

COLESTEROLO LDL SL

Metodo enzimatico diretto
Reagenti liquidi pronti all'uso



REF. 0025 4x10 ml

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

GIESSE[®]
DIAGNOSTICS

USO PREVISTO

Determinazione quantitativa del Colesterolo LDL nel siero e nel plasma.

PRINCIPIO

Quando il campione viene aggiunto al Reagente (A), un componente protettivo si lega alla frazione LDL e la protegge dall'azione enzimatica. La colesterolo esterasi e la colesterolo ossidasi reagiscono con le lipoproteine non LDL (chilomicroni, VLDL ed HDL) ed il perossido d'idrogeno formatosi viene contemporaneamente decomposto dalla catalasi. All'aggiunta del Reagente (B), il componente protettivo viene rimosso dall'LDL e la catalasi viene inattivata. In questa seconda fase la reazione enzimatica è condotta sulla sola frazione LDL ed il perossido d'idrogeno prodotto va a generare il complesso colorato provocando la reazione di condensazione ossidativa del cromogeno HDAOS [N-(2-idrossi-3-sulfopropil)-3,5-dimetossianilina] con 4-AAP in presenza di perossidasi. L'intensità della colorazione è direttamente proporzionale alla quantità di colesterolo LDL presente nel campione.

CAMPIONE

Siero, plasma con eparina o EDTA. I campioni sono stabili 6 giorni a 2-8°C.

Campioni lipemici con concentrazioni di trigliceridi ≥ 1000 mg/dl devono essere diluiti prima di essere analizzati.

COMPONENTI FORNITI

Reagente (A) LDL Volume = 10 ml	Tampone di Good HDAOS	20 mM 1 mM
Reagente (B) LDL Volume = 10 ml	Tampone di Good Colesterolo esterasi Colesterolo ossidasi Perossidasi 4-AAP	20 mM 5.0 U/ml 1.0 U/ml 15 U/ml 3.0 U/ml

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

Conservare i flaconi chiusi quando non in uso.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

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

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

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

PROCEDIMENTO

Lunghezza d'onda: 600 nm
Cammino ottico: 1 cm
Temperatura: 37°C
Lettura: contro bianco reagente

pipettare:	bianco	campione	calibratore
Reagente (A)	300 µl	300 µl	300 µl
acqua	4 µl		
campione		4 µl	
calibratore			4 µl

Agitare, incubare a 37°C per 5 minuti, leggere l'assorbanza del bianco campione (Abx) contro bianco reagente, quindi aggiungere:

Reagente (B)	100 µl	100 µl	100 µl
--------------	--------	--------	--------

Agitare, incubare a 37°C per 5 minuti e leggere l'assorbanza del campione (Ax) e del calibratore (Ac) contro bianco reagente.

I volumi di reazione possono essere variati proporzionalmente.

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

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

CALCOLO DEI RISULTATI

$LDL \text{ (mg/dl)} = (Ax - Abx) / (Ac - Abc) \times \text{valore del calibratore}$

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

INTERVALLI DI RIFERIMENTO

La seguente tabella viene usata per la classificazione del rischio d'insorgenza di malattie cardiovascolari:

Classificazione	Colesterolo LDL
Ideale	< 130 mg/dl (< 3.36 mmol/l)
Borderline	130 – 159 mg/dl (3.36 – 4.11 mmol/l)
Alto rischio	> 160 mg/dl (> 4.14 mmol/l)

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

CONTROLLO DI QUALITÀ

E' necessario eseguire i controlli ad ogni utilizzo del kit e verificare che i valori ottenuti siano inclusi nell'intervallo di riferimento riportato nelle istruzioni d'uso. A tale scopo si consiglia l'uso del calibratore (REF. 6010) e del controllo (REF. 6011).

PRESTAZIONI DEL METODO

Sensibilità: la sensibilità del metodo è: 5 mg/dl.

Linearità: il metodo è lineare fino a 400 mg/dl. Per valori superiori, diluire i campioni 1:5 e moltiplicare il risultato per 5.

Precisione nella serie:

	Livello 1	Livello 2
Media (mg/dl)	98.1	146.5
DS	0.72	0.96
CV %	0.73	0.66

Precisione tra le serie:

	Livello 1	Livello 2
Media (mg/dl)	98.1	142.7
DS	2.2	2.8
CV %	2.27	1.95

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

Correlazione con metodo di riferimento: $Y = 0.99x + 2.81$ $r = 0.996$

BIBLIOGRAFIA

1. Friedewald W.F., et al., Clin. Chem. 18: 449-502, 1972.
2. Rifai N., et al. Clin. Chem., 38: 150-160, 1992.
3. Bachorik P.S. and Ross J.W., Clin. Chem., 41: 1414 – 1420, 1995.
4. Passing H. and Bablok W., J Clin. Chem.Clin. Biochem, 21: 709 – 720, 1983.
5. Bablok W., et al, J Clin Chem Clin Biochem, 26: 783 – 790, 1988.

LDL CHOLESTEROL SL

Direct Enzymatic Method
Liquid Reagents ready to use



REF. 0025 4x10 ml

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

GIESSE[®]
DIAGNOSTICS

INTENDED USE

Quantitative determination of LDL Cholesterol in serum and plasma.

PRINCIPLE

When a sample is mixed with Reagent (A), the protecting reagent binds to LDL and protects LDL from enzyme reactions. Cholesterol esterase and cholesterol oxidase react with non-LDL lipoproteins (chylomicrons, VLDL and HDL). Hydrogen peroxide produced is decomposed by catalase. When Reagent (B) is added, the protecting reagent is removed from LDL and catalase is inactivated.

In this second process, the enzymatic reaction is conducted solely on the LDL fraction and the hydrogen peroxide produced yields a color complex upon oxidase condensation with HDAOS [N-(2-hydroxy-3-sulfo-propyl)-3,5-dimethoxyaniline] and 4-AAP in the presence of peroxidase.

Colour intensity is directly proportional to the amount of LDL cholesterol in the sample.

SAMPLE

Serum, plasma with heparin or EDTA. The samples are stable 6 days at 2-8°C.

Lipemic samples with triglycerides concentrations ≥ 1000 mg/dl should be diluted before analysis.

KIT COMPONENTS

Reagent (A) LDL Volume = 10 ml	Good Buffer HDAOS	20 mM 1 mM
Reagent (B) LDL Volume = 10 ml	Good Buffer Cholesterol esterase Cholesterol oxidase Peroxidase 4-AAP	20 mM 5.0 U/ml 1.0 U/ml 15 U/ml 3.0 U/ml

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

Keep bottles closed when not in use.

REAGENTS PREPARATION

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

PRECAUTIONS AND WARNINGS

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

Use the normal precautions required in the laboratory.

Dispose of waste according to local laws.

PROCEDURE

Wavelength:	600 nm
Lightpath:	1 cm
Temperature:	37°C
Reading:	against blank reagent

pipette:	blank	sample	calibrator
Reagent (A)	300 μ l	300 μ l	300 μ l
water	4 μ l		
sample		4 μ l	
calibrator			4 μ l

Mix, incubate at 37°C for 5 minutes, read the absorbance of blank sample (Abx) against blank reagent, then add:

Reagent (B)	100 μ l	100 μ l	100 μ l
-------------	-------------	-------------	-------------

Mix, incubate at 37°C for 5 minutes and read the absorbance of the sample (Ax) and the calibrator (Ac) against blank reagent.

Volumes can be proportionally modified.

This method describes the manual procedure to use the kit.

For automated procedure, ask for specific applications.

RESULTS CALCULATION

$$\text{LDL (mg/dl)} = (Ax - Abx) / (Ac - Abc) \times \text{Calibrator Value}$$

Conversion factor: mg/dl $\times$ 0.02586 = mmol/l

EXPECTED VALUES

The following table is used for classification of the risk of cardiovascular disease:

Classification	LDL Cholesterol
Ideal	< 130 mg/dl (< 3.36 mmol/l)
Borderline	130 – 159 mg/dl (3.36 – 4.11 mmol/l)
High Risk	> 160 mg/dl (> 4.14 mmol/l)

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

QUALITY CONTROL

You must perform the controls at each kit's use and verify that the values obtained are within the reference range reported in the operating instructions. For this purpose we recommend the use of calibrator (REF. 6010) and control (REF. 6011).

PERFORMANCE

Sensitivity: the sensitivity of the method is: 5 mg/dl.

Linearity: the method is linear up to 400 mg/dl. For higher values, dilute the sample 1:5 and multiply the result by 5.

Precision intra-assay:

	Level 1	Level 2
Mean (mg/dl)	98.1	146.5
SD	0.72	0.96
CV %	0.73	0.66

Precision inter-assay:

	Level 1	Level 2
Mean (mg/dl)	98.1	142.7
SD	2.2	2.8
CV %	2.27	1.95

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

Correlation against a reference method: $Y = 0.99x + 2.81$ $r = 0.996$

REFERENCES

1. Friedewald W.F., et al., Clin. Chem. 18: 449-502, 1972.
2. Rifai N., et al. Clin. Chem., 38: 150-160, 1992.
3. Bachorik P.S. and Ross J.W., Clin. Chem., 41: 1414 – 1420, 1995.
4. Passing H. and Bablok W., J Clin. Chem.Clin. Biochem, 21: 709 – 720, 1983.
5. Bablok W., et al, J Clin Chem Clin Biochem, 26: 783 – 790, 1988.