COLESTEROLO LIQUIDO

Ref. PDI 105280 **Conf. 300 ml** **IVD**

INTRODUZIONE

Il colesterolo nell'organismo umano è presente come componente delle membrane cellulari, è precursore degli ormoni steroidei e degli acidi biliari ed inoltre è assorbito con il cibo. Il colesterolo è trasportato nel plasma dalle lipoproteine, complessi formati da lipidi ed apolipoproteine. Sono state catalogate 4 classi di lipoproteine: high density lipoproteins (HDL), low density lipoproteins (LDL), very low density lipoproteins (VLDL) e chilomicroni. Le 4 classi di lipoproteine hanno un diverso rapporto per l'insorgenza dell'aterosclerosi coronarica. L'LDL- colesterolo (LDL-C) contribuisce alla formazione di placche aterosclerotiche a livello dell'intima della parete arteriosa ed è, a livelli elevati, associato all'insorgenza della cardiopatia coronarica. Anche quando il colesterolo totale è entro l'ambito della norma un'elevata concentrazione di LDL-C è indice di alto rischio. L'HDL-C invece svolge un ruolo protettivo impedendo la formazione di placche e mostra una relazione inversa alla insorgenza della cardiopatia coronarica. Infatti bassi livelli di HDL-C costituiscono un fattore di rischio indipendente. La determinazione del livello di colesterolo è utilizzata a scopo di screening, tuttavia per una più approfondita analisi del rischio è necessaria la misura addizionale di HDL-C e LDL-C.

PRINCIPIO

Il colesterolo esterificato viene idrolizzato, in presenza di colesterolo esterasi (CHE), in colesterolo ed acidi grassi. Il colesterolo così formatosi, insieme con quello libero, viene ossidato dalla colesterolo ossidasi (CHOD) a colest-4-an-3-one e H_2O_2. Per azione della perossidasi (POD), il perossido d'idrogeno reagisce con 4-aminoantipirina (AP) e fenolo derivato formando un composto rosso la cui intensità di colore è proporzionale alla concentrazione di colesterolo totale presente nel campione esaminato.

METODO

Test enzimatico colorimetrico CHOD PAP.

REATTIVI

Per uso diagnostico in vitro.
I componenti del kit, in confezione integra e conservati in frigo a 2-8°C, rimangono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta. Una volta aperti rimangono stabili circa 60 giorni in frigo a 2-8°C. Conservare al riparo della luce diretta.
Componenti del kit:

A) Reagente A (pronto per l'uso)	**3x100 ml. Ref. PDI 1052801**
Pipes Acido pH7.0	18 mmol/L
Magnesio Cloruro	15 mmol/L
Sodio Desossicolato	0.2 mmol/L
Acido 4OH benzoico	4.2 mmol/L
Acido Deidroacetico	1.00 mmol/L
4-Aminofenazone	0.80 mmol/L
POD	>0.4 Ku/L
CE pseudomonas	> 0.3 Ku/L
COD	>0.12 Ku/L
Contiene conservanti stabilizzanti e tensioattivi	
B)Standard Colesterolo 1x5 ml La concentrazione dello standard è riportata in etichetta. Contiene conservanti	**Ref. PDI 1052802**

CAMPIONE

Siero o plasma con eparina o EDTA. Stabilità del campione: 6 giorni a 2-8 °C.

PROCEDIMENTO ANALITICO

Lunghezza d'onda:	500 nm
Cammino ottico:	1 cm
Temperatura:	37°C
Lettura:	contro bianco reagente
Reazione:	End Point

Pipettare nelle provette:

	Bianco	Campione	Standard
Acqua distillata	3 µl	==	==
Standard	==	==	3 µl
Campione	==	3 µl	==
Reagente A	300 µl	300 µl	300 µl

Miscelare ed incubare a 37°C per 5 minuti o per 10 minuti a temperatura ambiente. Leggere contro Bianco reagente l'assorbanza del Campione (Ac) e dello Standard (As). Il colore sviluppatosi rimane stabile almeno 60 minuti a temperatura ambiente.

