



# Colestat

enzimático AA

Método enzimático para la determinación de colesterol en suero o plasma

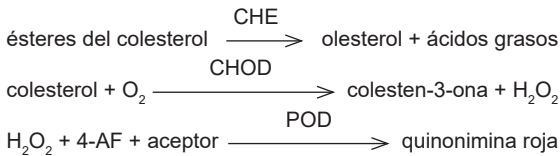
## SIGNIFICACION CLINICA

La determinación de colesterol en forma aislada tiene utilidad diagnóstica limitada. Sin embargo, su concentración varía de manera más o menos predecible en un gran número de condiciones clínicas. Se ha visto que el colesterol es uno de los factores contribuyentes a la formación de ateromas dado que las complicaciones arterioscleróticas prevalecen en individuos hipercolesterolémicos.

Diversos estudios epidemiológicos han permitido observar además, que el riesgo de contraer enfermedad cardíaca coronaria (ECC) para los individuos varones de más de 40 años con colesterolemia menor o igual a 2,10 g/l es 3 veces menor que entre individuos con más de 2,30 g/l y 6 veces menor que entre individuos con más de 2,60 g/l.

## FUNDAMENTOS DEL METODO

La secuencia reaccional es la siguiente:



## REACTIVOS PROVISTOS

**S. Standard\***: solución de colesterol 2 g/l.

**A. Reactivo A**: solución conteniendo colesterol esterasa (CHE), colesterol oxidasa (CHOD), peroxidasa (POD), 4-aminofenazona (4-AF) y buffer Good, conteniendo fenol y colato de sodio, en las siguientes concentraciones:

CHE.....	≥ 100 U/l
CHOD.....	≥ 100 U/l
POD.....	≥ 1000 U/l
4-AF.....	0,2 mmol/l
Good.....	50 mmol/l
Fenol.....	15 mmol/l
Colato de sodio.....	0,2 mmol/l

## REACTIVOS NO PROVISTOS

**Calibrador A plus** de Wiener lab.

## INSTRUCCIONES PARA SU USO

**Reactivos Provistos**: listos para usar.

## PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

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

**Reactivos Provistos**: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No mantener a temperaturas elevadas durante lapsos prolongados.

## INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Lecturas del Blanco superiores a 0,160 D.O. son indicio de deterioro de los reactivos. En tal caso desechar.

## MUESTRA

Suero o plasma

**a) Recolección**: se debe obtener de la manera usual.

**b) Aditivos**: en caso de que la muestra a emplear sea plasma, se recomienda únicamente el uso de heparina como anticoagulante para su obtención.

**c) Sustancias interferentes conocidas**:

- Excepto la heparina, los anticoagulantes comunes interfieren en la determinación.
- Los sueros con hemólisis visible o intensa producen valores falsamente aumentados por lo que no deben ser usados.
- No se observan interferencias por bilirrubina hasta 80 mg/l, ácido ascórbico hasta 75 mg/l, ácido úrico hasta 200 mg/l, ni hemólisis ligera.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento**: el colesterol en suero es estable por lo menos 1 semana en refrigerador y 2 meses en congelador, sin agregado de conservantes.

## MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Tubos o cubetas espectrofotométricas de caras paralelas.
- Baño de agua a 37°C.
- Reloj o timer.

## CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 505 nm en espectrofotómetro o en fotocolorímetro con filtro verde (490-530 nm).
- Temperatura de reacción: 37°C
- Tiempo de reacción: 5 minutos
- Volumen de muestra: 10 ul
- Volumen de Reactivo A: 1 ml

- Volumen final de reacción: 1,01 ml  
 Los volúmenes de Muestra y Reactivo A pueden variarse proporcionalmente (Ej.: 20 ul de Muestra + 2 ml de Reactivo A).

### PROCEDIMIENTO

En tres tubos o cubetas espectrofotométricas marcadas B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), colocar:

	B	S	D
<b>Standard</b>	-	10 ul	-
<b>Muestra</b>	-	-	10 ul
<b>Reactivo A</b>	1 ml	1 ml	1 ml

Incubar 5 minutos en baño de agua a 37°C o 20 minutos a temperatura ambiente (25°C). Leer en espectrofotómetro a 505 nm o en fotocolorímetro con filtro verde (490-530 nm), llevando el aparato a cero con el Blanco.

### ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de reacción final es estable 30 minutos, por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de este lapso.

### CALCULO DE LOS RESULTADOS

$$\text{colesterol (g/l)} = D \times f \quad \text{donde } f = \frac{2,00 \text{ g/l}}{S}$$

### CONVERSION DE UNIDADES

colesterol (g/l) = colesterol (mg/dl) x 0,01  
 colesterol (mmol/l) = colesterol (g/l) x 2,59  
 colesterol (g/l) = colesterol (mmol/l) x 0,39

### METODO DE CONTROL DE CALIDAD

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

### VALORES DE REFERENCIA

El panel de expertos del National Cholesterol Education Program (NCEP) provee los siguientes valores de colesterol:

Deseable: < 2,00 g/l  
 Moderadamente alto: 2,00 - 2,39 g/l  
 Elevado: ≥ 2,40 g/l

No obstante, se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos o valores de referencia.

### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA. Los reductores disminuyen la respuesta de color mientras que los oxidantes colorean el Reactivo A aumentando los Blancos.

Los detergentes, metales pesados y cianuros son inhibidores enzimáticos.

No emplear el Standard en analizador automático debido a la distinta tensión superficial con respecto al suero, dada por el disolvente empleado en su preparación.

Se recomienda realizar una recalibración semanal o cada

vez que se obtengan valores fuera del rango aceptable de los controles (Standatrol S-E 2 niveles).

### PERFORMANCE

**a) Reproducibilidad:** procesando replicados de las mismas muestras en 10 días diferentes, se obtuvo:

Nivel	D.S.	C.V.
1,24 g/l	± 0,043 g/l	3,49 %
3,31 g/l	± 0,115 g/l	3,48 %

**b) Recuperación:** agregando cantidades conocidas de colesterol a distintos sueros, se obtuvo una recuperación entre 98 y 101%, para todo nivel de colesterol entre 1,90 y 4,79 g/l.

**c) Límite de detección:** depende del fotómetro empleado. Para una lectura de 0,001 D.O., el cambio mínimo de concentración detectable será aproximadamente de 0,0063 g/l.

**d) Linealidad:** la reacción es lineal hasta 5 g/l. Para valores superiores, diluir 1:2 con el Blanco y repetir la lectura multiplicando el resultado final por 2.

### PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación debe consultarse el Manual del Usuario del Analizador en uso. Para la calibración debe emplearse **Calibrador A plus** de Wiener lab., de acuerdo a los requerimientos del analizador.

### PRESENTACION

- 4 x 100 ml c/Standard (Cód. 1220114).
- 2 x 500 ml c/Standard (Cód. 1220222).
- 6 x 60 ml (Cód. 1009308).
- 6 x 60 ml (Cód. 1009610).
- 6 x 55 ml (Cód. 1008157).
- 12 x 50 ml (Cód. 1009253).
- 4 x 40 ml (Cód. 1009802).

Empleando los reactivos **Colestat enzimático AA líquida** junto con **HDL-Colesterol Reactivo Precipitante**, **HDL Colesterol FT** y **LDL-Colesterol Reactivo Precipitante** (provistos separadamente por Wiener lab.) es posible determinar el colesterol ligado a las lipoproteínas de alta densidad (HDL-colesterol) y a las lipoproteínas de baja densidad (LDL-colesterol).

### BIBLIOGRAFIA

- Abell, L.L. et al. - J. Biol. Chem. 195:357 (1952).
- Allain, C.C. et al. - Clin. Chem. 20:470 (1974).
- American Health Foundation - Position statement on diet and coronary heart disease - pág. 255 (1972).
- I.F.C.C. - Clin. Chim. Acta 87/3:459 F (1978).
- Trinder, P. - Ann. Clin. Biochem. 6/24 (1969).
- Coniglio R.I. - Acta Bioq. Clin. Latinoam. XXIII/2:201 (1989).
- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.



