

COLESTEROL - LDL

MÉTODO CON SULFATO DE POLIVINILO

Para la determinación "in vitro" del colesterol - LDL en suero.

PRINCIPIO

El colesterol-LDL puede determinarse mediante la diferencia existente entre el colesterol total y el colesterol contenido en el sobrenadante de la muestra, después de precipitar ésta con sulfato de polivinilo (PVS) en presencia de polietilenglicol-monometil éter.

UTILIDAD DIAGNÓSTICA

Las llamadas proteínas LDL son lipoproteínas de baja densidad, que transportan colesterol, triglicéridos y lípidos, en la sangre. Un nivel elevado de colesterol unido a esta fracción proteica, colesterol LDL, está relacionado con infartos de miocardio y enfermedades cardiovasculares. Otras patologías que presentan valores elevados de colesterol LDL son: nefrosis, diabetes, hipotiroidismo y obesidad.

Una única prueba de laboratorio no permite establecer un diagnóstico. Los resultados se han de evaluar en el contexto de todos los datos clínicos y de laboratorio obtenidos.

REACTIVOS

1 x 10 mL Disolución precipitante Ref. 99 06 10
Gotero para 100 tests

PREPARACIÓN DEL REACTIVO DE TRABAJO

El reactivo está listo para su uso

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

Las concentraciones en la disolución reactiva son:
Sulfato de polivinilo 0,7 g/L
EDTA Na₂ 5,0 mM
Polietilenglicol monometil éter 170 g/L
Estabilizantes

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

El reactivo es estable a 2-8°C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Indicaciones de alteración del reactivo:

Presencia de partículas; aspecto no homogéneo

MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

Material común de laboratorio.
Centrífuga
Espectrofotómetro, analizador automático o fotómetro termostatzado a 37°C. Cubeta de 1 cm de paso de luz.

Reactivo y estándar para la determinación de colesterol

Se aconseja utilizar los reactivos QCA de referencias:

Kit 1 x 100 mL 99 52 82

Kit 3 x 100 mL 99 52 80

Kit 2 x 250 mL 99 50 12

Todos los reactivos indicados se sirven con el estándar correspondiente

PRECAUCIONES

Las indicaciones de seguridad se encuentran en la etiqueta de los productos.
Se aconseja consultar la ficha de datos de seguridad antes de la manipulación del reactivo.
La eliminación de residuos debe hacerse según la normativa local vigente.

MUESTRA

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

CONTROL DE CALIDAD

Es recomendable la inclusión de sueros control, Seriscann Normal (Ref. 99 41 48) y Seriscann Anormal (Ref. 99 46 85), en cada proceso de medida de la determinación del colesterol para verificar los resultados.

Para el control de la reacción de precipitación no pueden usarse sueros liofilizados o líquidos en los que las lipoproteínas no se conserven en su estado nativo. Se aconseja usar utilizar un "pool" de sueros normales de valor conocido en colesterol LDL.

Cada laboratorio debería establecer su propio programa de control de calidad y los procedimientos de corrección de las desviaciones en las medidas.

AUTOANALIZADORES

La reacción de precipitación inicial no es automatizable. Las adaptaciones a distintos analizadores automáticos para la determinación del colesterol del sobrenadante de la reacción de precipitación están disponibles bajo demanda.

INTERFERENCIAS

Concentraciones de triglicéridos superiores a 400 mg/dl, pueden interferir en el ensayo. En dicho caso, diluir la muestra 1/2 con disolución salina (NaCl 0,9 %) antes de adicionar el reactivo precipitante. Multiplicar el resultado final por 2.

No deben utilizarse en el ensayo muestras hemolizadas, ni envejecidas.

PROCEDIMIENTO

1. Reacción precipitante

Disol. precipitante 0,1 mL (3 gotas)
Suero 0,2 mL
Agitar y mantener en reposo 15 min a temperatura ambiente (20-25°C)
Centrifugar a 2000 x g (1.500 -2.300 rpm)/ 15 min ó
Centrifugar a 10000 x g (8000 -12000 rpm)/ 2 min
Determinar la concentración de colesterol en el sobrenadante.