CALCOLO

Lettura contro Standard
Ac / As x conc. Standard = mg colesterolo totale/dl campione

FATTORE DI CONVERSIONE

Colesterolo: [mg/dL] x 0.026 = Colesterolo [mmol/L]

VALORI NORMALI

Valore	Interpretazione
< 5.17 mmol/l (200 mg/dl)	Colesterolo ematico Ottimale
5.17 - 6.18 mmol/l (200-239 mg/dl)	Colesterolo ematico Borderline-Elevato
≥ 6.20 mmol/l (240 mg/dl)	Colesterolo ematico Elevatoto

PKL POKLER ITALIA
PARAMEDICAL s.r.l. – Via Antonio Amato 24/26 – (Z.I.) 84131 Salerno
Tel. +39 089.385027 - +39 089.385093 - Fax +39 089.3854479 - www.paramedical.it - www.pokler.it - email:pokler@tin.it

È opportuno che ciascun laboratorio stabilisca il proprio range di valori di riferimento tenendo conto dell'età, del sesso, della dieta e dell'area geografica della popolazione.
La European Task Force on Coronary Prevention raccomanda di abbassare la concentrazione di Colesterolo Totale a meno di 190 mg/dl e di LDL- colesterolo a meno di 115 mg/dl .

PRECAUZIONI D'USO
Il reagente contiene sodio azide come conservante (< 0.1 %) e tensioattivi.
La concentrazione totale di questi componenti è inferiore ai limiti riportati dalle direttive CEE 67/548/EEC e 88/379/EEC sulla classificazione, l'imballaggio ed etichettatura delle sostanze pericolose. Tuttavia i reagenti devono essere trattati con cautela, evitandone l'ingestione, il contatto con la pelle, gli occhi e le membrane mucose.
Tali prodotti sono solo per uso professionale e vanno utilizzati da personale qualificato.

CALIBRATORI E/O CONTROLLI
Qualora si voglia lavorare contro calibratore, utilizzare il Multicalibratore PKL. Per il controllo di qualità interno usare i Sieri di Controllo Umani Normali PKL od i Sieri di Controllo Umani Patologici PKL.
Si consiglia di analizzare i due livelli dei controlli almeno una volta al giorno. I valori ottenuti devono rientrare nel range specificato. Se i valori dovessero essere fuori da questo range e se un eventuale errore nell'esecuzione fosse escluso dalla ripetizione del test, è opportuno applicare i seguenti punti:
1.Controllare la programmazione dello strumento e la sorgente di luce.
2. Assicurarsi della pulizia di tutti gli strumenti usati.
3.Controllare l'acqua; eventuali contaminazioni (ad es. batterica) possono contribuire a dare risultati imprecisi.
4.Controllare la temperatura di reazione.
5.Controllare la data di scadenza del kit e del suo contenuto.

MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO
Soluzione di NaCl 9 g/l. Pipette a vario volume, spettrofotometro o fotometro da Laboratorio.

SENSIBILITA'
La concentrazione minima rilevabile è di 4 mg/dl di Colesterolo nel siero su di un analizzatore Hitachi 911

SPECIFICITA'
Il reattivo determina unicamente la concentrazione del colesterolo nel siero e nel plasma.

PRECISIONE
Intraserie: determinata su 30 replicati di ciascun controllo (sono stati usati due controlli di diverso livello).

Siero di Controllo	Valore Ottenuto MEDIO	Valore Atteso	CV %
PKL Normale Lot. 404UN	157.7	157	0.95
PKL Abnormale Lot. 286UE	282.4	281	1.30

Interserie: determinata per 10 giorni su 2 replicati di ciascun controllo (sono stati usati due controlli di diverso livello)

Siero di Controllo	Valore Ottenuto MEDIO	Valore Atteso	CV %
PKL Normale Lot. 404UN	158.4	157	1.24
PKL Abnormale Lot. 286UE	282.9	281	0.95

INTERFERENZE
I seguenti analiti non producono interferenze:
Bilirubina: > 15,0 mg/dl
Emoglobina: > 200 mg/dl

INTERVALLO DI MISURA
1)La reazione è lineare fino a 700 mg/dl. Per concentrazioni di colesterolo maggiori di 700 mg/dl ripetere la determinazione su campione diluito 1+2 con una soluzione di NaCl (9 g/l) e moltiplicare il risultato per 3.
2)Una variazione proporzionale di tutti i volumi non modifica il risultato finale.

CORRELAZIONE
Uno studio di correlazione fra questo metodo(x) con un altro metodo(y)in commercio ha dato i seguenti risultati:
Siero: N = 30 Y=1.0374X-0.1622 r = 0.9947

GESTIONE RIFIUTI
Attenersi alle norme locali.

CLASSIFICAZIONE EDMA
Nome Colesterolo n. 11.01.02.05.00.