# Colestat

enzimático AA

Método enzimático para a determinação de colesterol em soro ou plasma

## SIGNIFICADO CLÍNICO

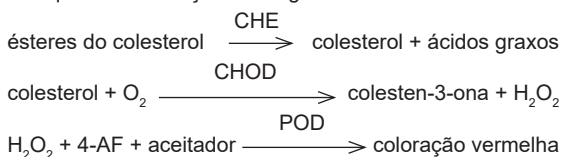
A determinação de colesterol em forma isolada, tem utilidade diagnóstica limitada. Entretanto, sua concentração varia de maneira mais ou menos previsível em um grande número de condições clínicas.

Foi observado que o colesterol é um dos fatores que contribuem à formação de ateromas visto que as complicações arterioscleróticas prevalecem em indivíduos hipercolesterolêmicos.

Diversos estudos epidemiológicos permitem, ainda, observar, que o risco de contrair doença cardiovascular (DCV) para os indivíduos homens maiores de 40 anos com colesterolemia menor ao igual a 2,10 g/l é 3 vezes menor que entre indivíduos com mais de 2,30 g/l é 6 vezes menor que entre indivíduos com mais de 2,60 g/l.

## FUNDAMENTOS DO MÉTODO

A seqüência de reação é a seguinte:



## REAGENTES FORNECIDOS

**S. Padrão\***: solução de colesterol 2 g/l.

**A. Reagente A**: frascos contendo colesterol esterase (CHE), colesterol oxidase (CHOD), peroxidase (POD), 4-aminofenazona (4-AF) e tampão Good, contendo fenol e colato de sódio nas seguintes concentrações:

CHE.....	≥ 100 U/l
CHOD.....	≥ 100 U/l
POD.....	≥ 1000 U/l
4-AF.....	0,2 mmol/l
Good.....	50 mmol/l
Fenol.....	15 mmol/l
Colato de sódio.....	0,2 mmol/l

## REAGENTES NÃO FORNECIDOS

**Calibrador A Plus** da Wiener lab.

## INSTRUÇÕES DE USO

**Reagentes Fornecidos**: prontos para uso.

## PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais

de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

## ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

**Reagentes Fornecidos**: estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem. Não manter a temperaturas elevadas durante períodos prolongados.

## INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

Descartar os reagentes quando as leituras do Branco estejam acima de 0,160 D.O.

## AMOSTRA

Soro ou plasma

**a) Coleta**: obter a amostra da forma usual.

**b) Aditivos**: se a amostra a utilizar for plasma, recomenda-se o uso de heparina como anticoagulante para sua obtenção.

**c) Substâncias interferentes conhecidas**:

- Sem contar a heparina, os anticoagulantes comuns interferem na determinação.

- Os soros com hemólise visível produzem valores falsamente aumentados e, portanto, não devem ser utilizados.

- Não observam-se interferências por bilirrubina até 80 mg/l, ácido ascórbico até 75 mg/l, ácido úrico até 200 mg/l, nem hemólise ligeira.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

**d) Estabilidade e instruções de armazenamento**: o colesterol em soro é estável durante um período de até 1 semana sob refrigeração e 2 meses congelado, sem acrescentar conservantes.

## MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro.

- Micropipeta e pipetas para medir os volumes indicados.

- Tubo ou cuba espectrofotométricas de faces paralelas.

- Banho-maria 37°C.

- Relógio ou timer.

## CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda: 505 nm em espectrofotômetro ou em fotocolorímetro com filtro verde (490-530 nm).

- Temperatura de reação: 37°C

- Tempo de reação: 5 minutos

- Volume de amostra: 10 ul

- Volume do Reagente: 1 ml

- Volume final de reação: 1,01 ml

Os volumes de Amostra e de reagente podem ser modificados proporcionalmente (Ex.: 20 ul de Amostra + 2 ml de Reagente A).

### PROCEDIMENTO

Em três tubos ou cubas espectrofotométricas marcadas B (Branco), P (Padrão) e D (Desconhecido), colocar:

	B	P	D
<b>Padrão</b>	-	10 ul	-
<b>Amostra</b>	-	-	10 ul
<b>Reagente A</b>	1 ml	1 ml	1 ml

Colocar em banho-maria durante 5 minutos a 37°C ou 20 minutos a temperatura ambiente (25°C). Depois, ler no espectrofotômetro a 505 nm ou em fotocolorímetro com filtro verde (490-530 nm), zerando o aparelho com o Branco.