2. Determinación de colesterol

Muestras: suero total (MS) y sobrenadante de la precipitación (MP)

Técnica	BL mL	MS mL	MP mL	ST mL
Suero	--	0,01	--	--
Sobrenadante	--	--	0,01	--
Estándar	--	--	--	0,01
Reactivo de trabajo	1,00	1,00	1,00	1,00

Mezclar e incubar durante 10 min a temperatura ambiente (20-25°C) ó 5 min a 37°C.

Determinar la Abs.

Lectura

Longitud de onda: 546; 505 nm

Blanco: el contenido del tubo BL

Estabilidad de color: un mínimo de 1 hora. (protegido de la luz solar directa)

CÁLCULOS

A. Colesterol en el sobrenadante

$$\frac{\text{Abs. MS}}{\text{Abs. ST}} \times 200 \times 1,5 = \text{mg colesterol en el sobrenadante / dL}$$

B. Colesterol en la muestra total

$$\frac{\text{Abs. MP}}{\text{Abs. ST}} \times 200 = \text{mg colesterol total / dL}$$

Donde:

Abs. MP: Absorción de la muestra sérica

Abs. MS: Absorción de la muestra sobrenadante

Abs. ST: Absorción del Standard

C. Colesterol-LDL

Colesterol-LDL (mg/dL) = colesterol total de la muestra (mg/dL) - colesterol en el sobrenadante (mg/dL)

Unidades SI: (mg/dL) x 0,0259 = mmol/L

Nota: Al adicionar el reactivo precipitante la muestra queda diluida en un factor de 1,5, por ello el valor de colesterol en el sobrenadante se multiplica por este factor.

VALORES DE REFERENCIA

Riesgo de enfermedades coronarias:

< 100 mg/dL	Óptimo
130 - 159 mg/dL	Moderado
160 - 189 mg/dL	Alto
> 189 mg/dL	Muy alto

PRESTACIONES. CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Las características de funcionamiento de un producto dependen tanto del reactivo precipitante como del reactivo utilizado para la determinación del colesterol y del sistema de lectura manual o automático empleados. Los siguientes datos se han obtenido de forma manual utilizando para la determinación del colesterol en el sobrenadante el reactivo QCA colesterol líquido:

Sensibilidad, como límite de detección: 6 mg/dL

Exactitud, como % de recuperación: 96,4%

Precisión en la serie, como CV%: 2,87%

Precisión entre series, como CV%: 2,96%

Veracidad. Los resultados obtenidos con el reactivo no presentan diferencias significativas al compararlo con el reactivo considerado de referencia.

Los datos detallados del estudio de las prestaciones del reactivo están disponibles bajo demanda.

BIBLIOGRAFÍA

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

Assmann, G., Jabs, H. U., Kohnert, U., Nolte, W., Schriewer, H., (1984), Clin. Chim. Acta., 140, 77 - 83.

Demacker, P. N., et al. (1984), Clin. Chem., 30, 1797 -1800.

Tietz, NW., Textbook of Clinical Chemistry 5th Edition, W.B. Saunders, Philadelphia (2012).

CLSI Guidelines and Standards, CLSI, Wayne, P.A

Young D.S., Effect of drugs on Clinical Lab. Test, 5th Ed. AACC Press (2000).

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

Zapico E. y Ordóñez J. (2002), Clin Invest Ar ter ioscl;14(5):272-6.

LDL - CHOLESTEROL

POLYVINYL SULPHATE METHOD

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

PRINCIPLE

LDL-cholesterol can be determined as the difference between total cholesterol and the cholesterol content of the supernatant after precipitation of the LDL fraction by polyvinyl sulphate (PVS) in the presence of polyethylene-glycol monomethyl ether.

DIAGNOSTIC USE

LDL proteins are low density lipoproteins that transport cholesterol, triglycerides and lipids in the blood. A high level of cholesterol bound to the LDL fraction, LDL cholesterol, is associated with myocardial infarction and cardiovascular disease.

Other diseases that present high levels of LDL cholesterol are: nephrosis, diabetes, hypothyroidism or obesity.

Single test result could not be used to make a clinical diagnosis. It should integrate clinical and laboratory data.

REAGENTS

1 x 10 mL Precipitant solution Ref. 99 06 10
Dropper for 100 tests

WORKING REAGENT PREPARATION

Reagent is ready to use.

