMPENHO

a) Exatidão: a exatidão do método descrito foi conferido comparando os valores obtidos pelo método de referência de ultracentrifugação e análise do colesterol com aqueles do método direito de imunoseparação de LDL.

Método	LDL Colesterol monofase AA	Referência
Nº de amostras	54	54
média (mg/dl)	122,5	125,1
desvio padrão (mg/dl)	30,7	30,9
coeficiente de correlação: 0,96		

Método	LDL Colesterol monofase AA	Método direito
Nº de amostras	92	92
média (mg/dl)	120,0	122,8
desvio padrão (mg/dl)	30,5	31,6
coeficiente de correlação: 0,97		

b) Precisão: processando simultaneamente 20 amostras no mesmo dia, obteve-se a seguinte variação intra-ensaio.

Nível	D.P.	C.V.
98,1 mg/dl	± 0,72 mg/dl	0,73 %
146,5 mg/dl	± 0,96 mg/dl	0,66 %
209,8 mg/dl	± 1,31 mg/dl	0,62 %

c) Limite de detecção: 0,278 mg/dl.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para as instruções de programação deve-se consultar o manual de uso do analisador.

APRESENTAÇÃO

- 80 ml (1 x 60 ml + 1 x 20 ml), com Calibrador (Cód. 1220220)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), com Calibrador (Cód. 1009283)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), com Calibrador (Cód. 1009348)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), com Calibrador (Cód. 1008103)*
- 160 ml (2 x 60 ml + 2 x 20 ml), com Calibrador (Cód. 1009627)
- 160 ml (2 x 60 ml + 2 x 20 ml), com Calibrador (Cód. 1009935)

REFERÊNCIAS

- Crouse, J.R. et al. - J- Lipid Res. 26: 566, 1985.
- Barr, D.P.; Russ, E.M.; Eder, H.A. - Am. J. Med. 11:480, 1951.
- William, P. Robinson, D.; Baily, A. - Lancet 1:72, 1979.
- Kannel, W.B.; et al. - Am. Intern. Med. 90/1:85, 1979.
- Bachorik, P.S.; et al. - Clin. Chem. 41/10, 1995.
- Grundy, S.M. et al. - JAMA 269/23:3015, 1993.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCC Press, 4th ed., 2001.
- Tietz, N.W. - W.B. Saunders Co., Philadelphia, p.256, 1986.
- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).

* Marcação CE pendente



LDL Cholesterol

monofase AA

For LDL cholesterol determination in serum or plasma

SUMMARY

Plasma lipoproteins are spherical particles containing varying amounts of cholesterol, triglycerides, phospholipids and proteins. These particles solubilize and transport cholesterol into the bloodstream.

The relative proportion of protein and lipid determines the density of these lipoproteins and provides the basis to establish a classification. These classes are chylomicrons, very low-density lipoproteins (VLDL), low-density lipoproteins (LDL) and high-density lipoproteins (HDL). Numerous clinical studies have shown that the different lipoproteins classes have very distinct and varied effects on coronary heart disease risk. Such studies point out the LDL cholesterol as the key factor for the atherosclerosis pathogenesis and coronary heart disease (CHD), while HDL cholesterol is considered as a protective factor. An increase in LDL cholesterol may occur, even with normal cholesterol concentrations, associated to an increase in the CHD risk.

PRINCIPLE

The method consists in a two-step homogeneous assay without precipitation. In the first step, a surfactant is added (Reagent A) solubilizing non-LDL lipoprotein particles. The released cholesterol is consumed by cholesterol esterase and cholesterol oxidase in a reaction without color development. A second surfactant (Reagent B) solubilizes LDL particles forming a color proportional to the LDL cholesterol quantity present in sample, even in normal cholesterol concentrations.

PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: solution containing 1000 U/l cholesterol esterase, 1200 U/l cholesterol oxidase, 1250 U/l peroxidase, 3000 U/l ascorbate oxidase, 1 g/l 4-aminoantipyrine and 7 g/l surfactant in 50 mM MES buffer.

B. Reagent B: solution containing 0.4 g/l N,N-bis-(4-sulphobutyl)-m-disodium toluidine (DSBmT) and 10 g/l surfactant in 50 mM MES buffer.

Calibrator: lyophilized human serum containing different types of lipoproteins, including LDL. The concentration changes from batch to batch (see titer on label).

INSTRUCTIONS FOR USE

Reagent A and B: ready to use.