BIBLIOGRAFIA
Tarbutton P., Elkhart, Composition and Method for Determination of Cholesterol, (1973). Bablok W, Passing H. Application of statistical procedures in analytical instrument testing. J Autom Chem 1985; 7:74-9. Martin H. Kroll, Ronald J. Elin. Interference with Clinical Laboratory Analyses. Clin. Chem. 40/11 (1994).
Philippe Marquis. Comparison of analytical methods in clinical chemistry. Service de biochimie Centre Hospitalier, Metez-France. Pasquinelli F.. Porta F. Diagnostica e Tecniche di Laboratorio - 4 – Profili Diagnostici e nuove metodiche analitiche. Rosini editrice srl Firenze (1990). Shauna C., Anderson & Susan Cockayne .Clinical Chemistry – Concepts & Applications (2003).
E. Villers, L. Blackwood. Gli esami di laboratorio – Indicazioni, Esecuzione, Interpetrazione. (2006)

PKL POKLER ITALIA
PARAMEDICAL s.r.l. – Via Antonio Amato 24/26 – (Z.I.) 84131 Salerno
Tel. +39 089.385027 - +39 089.385093 - Fax +39 089.3854479 - www.paramedical.it - www.pokler.it - email:pokler@tin.it

CHOLESTEROL LIQUID

IVD

Ref. PDI105280 **Conf. 300 ML**

A)Reagent A (ready for use)	**3x100 ml. Ref. PDI 1052801**
Pipes Acid pH7.0	18 mmol/L
Magnesium chloride	15 mmol/L
Sodium deoxycholate	0.2 mmol/L
Acid 4OH benzoic	4.2 mmol/L
Acid Deydroacetic	1.00 mmol/L
4-Aminophenazone	0.80 mmol/L
POD	>0.4 Ku/L
CE pseudomonas	> 0.3 Ku/L
COD	>0.12 Ku/L
Contains stabilizers, preservatives and surfactants	
B)Standard Cholesterol 1x5 ml Standard concentration is on the label. Contains preservatives.	**Ref. PDI1052802**

INTRODUCTION

The cholesterol in the human body is present as a component of cell membranes, is a precursor of steroid hormones and bile acids and is also absorbed with food. Cholesterol is transported in plasma by lipoproteins, complexes formed from lipids and apolipoproteins. Have been cataloged 4 classes of lipoproteins: high density lipoprotein (HDL), low density lipoprotein (LDL), very low density lipoproteins (VLDL) and chylomicrons. The 4 classes of lipoproteins have a different relationship to the onset of coronary atherosclerosis. The LDL-cholesterol (LDL-C) contributes to the formation of atherosclerotic plaques in intima of the arterial wall and is, at elevated levels, associated with the onset of coronary heart disease. Even when the total cholesterol is within the scope of the standard high concentration of LDL-C is an indicator of high risk. The HDL-C rather plays a protective role in preventing plaque formation and shows an inverse relationship to the onset of coronary heart disease. In fact, low levels of HDL-C are an independent risk factor. The determination of the level of cholesterol is used for screening purposes, however, for a more detailed analysis of the risk is necessary to measure additional HDL-C and LDL-C.

PRINCIPLE

The esterified cholesterol is hydrolyzed in the presence of cholesterol esterase (CHE), in cholesterol and fatty acids. Cholesterol thus formed, together with the free one, is oxidized by cholesterol oxidase (CHOD) to cholest-4-n-3-one and H2O2. By the action of peroxidase (POD), hydrogen peroxide reacts with 4-aminoantipyrine (AP) and phenol derivative forming a red compound whose intensity of color is proportional to the concentration of total cholesterol in the tested sample.

METHOD

Colorimetric Enzymatic CHOD PAP Test.

SAMPLE

Serum or plasma with heparin or EDTA. Sample Stability: 6 days at 2-8 °C.

REAGENTS

For in vitro diagnostic use.
Kit components, stored at 2-8°C, are stable until the expiration data on the label.. Once open, the reagent remain stable around 60 days in the refrigerator at 2-8 °C. Protect from direct light.
Kit components:

ANALYTICAL PROCEDURE

Wavelength:	500 nm
Optical path:	1 cm
Temperature:	37°C
Reading:	against blank reagent
Reaction:	End Point

Pipetting in tubes:

	Blank	Sample	Standard
Distilled water	3 µl	==	==
Standard	==	==	3 µl
Sample	==	3 µl	==
Reagent A	300 µl	300 µl	300 µl

Mix and incubate at 37°C for 5 minutes or for 10 minutes at room temperature. Read against blank reagent the Sample Absorbance (Ac) and Standard Absorbance (As). The developed color is stable for at least 60 minutes at room temperature.

CALCULATION

Reading against Standard
Ac / As x conc. Standard = mg total cholesterol /dl sample

CONVERSION FACTOR

Cholesterol: [mg/dL] x 0.026 = Cholesterol [mmol/L]

STANDARD VALUE

Value	Interpretation
< 5.17 mmol/l (200 mg/dl)	Cholesterol hematic Optimal
5.17 - 6.18 mmol/l (200-239 mg/dl)	Cholesterol hematic Borderline-high
≥ 6.20 mmol/l (240 mg/dl)	Cholesterol hematic high

It is recommended that each laboratory establish its own range of reference values taking into account age, sex, diet and geographical area of the population.
The European Task Force on Coronary Prevention recommends lowering the concentration of total cholesterol to less than 190 mg/ dl and LDL-cholesterol less than 115 mg / dl.