WORKING REAGENT COMPOSITION

Concentrations in the reagent solution are:

Polyvinyl sulphate	0.7 g/L
EDTA Na ₂	5.0 mM
Polyethyleneglycol monomethyl ether	170 g/L
Stabilizers	

STORAGE AND STABILITY

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

Signs of reagent deterioration:

Presence of particles. Non-homogeneous appearance.

ADDITIONAL EQUIPMENT

General laboratory equipment.
Spectrophotometer or photometer thermostable at 37°C.
Centrifuge.

Reagent for cholesterol determination and standard

It is advisable to use QCA reagents:

Kit 1 x 100 mL 99 52 82
Kit 3 x 100 mL 99 52 80
Kit 2 x 250 mL 99 50 12

Standard is included in the kits

CAUTION

The safety statements are on the label. It is recommended to read the MSDS before the reagent handling.
Waste products must be handled as per local regulations.

SAMPLE

Serum. The serum may be stored at 2 - 8°C for 1 day. Do not freeze.

QUALITY CONTROL

We recommend the inclusion of control sera Seriscann Normal (Ref. 99 41 48) and Seriscann Abnormal (Ref. 99 46 85) in each cholesterol determination to verify the results. For the precipitation reaction control, it is recommended to use liquid or lyophilized serum in which the native state of lipoproteins is retained. We recommend using a "pool" of normal sera of known value in LDL-cholesterol.
Each particular laboratory should establish its own control program.

AUTOANALYZERS

The precipitation reaction cannot be automated. Adaptations for cholesterol determination to different autoanalyzers are available on request.

INTERFERENCES

Sera with Triglyceride higher than 400 mg/dL could interfere. In such a case the sample shall be diluted 1/2 with saline (NaCl 0.9 %) prior to precipitation. Multiply the final result by 2.

Neither aged nor haemolysed sera will be assayed

PROCEDURE

1. Precipitation reaction

Precipitant solution 0.1mL (3 drops)
Sample 0.2 mL
Mix and let stand for 15 min at room temperature (20 - 25 °C).
Centrifuge at 2000 x g (1500 -2300 rpm)/ 15 min or
Centrifuge at 10000 x g (8000 -12000 rpm)/ 2 min
Determine cholesterol concentration in the supernatant.

2.- Determination of cholesterol

Samples: Total serum (SA) and supernatant (SP)

Technique	BL mL	SA mL	SP mL	ST mL
Serum	--	0.01	0.01	--
Supernatant	--	--	--	--
Standard	--	--	--	0.01
Working reagent	1.00	1.00	1.00	1.00

Mix well and let stand for 5 min at 37 °C or 10 min at room temperature.

Reading

Wavelength: 546 nm; 505 nm

Blank: the contents of BL

Colour stability: 1 hour(when protected from direct light)

CALCULATIONS

A. Cholesterol in supernatant

$$\frac{\text{Abs SA}}{\text{Abs ST}} \times 200 \times 1.5 = \text{mg supernatant cholesterol / dL}$$

B. Cholesterol in total serum

$$\frac{\text{Abs SP}}{\text{Abs ST}} \times 200 = \text{mg total cholesterol / dL}$$

Where:

Abs SP: Serum sample Absortion

Abs SA: Supernatant Absortion

Abs ST: Standard Absortion

C. LDL- cholesterol

$$\text{LDL- cholesterol (mg/dL)} = \text{total cholesterol in the sample (mg/dL)} - \text{supernatant cholesterol (mg/dL)}$$

SI Units: mg/dL x 0.0259 = mmol/L

Note: When the precipitant reagent is added to the sample, the latter is diluted by a factor of 1.5. Therefore, the cholesterol value should be multiplied by such a factor.

REFERENCE VALUES

Coronary heart disease risk:

< 100 mg/dL	Optimal
130 - 159 mg/dL	Borderline high
160 - 189 mg/dL	High
> 189 mg/dL	Very high

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The performance characteristics depend on the precipitant reagent, the reagent to determine cholesterol and the method used. It is recommended to calculate these data for each particular test protocol. These results have been obtained by manual method. The cholesterol has been determinate with the reagent cholesterol liquid from QCA.