Calibrator: reconstitute with distilled water volume indicated on the label. Cap the vial and let stand it for 5 minutes. Then dissolve the vial content by gentle shaking avoiding foam formation.

WARNINGS

- Reagents are for "in vitro" diagnostic use.

- Do not pipette by mouth.
- The calibrator has been tested for HBsAg, HCV and antibody against HIV 1/2 being found non-reactive. Nonetheless, it should be handled as capable of transmitting infections.
- Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.
- The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents: are stable in refrigerator (2-10°C) until the expiration date shown on the box. Do not freeze. Once the reagents are opened, they are stable for 4 weeks in refrigerator (2-10°C).

Calibrator: stable in refrigerator (2-10°C) until the expiration date shown on the box. Once reconstituted it is stable for 2 weeks in refrigerator (2-10°C). It may be aliquoted stored at -80°C.

SAMPLE

Serum or plasma

a) Collection: obtain the serum in the usual way.

b) Additives: in case plasma is used as sample, use EDTA or heparin as anticoagulant.

c) Known interfering substances: no interferences are observed by ascorbic acid up to 50 mg/dl, hemoglobin up to 500 mg/dl, bilirubin up to 20 mg/dl and γ -globulin up to 50 g/l. For samples with higher concentrations of interfering substances, dilute with saline solution before testing, multiply the obtained result by the performed dilution.

See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

d) Stability and storage instructions: centrifuge and separate serum from clot within 3 hours after collection. In case the test could not be performed immediately, the sample can be kept for 5 days in refrigerator (2-10°C).

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Volumetric material for measuring the stated volumes.
- Autoanalyzer.

PROCEDURE

(autoanalyzers)

A general procedure for LDL Cholesterol monofase AA in an autoanalyzer is detailed below. When implementing the technique for a particular autoanalyzer, follow its working instructions.

Sample or Calibrator	3 ul
Reagent A	300 ul
Incubate for 5 minutes at 37°C. Read the absorbance at 660/546 nm (Sample Blank).	
Reagent B	100 ul
Incubate for 5 minutes at 37°C. Read the result at 660/546 nm (LDL-cholesterol concentration).	

CALIBRATION

Process the Calibrator in the same way as the samples. The Calibrator concentrations are near medical decision levels and change from batch to batch (see titer on label). Set the calibrator's concentration value every time the batch is changed.

CALCULATIONS

LDL Cholesterol (mmol/l) = LDL Cholesterol (mg/dl) x 0.02586

QUALITY CONTROL METHOD

Each time the test is performed, analyze two levels of a quality control material (**Standatrol S-E 2 niveles**) with known LDL cholesterol concentration.

REFERENCE VALUES

The expert panel from the National Cholesterol Education Program (NCEP) provides the following LDL Cholesterol values related to the risk of acquiring coronary heart disease (CHD):

- **Low or no risk** (normal individuals): LDL Cholesterol values below 129 mg/dl.
- **Moderate or high risk** (individuals with probability of acquiring CHD): values between 130 and 189 mg/dl.
- **Very High risk** (individuals suspected from suffering from CHD): LDL Cholesterol values \geq 190 mg/dl.

However, each laboratory should establish its own references values.

PROCEDURE LIMITATIONS

See Known interfering substances under SAMPLE. Anticoagulants containing citrate should not be employed.

PERFORMANCE

a) Accuracy: the method's accuracy was verified by comparison with the values obtained by the ultracentrifugation and cholesterol analysis reference method and with the LDL immuno-separation direct method. The comparison results were the following:

Method	LDL Colesterol monofase AA	Reference
N° of samples	54	54
average	122.5 mg/dl	125.1 mg/dl
standard deviation	30.7 mg/dl	30.9 mg/dl
correlation coefficient: 0.96		

Method	LDL Colesterol monofase AA	Reference
N° of samples	92	92
average	120.0 mg/dl	122.8 mg/dl
standard deviation	30.5 mg/dl	31.6 mg/dl
correlation coefficient: 0.97		

b) Precision: simultaneously processing 20 samples on the same day, the following intra-assay variation was obtained:

Level	S.D.	C.V.
98.1 mg/dl	\pm 0.72 mg/dl	0.73 %
146.5 mg/dl	\pm 0.96 mg/dl	0.66 %
209.8 mg/dl	\pm 1.31 mg/dl	0.62 %

c) Detection limit: 0.278 mg/dl.

PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

For programming instructions check the user manual of the autoanalyzer in use.