### ESTABILIDADE DA MISTURA DA REAÇÃO FINAL

A cor da reação final é estável 30 minutos. Ler a absorbância durante este período.

### CÁLCULO DOS RESULTADOS

$$\text{colesterol g/l} = D \times f \quad \text{onde } f = \frac{2,00 \text{ g/l}}{P}$$

### CONVERSÃO DE UNIDADES

colesterol (g/l) = colesterol (mg/dl) x 0,01  
colesterol (mmol/l) = colesterol (g/l) x 2,59  
colesterol (g/l) = colesterol (mmol/l) x 0,39

### MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

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

### VALORES DE REFERÊNCIA

O painel de expertos do National Cholesterol Education Program (NCEP) fornece os seguintes valores de colesterol:

Ótimo: < 2,00 g/l

Moderadamente alto: 2,00 - 2,39 g/l

Elevado: ≥ 2,40 g/l

No entanto, é recomendável que cada laboratório estabeleça seus próprios intervalos ou valores de referência.

### LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em Amostra.

Os redutores diminuem a resposta de cor, enquanto que os oxidantes colore o Reagente A aumentando os Brancos. Os detergentes, metais pesados e cianetos são inibidores enzimáticos.

Não utilizar o Padrão em analisadores automáticos, posto que existem diferenças entre sua tensão superficial e a do soro, resultante do dissolvente empregado na preparação.

É recomendável realizar uma nova calibração semanal ou cada vez que sejam obtidos valores fora da faixa aceitável dos controles (Standatrol S-E 2 níveis).

### DESEMPENHO

**a) Reprodutibilidade:** processando duplicatas das mesmas amostras em 10 dias diferentes, obteve-se:

Nível	D.P.	C.V.
1,24 g/l	± 0,043 g/l	3,49 %
3,31 g/l	± 0,115 g/l	3,48 %

**b) Recuperação:** acrescentando quantidades conhecidas de colesterol aos diferentes soros, obteve-se uma recuperação entre 98 e 101%, para todo o nível de colesterol entre 1,90 e 4,79 g/l.

**c) Limite de detecção:** depende do fotômetro empregado. Para a leitura de 0,001 D.O. a variação mínima de concentração detectável será aproximadamente de 0,0063 g/l.

**d) Linearidade:** a reação é linear até 5 g/l. Em valores superiores, diluir a metade da solução com o Branco e repetir a leitura multiplicando o resultado final por 2.

### PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado. Para a calibração deve ser utilizado **Calibrador A plus** de Wiener lab., conforme os requerimentos do analisador.

### APRESENTAÇÃO

- 4 x 100 ml c/Padrão (Cód. 1220114).

- 2 x 500 ml c/Padrão (Cód. 1220222).

- 6 x 60 ml (Cód. 1009308).

- 6 x 60 ml (Cód. 1009610).

- 6 x 55 ml (Cód. 1008157).

- 12 x 50 ml (Cód. 1009253).

- 4 x 40 ml (Cód. 1009802).

Empregando os reagentes **Colestat enzimático AA líquida** junto com **HDL Colesterol Reactivo Precipitante**, **HDL Colesterol FT** e **LDL Colesterol Reactivo Precipitante** (fornecidos por separado pela Wiener lab.) é possível determinar o colesterol ligado às lipoproteínas de alta densidade (HDL colesterol) e às lipoproteínas de baixa densidade (LDL colesterol).

### REFERÊNCIAS

- Abell, L.L. et al. - J. Biol. Chem. 195:357 (1952).

- Allain, C.C. et al. - Clin. Chem. 20:470 (1974).

- American Health Foundation - Position statement on diet and coronary heart disease - pág. 255 (1972).

- I.F.C.C. - Clin. Chim. Acta 87/3:459 F (1978).

- Trinder, P. - Ann. Clin. Biochem. 6/24 (1969).

- Coniglio, R.L. - Acta Bioq. Clin. Latinoam. XXIII/2:201, (1989).

- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).

- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.



# Colestat

## enzimático AA

Enzymatic method for the determination of cholesterol  
in serum or plasma

### SUMMARY

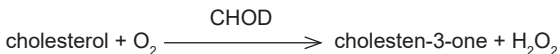
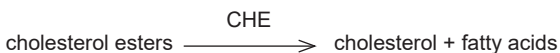
Isolated cholesterol determination has a limited diagnostic value. However, its concentration varies in a predictable way in a large number of clinical conditions.