PKL® POKLER ITALIA
PARAMEDICAL s.r.l. – Via Antonio Amato 24/26 – (Z.I.) 84131 Salerno
Tel. +39 089.385027 - +39 089.385093 - Fax +39 089.3854479 - www.paramedical.it - www.pokler.it - email:pokler@tin.it

PRECAUTIONS

The reagent contains sodium azide as a preservative (<0.1%) and surfactants. The total concentration of these components is below the limits set by Directives 67/548/EEC and 88/379/EEC on the classification, packaging and labeling of dangerous substances. However, they should be treated with caution, avoiding swallowing and contact with skin, eyes and mucous membranes. **These products are for professional use only and should be used by qualified personnel.**

CALIBRATORS AND/OR CONTROLS

If you want to work against calibrator, use PKL Multicalibrator. For internal quality control using PKL Normal Human Serum Control or PKL Pathological Human Control Serum.
You should analyze the two levels of checks at least once a day. The values obtained must fall within the specified range. If values were to be outside this range and if any error in excluding it from the repetition of the test, he should consider the following points:
1.Check the programming of the instrument and the light source.
2.Check cleanliness of all equipment in use.
3.Check water, contaminants (eg. Bacterial) may contribute to inaccurate results.
4.Check the reaction temperature.
5.Check the expiry date of the kit and its contents.

ANCILLARY EQUIPMENT BUT NOT REQUIRED

NaCl 9 g/l. Various volume pipettes, spectrophotometer or photometer for the Laboratory.

SENSIBILITY

The minimum detectable concentration is 4 mg/dl of cholesterol in the serum on a Hitachi 911 analyzer.

SPECIFICITY

The reagent only determines the concentration of cholesterol in serum and plasma.

PRECISION

Intraseries: determined on 30 samples of each control (two controls were used at different levels).

Control Serum	Value Obtained Average	Expected value	CV %
PKL Normal Lot. 404UN	157.7	157	0.95
PKL Abnormal Lot. 286UE	282.4	281	1.30

Interseries: determined for 10 days on 2 replicates of each control (two controls were used at different levels).

Control Serum	Value Obtained Average	Expected value	CV %
PKL Normal Lot. 404UN	158.4	157	1.24
PKL Abnormal Lot. 286UE	282.9	281	0.95

INTERFERENCES

The following analytes do not produce interference:
Bilirubin: > 15,0 mg/dl
Hemoglobin: > 200 mg/dl

RANGE

1)The reaction is linear up to 700 mg/dl. For cholesterol concentrations greater than 700 mg / dl repeat the determination on a sample diluted 1 +2 with NaCl (9 g / l) and multiply the result by 3.
2)A proportional change in all the volumes do not change the final result.

CORRELATION

A correlation study between this method (x) with another method (y) on the market has given the following results:
Serum: N = 30 Y=1.0374X-0.1622 r = 0.9947

WASTE MANAGEMENT

Adhere to local regulations.

CLASSIFICATION EDMA

Name Cholesterol n. 11.01.02.05.00.

BIBLIOGRAPHY

Tarbutton P., Elkhart, Composition and Method for Determination of Cholesterol, (1973). Bablok W, Passing H. Application of statistical procedures in analytical instrument testing. J Autom Chem 1985; 7:74-9. Martin H. Kroll, Ronald J. Elin. Interference with Clinical Laboratory Analyses. Clin. Chem. 40/11 (1994).
Philippe Marquis. Comparison of analytical methods in clinical chemistry. Service de biochimie Centre Hospitalier, Metez- France. Pasquinelli F.. Porta F. Diagnostica e Tecniche di Laboratorio - 4 – Profili Diagnostici e nuove metodiche analitiche. Rosini editrice srl Firenze (1990). Shauna C., Anderson & Susan Cockayne .Clinical Chemistry – Concepts & Applications (2003).
E. Villers, L. Blackwood. Gli esami di laboratorio – Indicazioni, Esecuzione, Interpetrazione. (2006).

Ver 003 del 12.02.2012

PKL POKLER ITALIA
PARAMEDICAL s.r.l. – Via Antonio Amato 24/26 – (Z.I.) 84131 Salerno
Tel. +39 089.385027 - +39 089.385093 - Fax +39 089.3854479 - www.paramedical.it - www.pokler.it - email:pokler@tin.it