WIENER LAB. PROVIDES

- 80 ml (1 x 60 ml + 1 x 20 ml), with Calibrator (Cat. N° 1220220)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), with Calibrator (Cat. N° 1009283)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), with Calibrator (Cat. N° 1009348)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), with Calibrator (Cat. N° 1008103)*
- 160 ml (2 x 60 ml + 2 x 20 ml), with Calibrator (Cat. N° 1009627)
- 160 ml (2 x 60 ml + 2 x 20 ml), with Calibrator (Cat. N° 1009935)

REFERENCES

- Crouse, J.R. et.al. - J. Lipid Res. 26:566, 1985.
- Barr, D.P.; Russ, E.M.; Eder, H.A. - Am. J. Med. 11:480, 1951.
- William, P.; Robinson, D.; Baily, A. - Lancet 1:72, 1979.
- Kannel, W.B.; et.al. - Am. Intern. Med. 90/1:85, 1979.
- Bachorik, P.S. et.al. - Clin. Chem. 41/10, 1995.
- Grundy, S.M. et.al. - JAMA 269/23:3015, 1993.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Tietz, N.W. - W.B. Saunders Co., Philadelphia, p.256, 1986.
- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).

* CE mark pending



LDL Cholesterol

monofase AA

Nr kat. 1220220 Nr kat. 1009627
Nr kat. 1009283 Nr kat. 1009935
Nr kat. 1009348 Nr kat. 1008103

Kolorymetryczna metoda bezstrąceniowa do oznaczania cholesterolu LDL w surowicy krwi lub osoczu

WSTĘP

Lipoproteiny osocza to kuliste cząsteczki zawierające różne ilości cholesterolu, trójglicerydów, fosfolipidów i białek. Fosfolipidy, wolny cholesterol i białka tworzą zewnętrzną powierzchnię cząsteczki lipoprotein, natomiast wewnętrzny rdzeń składa się głównie z estryfikowanego cholesterolu z trójglicerydami. Cząsteczki te rozpuszczają i transportują cholesterol do strumienia krwi. Odpowiedni stosunek białek i tłuszczów odpowiedzialny jest za gęstość lipoprotein i jest podstawą do ich klasyfikacji na: chylomikrony, lipoproteiny o bardzo niskiej gęstości (very-low-density lipoproteins VLDL), o niskiej gęstości (low-density lipoproteins LDL) oraz o wysokiej gęstości (high-density lipoproteins HDL). Wiele klinicznych badań wykazało, że różne klasy lipoprotein mają znaczący i różnicowany wpływ na ryzyko choroby niedokrwiennej serca.

Cholesterol HDL uważany jest za czynnik ochronny. Wzrost cholesterolu LDL może pojawić się nawet przy prawidłowych poziomach cholesterolu całkowitego i mieć znaczący wpływ na wzrost ryzyka choroby niedokrwiennej serca.

ZASADA DZIAŁANIA

Metoda składa się z układu dwóch etapów homogennej reakcji bez strącenia. W pierwszym etapie, dodawany jest surfaktant celem rozpuszczenia cząsteczek lipoprotein nie-LDL (Odczynnik A). Uwolniony cholesterol jest zużywany przez esterazę cholesterolu i oksydazę cholesterolu w reakcji bezbarwnej. Drugi surfaktant (Odczynnik B) rozpuszcza cząsteczki LDL tworząc barwę o natężeniu proporcjonalnym do ilości cholesterolu LDL obecnego w próbce nawet o prawidłowym poziomie całkowitego cholesterolu.

DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: roztwór zawierający 1000 U/l esterazy cholesterolu, 1200 U/l oksydazy cholesterolu, 1250 U/l peroksydazy, 3000 U/l oksydazy kwasu askorbinowego, 1 g/l 4-aminoantypiryny oraz 7 g/l surfaktantu w 50 mM buforze MES.

B. Odczynnik B: roztwór zawierający 0,4 g/l DSBmT (N,N-bis-(4-sulphobutyl)-m-disodium toluidine) i 10 g/l surfaktantu w 50 mM buforze MES.

Kalibrator: liofilizowana ludzka surowica zawierająca różne klasy lipoprotein, włącznie z LDL. Stężenia zależne od serii (patrz wartości na etykiecie).

INSTRUKCJA UŻYCIA

Odczynnik A oraz B: gotowy do użycia.

Kalibrator: rozpuścić z wodą destylowaną objętością

wskazaną na etykiecie. Zamknąć fiolkę i odstawić na ok. 5 minut. Następnie rozpuścić zawartość fiołki przez delikatne wstrząśnięcie unikając spienienia.