Cholesterol is one of the factors that contributes to the formation of atheroma since atherosclerosis complications are mainly found in hypercholesterolemic individuals.

Several epidemiological studies have shown that, among males over 40 years old, the risk of developing coronary heart disease for individuals with blood cholesterol lower than or equal to 2.10 g/l, is 3 times less for individuals with over 2.30 g/l and 6 times less for individuals with over 2.60 g/l.

### PRINCIPLE

The reaction system is as follows:



### PROVIDED REAGENTS

**S. Standard\*:** 2 g/l cholesterol solution.

**A. Reagent A:** solution containing cholesterol esterase (CHE), cholesterol oxidase (CHOD), peroxidase (POD), 4-amino-phenazone (4-AP) and Good buffer, which contains phenol and sodium cholate, in the following concentrations:

CHE.....	≥ 100 U/l
CHOD.....	≥ 100 U/l
POD.....	≥ 1000 U/l
4-AP.....	0.2 mmol/l
Good.....	50 mmol/l
Phenol.....	15 mmol/l
Sodium cholate.....	0.2 mmol/l

### NON-PROVIDED REAGENTS

Wiener lab.'s **Calibrador A Plus**.

### INSTRUCTIONS FOR USE

**Provided Reagents:** ready to use.

### WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use.

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:** stable in refrigerator (2-10°C) until the expiration date shown on the box. Do not expose to high temperatures for long periods of time.

### INSTABILITY OR DETERIORATION OF REAGENTS

Blank readings over 0.160 O.D. indicate Reagent A deterioration. Discard in such case.

### SAMPLE

Serum or plasma.

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

**b) Additives:** when using plasma, it is recommended to use only heparin as anticoagulant to obtain it.

**c) Known interfering substances:**

- With the exception of heparin, common anticoagulants interfere with the test.

- Do not use sera with visible or intense hemolysis since they lead to falsely increased results.

- No interferences are observed from bilirubin up to 80 mg/l, ascorbic acid up to 75 mg/l, uric acid up to 200 mg/l, mild hemolysis.

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

**d) Stability and storage instructions:** without preservatives, serum cholesterol is stable for at least 1 week in a refrigerator and 2 months in a freezer.

### REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer or photocolormeter.

- Micropipettes and pipettes for measuring the stated volumes

- Tubes or spectrophotometric cuvettes.

- Water bath at 37°C.

- Stopwatch.

### ASSAY CONDITIONS

- Wavelength: 505 nm in spectrophotometer or 490-530 nm in photocolormeter with green filter.

- Reaction temperature: 37°C

- Reaction time: 5 minutes

- Sample volume: 10 µl

- Reagent volume: 1 ml

- Final reaction volume: 1.01 ml

Sample and Reagent A volumes may be varied proportionally (e.g. 20 µl Sample + 2 ml Reagent A).

## PROCEDURE

In three tubes or spectrophotometer cuvettes, labeled B (Blank), S (Standard) and U (Unknown), place:

	B	S	U
<b>Standard</b>	-	10 ul	-
<b>Sample</b>	-	-	10 ul
<b>Reagent A</b>	1 ml	1 ml	1 ml

Incubate 5 minutes in water bath at 37°C, or 20 minutes at room temperature (25°C). Read in spectrophotometer at 505 nm or in photocolormeter with green filter (490-530 nm), setting the instrument to zero with the Blank.

## STABILITY OF FINAL REACTION

Final reaction color is stable for 30 minutes, thus absorbance should be read within that period.

## CALCULATIONS

$$\text{cholesterol (g/l)} = D \times f \quad \text{where } f = \frac{2.00 \text{ g/l}}{S}$$

## UNITS CONVERSION

cholesterol (g/l) = cholesterol (mg/dl) x 0.01  
cholesterol (mmol/l) = cholesterol (g/l) x 2.59  
cholesterol (g/l) = cholesterol (mmol/dl) x 0.39

## QUALITY CONTROL METHOD

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

## REFERENCE VALUES

The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel provided the following reference values:

Desirable: < 2.00 g/l  
Borderline high: 2.00 - 2.39 g/l  
High: ≥ 2.40 g/l

It is recommended that each laboratory establishes its own intervals and reference values

## PROCEDURE LIMITATIONS

See Known interfering substances under SAMPLE. Reducing agents decrease the color response, while oxidants color the Reagent A increasing the Blanks. Detergents, heavy metals and cyanides are enzyme inhibitors.

Do not use the Standard in autoanalyzers due to the different surface tension in regards to serum, caused by the solvent used in its preparation.

It is recommended to perform one weekly calibration or each time values outside the acceptable Controls (Standatrol S-E 2 niveles) normal range are obtained.

## PERFORMANCE

**a) Reproducibility:** processing replicates of the same samples in 10 different days, the following results were obtained:

Level	S.D.	C.V.
1.24 g/l	± 0.043 g/l	3.49 %
3.31 g/l	± 0.115 g/l	3.48 %

**b) Recovery:** adding known amounts of cholesterol to different sera, for cholesterol levels between 1.90 and 4.79 g/l, a recovery between 98 and 101% was obtained.

**c) Detection limit:** it depends on the photometer used. For a 0.001 O.D. reading, the minimum detectable change of concentration will be of approximately 0.0063 g/l.

**d) Linearity:** the reaction is linear up to 5 g/l. For higher values, dilute 1:2 with Blank and repeat the reading, multiplying the final result by 2.

## PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

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

For calibration use Wiener lab's **Calibrador A Plus**, following the autoanalyzer requirements.

## WIENER LAB. PROVIDES

- 4 x 100 ml w/Standard (Cat. Nº 1220114).
- 2 x 500 ml w/Standard (Cat. Nº 1220222).
- 6 x 60 ml (Cat. Nº 1009308).
- 6 x 60 ml (Cat. Nº 1009610).
- 6 x 55 ml (Cat. Nº 1008157).
- 12 x 50 ml (Cat. Nº 1009253).
- 4 x 40 ml (Cat. Nº 1009802).

Using **Colestat enzimático AA líquida** along with **HDL-Colesterol Reactivo Precipitante**, **HDL Colesterol FT** and **LDL-Colesterol Reactivo Precipitante** (separately provided by Wiener lab.) it is possible to determine the high density lipoprotein cholesterol (HDL Cholesterol) and low density lipoprotein cholesterol (LDL Cholesterol).

## REFERENCES

- Abell, L.L. et al. - J. Biol. Chem. 195:357 (1952).
- Allain, C.C. et al. - Clin. Chem. 20:470 (1974).
- American Health Foundation - Position statement on diet and coronary heart disease - pág. 255 (1972).
- I.F.C.C. - Clin. Chim. Acta 87/3:459 F (1978).
- Trinder, P. - Ann. Clin. Biochem. 6/24 (1969).
- Coniglio R.I. - Acta Bioq. Clin. Latinoam. XXIII/2:201 (1989).
- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.



Nr kat. 1220114  
Nr kat. 1220222  
Nr kat. 1009253  
Nr kat. 1009308

Nr kat. 1009610  
Nr kat. 1009802  
Nr kat. 1008157

# Colestat

## enzimático AA

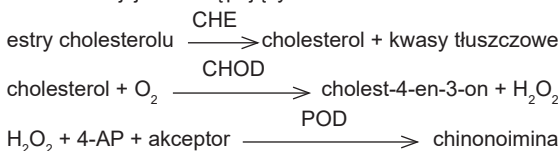
Metoda enzymatyczna do oznaczania poziomu cholesterolu  
w surowicy lub osoczu

### WSTĘP

Oznaczenie izolowanego cholesterolu ma ograniczoną wartość diagnostyczną. Jakkolwiek jego stężenie ma wartość prognostyczną w wielu stanach klinicznych. Cholesterol jest jednym z czynników związanych z tworzeniem się ognisk miażdżycowych w związku z obecnością hypercholesterolemii u pacjentów z powikłaniami miażdżycowymi. Kilka badań epidemiologicznych wśród mężczyzn powyżej 40 roku życia wykazało, że ryzyko rozwoju choroby wieńcowej serca u osób z poziomem cholesterolu we krwi poniżej 2,10 g/l jest 3 razy mniejsze niż u osób 2,30 g/l i 6 razy mniejsze niż u osób z cholesterolem powyżej 2,60 g/l.