Sensitivity, as detection limit: 6 mg/dL

Accuracy: 96.4%

Repetitivity, as CV%: 2.87%

Reproducibility, as CV%: 2.96%

Trueness: Results obtained with this reagent did not show systematic differences when compared with reference reagent.

Details of the comparison experiments are available on request.

REFERENCES

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

Assmann, G., Jabs, H. U., Kohnert, U., Nolte, W., Schriewer, H., (1984), Clin. Chim. Acta., 140, 77 - 83.

Demacker, P. N., et al. (1984), Clin. Chem., 30, 1797 -1800.

Young D.S., Effect of drugs on Clinical Lab. Test, 5th Ed. AACC Press (2000).

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

Zapico E. y Ordóñez J. (2002), Clin Invest Ar ter ioscl;14(5):272-6.

CHOLESTÉROL - LDL

MÉTHODE UTILISANT LE SULFATE DE POLYVINYLE

Pour la détermination in vitro du cholestérol-LDL dans le sérum

PRINCIPE

La détermination du cholestérol-LDL peut être effectuée par la différence entre le cholestérol total et le cholestérol contenu dans le surnageant de l'échantillon, après précipitation de l'échantillon avec le sulfate de polyvinyle (PVS) en présence de polyéthylène glycol monométhyl éther.

UTILITÉ DE DIAGNOSTIC

Les lipoprotéines de faible densité (LDL) transportent le cholestérol, les triglycérides et les lipides dans le sang. Un niveau élevé de cholestérol-LDL est associée à des crises cardiaques et les maladies cardiovasculaires. D'autres maladies qui ont des niveaux élevés de cholestérol-LDL sont: la néphropathie, diabète, l'hypothyroïdie et l'obésité. Un unique test de laboratoire ne permet pas d'établir un diagnostic. Les résultats doivent être évalués dans le contexte de toutes les données cliniques et analytiques obtenues.

Réactifs

1 x 10 mL Solution précipitante Réf. 99 06 10
Compte-gouttes pour 100 essais

PRÉPARATION DU RÉACTIF DE TRAVAIL

Le réactif est prêt à l'emploi

COMPOSITION DU RÉACTIF

Les concentrations dans la solution réactive sont les suivantes:

Sulfate de polyvinyle 0,7 g/L
EDTA Na₂ 5,0 mM
Polyéthylène glycol monométhyl éther 170 g/L
Stabilisants

CONSERVATION ET STABILITÉ

Conservé à une température comprise entre 2 et 8°C, le réactif est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

Indications d'alteration du réactif:

Présence de particules; aspect non homogène.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

Matériel courant de laboratoire.

Centrifuge

Spectrophotomètre, analyseur automatique ou photomètre thermostaté à 37°C. Cuvette de 1 cm de trajet optique.

Réactif pour détermination du Cholestérol et étalon.

Nous recommandons utiliser les réactifs QCA

Kit 1 x 100 mL 99 52 82

Kit 3 x 100 mL 99 52 80

Kit 2 x 250 mL 99 50 12

L'étalon est inclus dans le kit.

PRÉCAUTIONS

Les indications de sécurité sont sur l'étiquette des produits. Nous vous conseillons de consulter la fiche de données de sécurité avant de manipuler le réactif.

L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux normes en vigueur.

ÉCHANTILLON

Sérum. Le sérum peut être conservé entre 2 et 8°C pendant 24 heures. Ne pas congeler.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Nous recommandons l'inclusion des plasmas de contrôle, Seriscann normal (Réf. 99 41 48) et Seriscann anormal (Réf. 99 46 85), in chaque détermination du cholestérol pour vérifier les résultats.

Pour le contrôle de la réaction de précipitation, il est recommandé d'utiliser du sérum liquide ou lyophilisé dans lequel l'état natif des lipoprotéines est conservé. Nous vous recommandons d'utiliser un "pool" de sérums normaux de valeur connue du cholestérol-LDL.

Nous suggérons que chaque laboratoire d'établir son propre programme et les procédures de correction des écarts dans les mesures de contrôle qualité.

ANALYSEURS AUTOMATIQUES

Des adaptations à différents analyseurs automatiques sont disponibles sur demande

INTERFÉRENCES

Des concentrations de triglycérides supérieures à 400 mg/dL peuvent interférer avec l'essai. Dans ce cas, diluer l'échantillon au 1/2 avec une solution saline (NaCl 0,9 %) avant d'ajouter le réactif précipitant. Multiplier le résultat final par 2.

Ne pas utiliser des échantillons hémolysés ou anciens.

TECHNIQUE

1. Réaction précipitante

Solution précipitante 0,1 mL (3 gouttes)
Échantillon 0,2 mL

Agiter et laisser reposer 15 minutes à température ambiante (20 à 25°C).

Centrifuger à 2.000 g pendant 15 minutes, ou centrifuger à 10.000 g pendant 2 minutes. Déterminer le cholestérol dans le surnageant.

2. Determinations du cholestérol

Échantillons: Sérum total (ST) et surnageant de la précipitation (SP)

Technique	BL mL	ST mL	SP mL	ÉT mL
Sérum total	--	0,01	--	--
Surnageant	--	--	0,01	--
Étalon	--	--	--	0,01
Réactive de travail	1,00	1,00	1,00	1,00

Mélange bien et incubé 5 minutes à 37°C ou 10 min à température ambiante.

Lecture

Longueur d'onde: 546 nm; 505 nm

Blanc: Contenu BL

Stabilité de la coloration: Un minimum de 1 heure à l'abri de la lumière directe.

CALCULS

A. Cholestérol dans le surnageant

$$\frac{\text{Abs. ST}}{\text{Abs. ÉT}} \times 200 \times 1,5 = \text{mg cholestérol surnageant / dL}$$

B. Cholestérol dans le sérum total

$$\frac{\text{Abs. SP}}{\text{Abs. ÉT}} \times 200 = \text{mg cholestérol total / dL}$$

Où:

Abs. SP: Absorption de l'essai avec le sérum total

Abs. SP: Absorption de l'essai avec le surnageant

Abs. ÉT: Absorption de l'étalon

C. Cholestérol - LDL

Cholestérol-LDL (mg/dL) = cholestérol total de l'échantillon (mg/dL) - cholestérol surnageant (mg/dL)

Unités SI: (mg/dL) x 0,0259 = mmol/L

Remarque: Lors de l'ajout du réactif de précipitation, l'échantillon est dilué dans un facteur de 1,5 et le valeur de cholestérol dans le surnageant est multiplié par ce facteur.

VALEURS DE RÉFÉRENCE

Risque de maladie des artères coronaires:

< 100 mg/dL Optimum
130 - 159 mg/dL Modéré
160 - 189 mg/dL Elevé
> 189 mg/dL Très Elevé

PERFORMANCE. CARACTÉRISTIQUES DE FONCTIONNEMENT

Le fonctionnement du produit dépend tant du solution précipitante que du réactif que du système de lecture manuel ou automatique utilisé. Les résultats suivants ont été obtenus avec une technique manuelle.

La sensibilité, en tant que la limite de détection: 6 mg/dL

Coefficient de variation dans la série: 2,87 %

Coefficient de variation entre les séries: 2,96 %

Exactitude: le pourcentage de récupération est de 96,4 %.

Justesse. Les résultats obtenus avec le réactif ne sont pas significativement différents par rapport au réactif de référence considéré.

L'étude détaillée de la performance du réactif est disponible sur demande.

BIBLIOGRAPHIE

Methods of Enzymatic Analysis, 3e édition, Volume VIII, Edited by H. U. Bergmeyer. (1985), 154 - 160.

Assmann, G., Jabs, H. U., Kohnert, U., Nolte, W., Schriewer, H., (1984), Clin. Chim. Acta., 140, 77 - 83.

Demacker, P. N., et al. (1984), Clin. Chem., 30, 1797-1800.

Tietz, NW., Textbook of Clinical Chemistry 5th Edition, W.B. Saunders, Philadelphia (2012). CLSI Guidelines and Standards, CLSI, Wayne, P.A

Young D.S., Effect of drugs on Clinical Lab. Test, 5th Ed. AACC Press (2000).

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

Zapico E. y Ordóñez J. (2002), Clin Invest Ar ter ioscl;14(5):272-6.