OSTRZEŻENIA

- Odczynniki diagnostyczne do zastosowania "in vitro".
- Nie brać pipety do ust.
- Kalibrator przebadano w kierunku HBsAg, HCV oraz przeciwciał przeciw HIV 1/2 i otrzymano wynik ujemny. Jakkolwiek należy go traktować jako materiał potencjalnie zakaźny.
- Stosować odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych.
- Odczynniki i materiał badany odrzucać zgodnie z lokalnymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczane odczynniki: są trwałe w lodówce (2-10°C) do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu.

Nie zamrażać. Po otwarciu odczynniki są trwałe przez 4 tygodnie w lodówce (2-10°C).

Kalibrator: trwały w lodówce (2-10°C) do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu. Po rozpuszczeniu jest trwały przez 2 tygodnie w lodówce (2-10°C). Kalibrator może być podzielony na równe części i przechowywany w temp. -80°C.

MATERIAŁ BADANY

Surowica krwi lub osocze

a) Pobranie: pobrać surowicę w klasyczny sposób.

b) Substancje dodatkowe: dla osocza użyć EDTA lub heparyny jako antykoagulantu.

c) Znane interakcje: żadne interakcje nie są obserwowane dla kwasu askorbinowego do 50 mg/dl, z hemoglobina do 500 mg/dl, bilirubina do 20 mg/dl oraz γ -globulina do 50 g/l. Dla próbek o wyższym stężeniu substancji wchodzących w interakcje należy rozcieńczyć materiał solą fizjologiczną przed badaniem, mnożąc otrzymane wyniki przez współczynnik rozcieńczenia. Zobacz źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie.

d) Trwałość i instrukcja przechowywania: odwirować i oddzielić surowicę od skrzepu w ciągu 3 godzin od pobrania. W przypadku braku możliwości przeprowadzenia badania natychmiast, materiał może być przechowywany do 5 dni w lodówce (2-10°C).

WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczane)

- Sprzęt do pomiaru objętości.
- Analizator automatyczny.

PROCEDURA (analizatory automatyczne)	
Poniżej przedstawiono ogólne zasady dla procedury badania dla LDL Cholesterol monofaze AA w analizatorach automatycznych. Jakkolwiek należy zapoznać się z instrukcją obsługi dla przeprowadzenia badania w danym urządzeniu.	
Materiał badany lub Kalibrator	3 ul
Odczynnik A	300 ul
Inkubować przez 5 minut w temp. 37°C. Odczytać absorbancję przy 660/546 nm (Ślepa próba materiału badanego).	
Odczynnik B	100 ul
Inkubować przez 5 minut w temp. 37°C. Odczytać wynik przy 660/546 nm (stężeniu cholesterolu LDL).	

KALIBRACJA

Przygotować Kalibrator w ten sam sposób jak materiał badany. Stężenia kalibratora są bliskie poziomom granicznym i zmieniają się w zależności od serii (patrz wartość na etykiecie). Ustawić wartość stężenia kalibratora przy każdej zmianie serii.

OBLICZENIA

Cholesterol LDL (mmol/l) = Cholesterol LDL (mg/dl) x 0,02586

METODA KONTROLI JAKOŚCI

W trakcie przeprowadzania badania, za każdym razem, należy przeprowadzać analizę jakości na dwóch poziomach (**Standatrol S-E 2 niveles**) ze znanym poziomem stężenia cholesterolu LDL.

WARTOŚCI REFERENCYJNE

Zespół ekspertów National Cholesterol Education Program (NCEP) zaleca następujące wartości w związku z ryzykiem choroby niedokrwiennej serca (ChNS):

- Niskie lub brak ryzyka (u osób zdrowych): wartości cholesterolu LDL poniżej 129 mg/dl.
- Średnie lub wysokie ryzyko (u osób z prawdopodobnym ryzykiem ChNS): wartości pomiędzy 130 i 189 mg/dl.
- Bardzo wysokie ryzyko (u osób z podejrzeniem ChNS): wartości cholesterolu LDL powyżej \geq 190 mg/dl.

Jakkolwiek zaleca się dla każdego laboratorium ustalenie własnych wartości referencyjnych.