### ZASADA DZIAŁANIA

Układ reakcji jest następujący:



### DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

**S. Próba wzorcowa\*:** roztwór 2 g/l cholesterolu.

**A. Odczynnik A:** roztwór zawierający cholinoesterazę (CHE), oksydazę cholesterolową (CHOD), peroksydazę (POD), 4-aminoantypiryna (4-AP) oraz bufor Good'a zawierający fenol, cholan sodu w następujących stężeniach:

CHE .....	≥ 100 U/l
CHOD .....	≥ 100 U/l
POD .....	≥ 1000 U/l
4-AP .....	0,2 mmol/l
Bufor (Good'a) .....	50 mmol/l
Fenol .....	1,5 mmol/l
Cholan sodu .....	0,2 mmol/l

### NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

**Calibrador A plus** z Wiener lab.

### INSTRUKCJA UŻYCIA

Dostarczane odczynniki: gotowe do użycia.

### OSTRZEŻENIA

Odczynniki wyłącznie do użycia "in vitro".

Stosować odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych.

Odczynniki i materiał badany powinni być odrzucone zgodnie z lokalnymi przepisami.

### TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczone odczynniki: trwałe w lodówce w temperaturze 2-10°C do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu. Nie pozostawiać w wysokich temperaturach na dłuższy czas.

### BRAK TRWAŁOŚCI I POGORSZENIE JAKOŚCI ODCZYNNIKÓW

Ślepe odczyty powyżej 0,160 O.D. wskazują na pogorszenie jakości odczynnika A, którego nie należy stosować.

### MATERIAŁ BADANY

Surowica lub osocze.

**a) Pobranie:** pobrać w klasyczny sposób.

**b) Substancje dodatkowe:** do otrzymania osocza zaleca się zastosowanie wyłącznie heparyny jako antykoagulantu.

**c) Znane interakcje:**

- na test wpływają klasyczne antykoagulanty z wyjątkiem heparyny,
- nie stosować surowicy z widoczną lub znaczną hemolizą ze względu na możliwość fałszywych wyników,
- nie obserwowano interakcji z bilirubina do 80 mg/l, kwasem askorbinowym do 75 mg/l, kwasem moczowym do 200 mg/l oraz przy łagodnej hemolizie.

Sprawdź źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie.

**d) Trwałość i instrukcja przechowywania:** cholesterol w surowicy jest trwały bez konserwantów co najmniej przez 1 tydzień w lodówce i 2 miesiące w zamrażarce.

### WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT

- Spektrofotometr lub fotokolorometr.
- Mikropipety i pipety do pomiaru objętości.
- Probówki lub kuwety do spektrofotometru.
- Łażnia wodna o temp. 37°C.
- Stoper.

### WARUNKI DLA PRZEPROWADZENIA TESTU

- Długość fali 505 nm w spektrofotometrze lub 490-530 nm w fotokolorymetrze z zielonym filtrem.
  - Temperatura reakcji: 37°C
  - Czas reakcji: 5 min.
  - Objętość próbki: 10 ul
  - Objętość odczynnika: 1 ml
  - Objętość końcowej reakcji: 1,01 ml
- Objętości Materiału badanego i Odczynnik A mogą różnić się proporcjonalnie (np. 20 ul Materiału badanego + 2 ml Odczynnika A).

## PROCEDURA

W trzech próbkach lub kuwetach spektrofotometrycznych oznaczonych B (Blank - Próba ślepa), S (Standard - Próba wzorcowa) oraz U (Unknown - Materiał niezany), umieścić:

	B	S	U
Próba wzorcowa	-	10 ul	-
Materiał badany	-	-	10 ul
Odczynnik A	1 ml	1 ml	1 ml

Inkubować 5 minut w łaźni wodnej przy temp. 37°C, lub 20 min. w temp. pokojowej (25°C). Odczytać w spektrofotometrze przy długości fali 505 nm lub 490-530 nm w fotokolorymetrze z zielonym filtrem, ustawiając aparat na zero przy próbie ślepej.

## TRWAŁOŚĆ REAKCJI KOŃCOWEJ

Kolor reakcji końcowej jest trwały przez 30 min, stąd absorbancja powinna zostać odczytana w tym czasie.

## OBLICZENIA

cholesterol (g/l) =  $D \times f$

$$\text{gdzie } f = \frac{2,00 \text{ g/l}}{S}$$

## KONWERSJA JEDNOSTEK SI

cholesterol (g/l) = cholesterol (mg/dl) x 0,01  
cholesterol (mmol/l) = cholesterol (g/l) x 2,59  
cholesterol (g/l) = cholesterol (mmol/dl) x 0,39

## METODA KONTROLI JAKOŚCI

Za każdym razem gdy przeprowadzane jest badanie należy przeprowadzić próbę kontroli jakości na dwóch poziomach (Standatrol S-E 2 niveles) przy znanym poziomie stężenia cholesterolu.

## WARTOŚCI REFERENCYJNE

Zespół Ekspertów The National Cholesterol Education Program (NCEP) zaproponował następujące wartości referencyjne:

pożądane: < 2,00 g/l  
granicznie wysokie: 2,00 - 2,39 g/l  
wysokie: ≥ 2,40 g/l

Zaleca się dla każdego laboratorium oznaczenie własnych wartości referencyjnych.

## OGRANICZENIA PROCEDURY

Zobacz znane interakcje w rozdziale MATERIAŁ.

Czynniki redukujące zmniejszają reakcję barwną, czynniki utleniające zwiększają reakcję barwną zwiększając pomiary próbki ślepej.

Środki powierzchniowo czynne, metale ciężkie, cyjanki są inhibitorami enzymów.

Nie stosować Materiału wzorcowego w analizatorach automatycznych ze względu na zmianę napięcia powierzchniowego surowicy przy zastosowaniu rozpuszczalnika. Zaleca się wykonanie cotygodniowej kalibracji lub za każdym razem gdy w wyniku przeprowadzonej kontroli (Standatrol S-E 2 niveles) pojawiają się wartości spoza zakresu normy.

## CHARAKTERYSTYKA TESTU

**a) Powtarzalność:** przeprowadzono powtórzenia testu tej samej próbki w 10 różnych dniach, otrzymano następujące wyniki:

Poziom	S.D.	C.V.
1,24 g/l	± 0,043 g/l	3,49 %
3,31 g/l	± 0,115 g/l	3,48 %

**b) Odzyskiwanie:** dodając znane ilości cholesterolu do różnych surowic uzyskano odzysk pomiędzy 98-101% dla poziomów cholesterolu pomiędzy 1,90 - 4,79 g/l.

**c) Ograniczenia wykrywania:** zależą od zastosowanego fotometru. Dla odczytu 0,001 O.D. minimalna wykrywalna zmiana stężenia to ok. 0,0063 g/l.

**d) Linijność:** reakcja jest linijna do 5 g/l. Dla wyższych wartości należy rozcieńczyć w stosunku 1:2 z próbą ślepą i powtórzyć odczyty mnożąc końcowe wyniki przez 2.

## PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Należy zapoznać się z instrukcją obsługi celem programowania danego analizatora automatycznego.

Do kalibracji zastosować Calibrator A plus Wiener lab. zgodnie z wymaganiami analizatora automatycznego.

## WIENER LAB. DOSTARCZA

- 4 x 100 ml + Próba wzorcowa (Nr kat. 1220114).
- 2 x 500 ml + Próba wzorcowa (Nr kat. 1220222).
- 6 x 60 ml (Nr kat. 1009308).
- 6 x 60 ml (Nr kat. 1009610).
- 6 x 55 ml (Nr kat. 1008157).
- 12 x 50 ml (Nr kat. 1009253).
- 4 x 40 ml (Nr kat. 1009802).


## ŹRÓDŁA


- Abell, L.L. et al. - J. Biol. Chem. 195:357 (1952).
- Allain, C.C. et al. - Clin. Chem. 20:470 (1974).
- American Health Foundation - Position statement on diet and coronary heart disease - pág. 255 (1972).
- I.F.C.C. - Clin. Chim. Acta 87/3:459 F (1978).
- Trinder, P. - Ann. Clin. Biochem. 6/24 (1969).
- Coniglio R.I. - Acta Bioq. Clin. Latinoam. XXIII/2:201 (1989).
- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 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

IVD

 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.  
PM 1102-152

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina