

COLESTEROL – LDL DIRECTO

METODO COLORIMETRICO.

Para la determinación "in vitro" del Colesterol – LDL en suero



Principio

El reactivo permite determinar directamente los niveles de LDL-Colesterol en suero o plasma, sin necesidad de pretratamiento ni centrifugación de la muestra.

El método consiste en dos pasos específicos. En el primero de ellos, los Quilomicrones, VLDL y HDL se eliminan selectivamente, no así el LDL, mediante reacciones de oxidación (Colesterol esterasa, Colesterol oxidasa) y degradación (Catalasa) originando un complejo denominado Colestenona y H₂O₂. En el segundo paso el LDL presente en la muestra, con ayuda de Tensioactivos específicos, se transforma en un complejo coloreado (quinona) cuantificable espectrofotométricamente.

Reactivos

Kit 1 x 40 ml. (Ref. 99 18 70). Contiene:

A.1 x 30 ml.Reactivo (A). (Ref. 99 18 72)
B.1 x 10 ml.Reactivo (B). (Ref. 99 18 74)
C.1 x 2 ml. Calibrador-LDL liofilizado. (Ref. 99 18 78)

Rehidratar el vial con **2 ml.** de agua desionizada. La concentración viene indicada en la etiqueta del vial.

Reactivo de trabajo

Los Reactivos (A) y (B) están listos para su uso: El Calibrador, se debe rehidratar con **2 ml** de agua desionizada y dejar reposar unos 20 minutos antes de su uso. La concentración del Calibrador viene indicada en la etiqueta.

Las concentraciones en los reactivos son:

Reactivo (A)

Tampón Goods pH 7,0 100 mM
N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxianilina 0,45 mM
Catalasa ≥ 225 U/L
Colesterol Esterasa ≥ 600 kU/L
Colesterol Oxidasa ≥ 380 kU/L
Estabilizantes no reactivos

Reactivo (B)

Tampón Goods pH 7,0 100 mM
4-Aminoantipirina 1,2 mM
Peroxidasa ≥ 1200 kU/L
Estabilizantes no reactivos

Conservación y estabilidad

Los componentes del kit mantenidos a 2 - 8° C son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Los reactivos (A) y (B), una vez abiertos son estables 2 meses a 2-8° C, protegidos de la luz solar directa.

El calibrador, una vez rehidratado es estable durante 10 días a 2-8° C.

Muestra

Suero. El suero puede conservarse a 2 - 8° C. durante 1 día. No congelar.

Precaución

El Reactivo (B) contiene azida sódica (0,09%) como conservante. Manipular con precaución. La eliminación de residuos debe hacerse según la normativa legal vigente.

Técnica	BL	PR	CAL
	µl	µl	µl
Agua desionizada	5,00	---	---
Muestra	---	5,00	---
Calibrador	---	---	5,00
Reactivo A	300	300	300

Mezclar e incubar a 37 ° C / 5 min.

Seguidamente adicionar:

Reactivo B 100 100 100

Mezclar e incubar a 37 ° C / 5 min. Leer frente al blanco de reactivo, las absorbancias de la muestra (Epr) y del calibrador (Ecal).

Cálculos

(Epr)

x conc. del calibrador = LDL- C (mg/dl).

(Ecal)

Lectura

Longitud de onda: 600 nm.

Blanco: el contenido del tubo BL.

Cubeta: 1 cm. paso de luz.

Unidades S.I.

mg/dl x 0,0259 = mmol/L.

Interpretación Clínica

Bajo riesgo < 150 mg/dl.

Riesgo > 190 mg/dl.

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

Prestaciones. Características de funcionamiento

Linealidad: El ensayo es lineal hasta 500 mg/dl.

Las características de funcionamiento del producto dependen tanto del reactivo como del sistema de lectura manual o automático empleados. Los siguientes datos se han obtenido de forma manual:

Coefficiente de Variación en la serie: 0.68%

Coefficiente de Variación entre series: 0.96%

Exactitud: 98.5 de porcentaje de recuperación.

Concentraciones de Ac. Ascórbico superiores a 50 mg/dl, Hemoglobina 500 mg/dl y de Bilirrubina 20 mg/dl, muestras lipémicas pueden interferir en el ensayo.

No intercambiar reactivos de diferentes lotes.

No utilizar muestras hemolizadas, ni envejecidas.

Control de calidad

Seriscann Normal (Ref. 99 41 48) y Seriscann Anormal (Ref. 99 46 85).

Autoanalizadores

Adaptaciones a distintos autoanalizadores, disponibles bajo demanda.

Bibliografía

Freedman, D., et al., (2004), Clin. Chem., **50**, 1189-1200.

Methods of Enzymatic Analysis, 3rd Edition, **VIII**, Edited by H. U. Bergmenyer. (1985), 154 - 160.

Bachorick, P.S., et al. (1995) Clin. Chem., **41**, Nº 10.

QUIMICA CLINICA APLICADA S.A.

Empresa certificada ISO 9001 / ISO 13485

A 7 Km 1081 – P.O. Box 20 - E43870 AMPOSTA / SPAIN

Tel. ++ 34 (977) 70. 62. 30 Fax ++ 34 (977) 70. 30. 40

Revisión: Octubre 2009

PRO4_REG9_LDLDI_03



LDL - CHOLESTEROL DIRECT

COLORIMETRIC METHOD

For "in vitro" determination of LDL - Cholesterol in serum



Principle

The LDL-Cholesterol reagent allows to measure the LDL Cholesterol fraction levels in serum or plasma directly, without the need for any sample pretreatment or centrifugation.

The method consists of two specific steps. In the first one, Chylomicron, VLDL and HDL are selectively eliminated by means of specific oxidation reactions with Cholesterol esterase and Cholesterol oxidase, and also by a specific degradation reaction with catalase, forming Cholestenone and H₂O₂.

In the second step the remainder of LDL Cholesterol can be spectrophotometrically measured when a color is formed as it is transformed (quinone complex) by the presence of specific surfactants.

Reagents

Kit 1 x 40 ml (Ref. 99 18 70). Contents:

A. 1 x 30 ml Reagent (A). (Ref. 99 18 72)

B. 1 x 10 ml Reagent (B). (Ref. 99 18 74)

C. 1 x 2 ml Freeze-dried LDL-Calibrator. (Ref. 99 18 78)

Rehydrate the vial with **2 ml** of deionized water. The concentration is stated on the label of the vial.

Working reagent

Reagents (A) and (B) are ready-to-use.

The calibrator, should be rehydrated with **2 ml** of deionized water and let stand for 20 min prior to be used. Its concentration is stated on the vial label.

The concentrations in the reagents are:

Reagent (A)

Good's buffer pH 7,0	100 mM
N-(2-hydroxy-3-sulphopropyl)-3,5-dimethoxyaniline	0.45 mM
Catalase	≥ 225 U/L
Cholesterol Esterase	≥ 600 kU/L
Cholesterol Oxidase	≥ 380 kU/L
Non reactive stabilizers	

Reagent (B)

Good's buffer pH 7,0	100 mM
4-Aminoantipirine	1.2 mM
Peroxidase	≥ 1200 kU/L
Non reactive stabilizers	

Storage and stability

When kept at 2 - 8°C, the reagent will remain stable until the expiration date stated on the label.

Reagents (A) and (B), once opened are stable for 2 months when stored at 2° - 8° C and protected from direct sunlight.

Once rehydrated, the calibrator will remain stable for 10 days when stored at 2° - 8° C.

Sample

Serum. The serum samples can be kept at 2 - 8°C for 1 day. Do not freeze.

Caution

The Reagent (B) contains sodium azide (0.09%) as a preservative. Handle with care. The disposal of the residues has to be made according to legal local regulations.

Procedure	BL µl	SA µl	CAL µl
Deionized water	5,00	---	---
Sample	---	5,00	---
Calibrator	---	---	5,00
Reagent A	300	300	300
Mix well and incubate at 37° C/5 min. Then add:			
Reagent B	100	100	100
Mix well and incubate at 37°C/ 5 min. Read (against the reagent's blank) the absorbance of the sample (Esa) and of the calibrator (Ecal).			

Calculations

(Esa)

_____ x conc. of calibrator = LDL- C (mg/dl).

(Ecal)

Reading

Wavelength: 600 nm.

Blank: the contents of BL.

Cuvette: 1 cm. light-path.

S. I. Units

mg/dl x 0.0259 = mmol/L.

Normal values

Low risk < 150 mg/dl.

Risk > 190 mg/dl.

It is advisable that each laboratory establishes its own reference values.

Performance Characteristics

Linearity: The assay is linear up to 1000 mg/dl.

The analytical performance characteristics of the product depend both of the reagent and the reading system used, manual or automatic. The following data have been obtained manually.

Intraseries Variation Coefficient: 1.31%

Interseries Variation Coefficient: 1.77%

Recovery: 99.1 %.

Concentrations of Ascorbic acid higher than 50 mg/dl, Hemoglobin higher than 500 mg/dl and of Bilirubin higher than 30 mg/dl can interfere with the assay.

Discard aged or hemolyzed sera.

Quality control

Seriscann Normal (Normal Control Serum)

(Ref. 99 41 48) and Seriscann Anormal (Abnormal Control Serum) (Ref. 99 46 85).

Autoanalyzers

Technical bulletins for different analyzers, are available upon request.

References

Freedman, D., et al., (2004), Clin. Chem., **50**, 1189-1200.

Methods of Enzymatic Analysis, 3rd Edition, **VIII**, Edited by H. U. Bergmeyer. (1985), 154 - 160.

Bachorick, P.S., et al. (1995) Clin. Chem., **41**, Nº 10.

QUÍMICA CLÍNICA APLICADA S.A.

ISO 9001 / ISO 13485 Certified Company

A 7 Km 1081 – P.O. Box 20 - E43870 AMPOSTA / SPAIN

Tel. ++ 34 (977) 70. 62. 30 Fax ++ 34 (977) 70. 30. 40

Revision: October 2009

PRO4_REG9_LDLDI_03