OGRANICZENIA PROCEDURY

Zobacz znane interakcje w rozdziale MATERIAŁ BADANY. Nie stosować antykoagulantów zawierających cytrynian.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) **Dokładność:** dokładność badano przez porównanie z wartościami otrzymanymi referencyjną metodą ultraodwirowania i późniejszego badania cholesterolu a metodą bezpośredniej immunoseparacji LDL. Poniżej zamieszczono wyniki porównania:

Metoda	LDL Cholesterol monofaze AA	Wzorzec
Ilość próbek	54	54
średnia	122,5 mg/dl	125,1 mg/dl
S.D.	30,7 mg/dl	30,9 mg/dl
współczynnik korelacji: 0,96		

Metoda	LDL Cholesterol monofaze AA	Wzorzec
Ilość próbek	92	92
średnia	120,0 mg/dl	122,8 mg/dl
S.D.	30,5 mg/dl	31,6 mg/dl
współczynnik korelacji: 0,97		

b) **Precyzja:** równocześnie wykonano badanie 20 próbek w tym samym dniu, otrzymano następujące wartości odchyień:

Poziom	S.D.	C.V.
98,1 mg/dl	\pm 0,72 mg/dl	0,73 %
146,5 mg/dl	\pm 0,96 mg/dl	0,66 %
209,8 mg/dl	\pm 1,31 mg/dl	0,62 %

c) **Granica wykrywalności:** 0,278 mg/dl.

PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Celem programowania zapoznać się z instrukcją obsługi używanego analizatora automatycznego.

WIENER LAB. DOSTARCZA


- 80 ml (1 x 60 ml + 1 x 20 ml), z Kalibratorem (Nr kat. 1220220)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), z Kalibratorem (Nr kat. 1009283)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), z Kalibratorem (Nr kat. 1009348)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), z Kalibratorem (Nr kat. 1008103)
- 160 ml (2 x 60 ml + 2 x 20 ml), z Kalibratorem (Nr kat. 1009627)
- 160 ml (2 x 60 ml + 2 x 20 ml), z Kalibratorem (Nr kat. 1009935)


ŹRÓDŁA

- Crouse, J.R. et al. - J- Lipid Res. 26: 566, 1985.
- Barr, D.P.; Russ, E.M.; Eder, H.A. - Am. J. Med. 11:480, 1951.
- William, P. Robinson, D.; Baily, A. - Lancet 1:72, 1979.
- Kannel, W.B.; et al. - Am. Intern. Med. 90/1:85, 1979.
- Bachorik, P.S.; et al. - Clin. Chem. 41/10, 1995.
- Grundy, S.M. et al. - JAMA 269/23:3015, 1993.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Tietz, N.W. - W.B. Saunders Co., Philadelphia, p.256, 1986.
- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).


SÍMBOLOS // SÍMBOLOS // SYMBOLS // OZNACZENIA

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits. // Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.


 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro" // Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro" // This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices // Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea // Representante autorizado na Comunidade Europeia // Authorized representative in the European Community // Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Uso diagnóstico "in vitro" // Uso médico-diagnóstico "in vitro" // "In vitro" diagnostic medical device // Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos // Conteúdo suficiente para <n> testes // Contains sufficient for <n> tests // Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Fecha de caducidad // Data de validade // Use by // Użyć przed

 Límite de temperatura (conservar a) // Limite de temperatura (conservar a) // Temperature limitation (store at) // Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 No congelar // Não congelar // Do not freeze // Nie zamrażać

 Riesgo biológico // Risco biológico // Biological risks // Ryzyko biologiczne

 Volumen después de la reconstitución // Volume após a reconstituição // Volume after reconstitution // Objętość po rozpuszczeniu

 Contenido // Conteúdo // Contents // Zawartość

 Número de lote // Número de lote // Batch code // numer serii

 Elaborado por // Elaborado por // Manufactured by // Wytwórca

 Nocivo // Nocivo // Harmful // Substancja szkodliwa

 Corrosivo / Cáustico // Corrosivo / Caústico // Corrosive / Caustic // Substancja żrąca

 Irritante // Irritante // Irritant // Substancja drażniąca


 Consultar instrucciones de uso // Consultar as instruções de uso // Consult instructions for use // Przed użyciem zapoznać się z instrukcją


 Calibrador // Calibrador // Calibrator // Kalibrator

 Control // Controle // Control // Próba kontrolna

 Control Positivo // Controle Positivo // Positive Control // Próba kontrolna dodatnia

 Control Negativo // Controle Negativo // Negative Control // Próba kontrolna ujemna

 Número de catálogo // Número de catálogo // Catalog number // Numer katalogowy

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. N°: 3135/99



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina