Diagnosticum Zrt.
H-1047 Budapest, Attila u. 126.
+36-1-369-0739, +36-1-380-4500
+36-1-369-4383
business@diagnosticum.hu

# KOLESZTERIN ADPS

CE

## STABIL FOLYÉKONY REAGENS

| | | | |
|---|---|---|---|
| Kódszám: | 46061,46061S | 46062,46062S | 46063 |
| Kiszerelés: | 120 ml (1x80 ml+ 1x40 ml) | 600 ml (1x400 ml+1x200 ml) | 10x30 ml (10x20 ml+10x10 ml) |

**A szérum összkoleszterin koncentrációjának meghatározására szolgáló reagenskészlet. Enzimatikus, kolorimetriás teszt (ADPS).**

A koleszterin bioszintézise elsősorban a májban és a bélnyálkahártyában történik, de szinte valamennyi sejt szintetizálja. Számos membrán alkotórésze, epesavak és a szteroid hormonok kiindulási vegyülete. A vérben észterek formájában bétalipoproteinekhez kötve kering. A koleszterinszint változása elsősorban a májműködés zavaraira utal. Emelkedhet elzáródásos sárgaságban, diabetesz mellituszban és a pajzsmirigy csökkent működése során. Csökken a koncentráció hyperthyreosis egyes eseteiben, néhány anémiában. Az összkoleszterin meghatározása mellett a különböző denzitású frakciók (HDL,LDL,VLDL) azonosítása is szerepet játszik a diagnózisban.

*A meghatározás elve*

$$\text{koleszterin-észter} + H_2O \xrightarrow{\text{koleszterin–észteráz}} \text{koleszterin} + \text{zsírsavak}$$

$$\text{koleszterin} + O_2 \xrightarrow{\text{koleszterin–oxidáz}} \text{delta-4-koleszten-on} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{4-aminoantipirin} + \text{ADPS} \xrightarrow{\text{peroxidáz}} \text{lila kinonszármazék} + 4H_2O$$

ADPS=N-etil-N-szulfopropil-anizidin

**Referencia-értéktartomány**
**Szérum koleszterin: 2,8-5,2 mmol/l (110-200 mg/dl)**
Minden laboratóriumnak ajánlott a saját normálérték-tartományát meghatározni.

**Reagensek**
**1.Reagens(R1)**

| | |
|---|---|
| Pipes puffer,pH=7,00 | 50 mmol/l |
| ADPS | 1 mmol/l |
| koleszterin-észteráz | ≥180 U/l |
| peroxidáz | ≥1000 U/l |
| aszkorbát-oxidáz | ≥3000 U/l |

**2.Reagens (R2)**

| | |
|---|---|
| 4-aminoantipirin | 0.9 mmol/l |
| koleszterin-oxidáz | ≥200 U/l |

**3. Standard**
Csak a 46061S és 46062S katalógusszámú terméknél. Kérjük olvassa el a mellékelt standard használati utasítást.

**Figyelmeztetés**
Zavaros reagens felhasználása tilos. A szennyezések elkerülésére csak tiszta laboratóriumi eszközöket szabad használni. A reagensek nátrium-azidot tartalmaznak (0.1%).
Az azid-vegyületek keletkezésének elkerülése érdekében, a reagens kiöntése után a lefolyót vízzel öblítsük ki.

**Minta**
Hemolízismentes szérum.

**A reagensek stabilitása**
Fénytől védve és 2-8 °C-on tárolva a reagensek
felbontás nélkül: a címkén jelzett ideig,
felbontás után: 30 napig használhatók.

## *A VIZSGÁLAT KIVITELEZÉSE*

**Munkareagens készítése és stabilitása**
**● Egykomponensű reagens készítése:**
Keverjünk össze két térfogatnyi Rl reagenst egy térfogatnyi R2 reagenssel.
Stabilitása: 20-25°C-on: 14 nap
2-8°C-on: 30 nap
**● Eljárás két reagens alkalmazásával:**
A reagensek felhasználásra készek.
Amennyiben a munkareagens abszorbanciája 546 nm-en meghaladja a 0,1-et, a reagens nem használható.

**Mérési eljárás**

| | |
|---|---|
| Hullámhossz: | 546 (520-570) nm |
| Hőmérséklet: | 37°C |
| Fényút: | 1 cm |
| Mérés: | végpontos (növekvő) |
| Leolvasás: | reagens vakkal szemben |

**Bemérés egy reagens esetén:**

| | vak | standard | minta |
|---|---|---|---|
| **munkareagens** | 1 ml | 1 ml | 1 ml |
| **desztillált víz** | 10µl | | |
| **standard** | | 10µl | |
| **minta** | | | 10µl |

Keverjük össze és öt perces inkubálás után mérjük meg az abszorbanciát.

**Bemérés két reagens esetén:**

| | vak | standard | minta |
|---|---|---|---|
| **R1** | 1 ml | 1 ml | 1 ml |
| **desztillált víz** | 15µl | | |
| **standard** | | 15µl | |
| **minta** | | | 15µl |

Keverjük össze és inkubáljuk egy percig.

| | | | |
|---|---|---|---|
| **R2** | 500µl | 500µl | 500µl |

Keverjük össze és öt perces inkubálás után mérjük meg az abszorbanciát.

**Kalibráció:** (koleszterin-oxidázos módszerre, 37 °C-on)
S1:Desztillált víz
S2: Diagnosticum DunaCal katalógusszám: Dcal vagy
Koleszterin standard Kat.: 50611N vagy
Roche C.F.A.S. (Calibrator for automated system) vagy
Randox Calibration Serum Level I vagy
Randox Calibration Serum Level II
Ajánlott új kalibrációt végezni:
- új gyártási számú készlet felbontásakor,
- ahogy ezt a laboratórium belső minőségügyi rendszere előírja.

**Az eredmény kiszámítása**

$$\frac{A_{minta}}{A_{standard}} x C_{standard} = C_{minta}$$

A=abszorbancia,, C=koncentráció

**Belső minőségellenőrzés**
A minőségellenőrzés ajánlott minden laboratóriumnak. Két különböző szintű (egy normál és egy emelkedett) kontrollt javaslunk. A kontrollok mért értékeinek a gyártó által meghatározott tartományba kell esniük. Ha a tartományon kívül esnek az értékek, ajánlott korrigálni a méréseket. Ajánlott kontrollok: Diagnosticum DunaCont N (Katalógusszám: Dcon-N) és DunaCont P (Katalógusszám: Dcon-P)

## *A REAGENS TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐI*

A méréseket Hitachi 717-es automatán végeztük.

**Linearitási tartomány**
A módszer 15,5 mmol/l (6 g/l) koncentrációig lineáris.
**Érzékenység**
Minden laboratórium számára ajánlott meghatározni saját érzékenységi határt, mivel ezt az alkalmazott spektrofotométer érzékenysége is befolyásolja. A kézi mérés körülményei között 546 nm-en mért 0,001 abszorbanciaváltozás megegyezik 0,009 mmol/l koleszterin koncentrációval.

**Precizitás**

| | Reprodukálhatóság | | |
|---|---|---|---|
| | Átlag konc. (mmol/l) | SD | CV % |
| **1. minta** | 2,73 | 0,05 | 1,83 |
| **2. minta** | 4,99 | 0,20 | 4,01 |

**Szelektivitás**
Bilirubin 0,5 g/l–ig (855 µmol/l), lipid 2,5 g/l–ig, glükóz 10 g/l–ig (55,5 mmol/l) aszkorbinsav 0,25 g/l–ig (1,42 mmol/l) nem befolyásolja a mérést.
**Korreláció**
Reagensünket összehasonlítottuk más gyártó koleszterin reagensével.
A korrelációs regresszió adatai a következők:
korrelációs koefficiens: r = 0,9960,
lineáris regresszió: y (mmol/l) = 0,980x+0,107
(x= más gyártó reagense, y= saját reagens).
**Megjegyzés**
Ne használja a reagenst a csomagolása címkéjén feltüntetett lejárati dátum eltelte után. A készítményeket, tesztoldatokat és reagenseket csak az itt leírt teszthez szabad felhasználni.

**Csak *in vitro* diagnosztikai használatra alkalmas.**
**A címkéken a következő szimbólumok lehetnek**

| | | | |
|---|---|---|---|
| IVD | In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz | LOT | Gyártási szám |
| | Gyártó | REF | Kódszám |
| CE | CE-jelölés | | Tárolási irány |
| | Tárolási hőmérséklet | | Biológiai veszély |
| | Lejárati idő (év/hónap) | | |

**Irodalom**
*Allain C.C. and al.: Clin. Chem.,1974, 20:470*
*Szabó A.: Klinikai laboratóriumi vizsgálatok és paraméterek (2010) (ISBN 978-963-9879-75-1)*

Verzió: 60-DL-2014-09
Felülvizsgálat dátuma: 2016-03

Diagnosticum Zrt.
H-1047 Budapest, Attila u. 126.
+36-1-369-0739, +36-1-380-4500
+36-1-369-4383
business@diagnosticum.hu

# CHOLESTEROL ADPS

CE

STABLE LIQUID REAGENT

| | | | |
|---|---|---|---|
| Cat. No.: | 46061, 116063 | 46062, 116064 | 46063, 116065 |
| Size: | 120 ml (1x80 ml+1x40 ml) | 600 ml (1x400 ml+1x200 ml) | 10x30 ml (10x20 ml+ 10x10 ml) |

**Reagent kit for the determination of total cholesterol concentration in serum. Enzymatic colorimetric method (ADPS).**

The biosynthesis of Cholesterol predominantly takes place in the liver and in intestinal mucosa, but almost all cells synthesize it. It is a constituent of many membranes, it is also essential in the synthesis of bile acids and steroid hormones. It circulates in blood as cholesterol ester bound to beta lipoproteins. The measurement of the level of Cholesterol as well as Triglycerides and Lipoproteins is important in examining the metabolism of lipids. Changes in the level of Cholesterol mainly reflect disorders of liver function. Cholesterol level is increased in obstructive jaundice, diabetes mellitus and hypothyroidism. The level is decreased in some cases of hyperthyroidism and certain forms of anaemia. Identification of the different density fractions (HDL, LDL, VLDL) as well as total Cholesterol plays a role in the diagnosis.

**Principle**

$$\text{Cholesterol ester} + H_2O \xrightarrow{\text{Cholesterd-esterase}} \text{Cholesterol} + \text{Fatty acids}$$

$$\text{Cholesterol} + O_2 \xrightarrow{\text{Cholesterd-oxidase}} \text{4-Cholesten-3-one} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{ADPS} + \text{4-Aminoantipyrine} \xrightarrow{\text{peroxidase}} \text{purple quinone} + 4H_2O$$

ADPS=N-Ethyl-N-sulfopropyl-anisidine

**Reference values**

**Serum cholesterol:** **2.8-5.2 mmol/l (110-200 mg/dl)**

It is recommended that each laboratory should assign its own normal range.

**Reagents**

**1. Reagent (R1)**

| | |
|---|---|
| Pipes buffer, pH=7.00 | 50 mmol/l |
| ADPS | 1 mmol/l |
| Cholesterol esterase | ≥180 U/l |
| Peroxidase | ≥1000 U/l |
| Ascorbate oxidase | ≥3000 U/l |

**2.Reagent (R2)**

| | |
|---|---|
| 4-Aminoantipyrine | 0.9 mmol/l |
| Cholesterol oxidase | ≥200 U/l |

**Precaution**

Discard cloudy reagent. Avoid contamination by using clean laboratory materials (pipettes, plastic vials for analyzers). The reagents contain 0.1 % sodium azide. To avoid the possible build-up of azide compounds, flush waste-pipes with water after the disposal of undiluted reagent.

**Samples**

Serum free of haemolysis.

## *PROCEDURE*

**Preparation and stability of working reagent**

•One-reagent procedure:

Mix 2 volumes of R1 with 1 volume of R2.

Stability: at 20-25°C: 2 weeks
at 2-8°C : 1 month

•Two-reagent procedure:

The reagents are ready for use.

Store the reagent protected from light. Store it between 2-8 °C. The interval of reagent's stability in unopened package is signed on the packaging. The reagent can be used for 30 days after opening the packaging.

If the absorbance of working reagent is higher than 0.1 at 546 nm the reagent can not be used.

**Assay conditions**

| | |
|---|---|
| Wavelength: | 546 (520-570) nm |
| Temperature: | 37°C |
| Cuvette: | 1 cm light path |
| Read against: | reagent blank |
| Method: | endpoint (increasing) |

**One-reagent procedure**

| | Blank | Standard | Sample |
|---|---|---|---|
| **Working reagent** | 1 ml | 1 ml | 1 ml |
| **Distilled water** | 10µl | | |
| **Standard** | | 10µl | |
| **Sample** | | | 10µl |

Mix and read the absorbance (A) after a 5-minute incubation.

**Two-reagent procedure**

| | Blank | Standard | Sample |
|---|---|---|---|
| **R1** | 1 ml | 1 ml | 1 ml |
| **Distilled water** | 15µl | | |
| **Standard** | | 15µl | |
| **Sample** | | | 15µl |

Mix and wait 1 minute and add:

| | | | |
|---|---|---|---|
| **R2** | 500µl | 500µl | 500µl |

Mix and read the absorbance (A) after a 5-minute incubation.

**Calibration** (37°C, Cholesterol-oxidase method)

S1: Distilled water

S2: Diagnosticum DunaCal Cat. No.: Dcal or
Cholesterol standard Cat. No.: 650611N or
Roche C.F.A.S. (Calibrator for automated system)
Randox Calibration Serum Level I or
Randox Calibration Serum Level II

**Calibration frequency**

Calibration is recommended:
- after reagent lot change,
- as required following quality control procedures.

**Calculation using calibration**

$$\frac{A_{sample}}{A_{standard}} xC_{standard} = C_{sample}$$

A = Absorbance, C = Concentration

**Quality control**

A quality control program is recommended for all clinical laboratories. The analysis of control material in both the normal and abnormal ranges with each assay is recommended for monitoring the performance of the procedure. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits. Recommended controls: Diagnosticum DunaCont N (Cat. No.: Dcon-N) and DunaCont P (Cat. No.: Dcon-P)

## *PERFORMANCES DATA*

The following data were obtained using the Hitachi 717 analyzer.

**Linearity**

The test is linear up to 15.5 mmol/l (600 mg/dl).

**Sensitivity**

It is recommended that each laboratory establishes its own range of sensitivity as this is limited by the sensitivity of the spectrophotometer used. Under manual conditions however, a change of 0.001 Abs is equivalent to 0.009 mmol/l (0,35 mg/dl) cholesterol concentration at 546 nm.

**Precision**

| | Reproducibility | | |
|---|---|---|---|
| | Average concentration (mmol/l) | SD | CV% |
| **Sample I** | 2.73 | 0.05 | 1.83 |
| **Sample II** | 4.99 | 0.20 | 4.01 |

**Correlation**

Comparative studies were done to compare our reagent with another commercial Cholesterol reagent.
The results from these studies are detailed below.
Correlation coefficient: r=0.9960
Linear regression: y (mmol/l)= 0.980x+0.107
(x= other commercial reagent, y= own reagent).

**Specificity**

Bilirubin 855 µmol/l (50mg/dl), lipid 250mg/dl, glucose 55.5 mmol/l (1000mg/dl) and ascorbic acid 1.42 mmol/l (25mg/dl) don't interfere with the assay up to the given levels.

**NOTE**

Do not use reagents after the expiry date stated on each reagent container label. Do not use products, test solutions and reagents described above for any purpose other than described herein.

**For *in vitro* diagnostic use only.**
**The following symbols can be used on the labels**

| | | | |
|---|---|---|---|
| IVD | In vitro diagnostic device | LOT | Batch code |
| | Manufacturer | REF | Catalogue number |
| CE | CE-marking | | This way up |
| | Temperature limitations | | Biological risk |
| | Use by (year/month) | | |

**Bibliography**

*Allain C.C and al., Clin. Chem., 1974;20: 470.*
*Szabó A.: Klinikai laboratóriumi vizsgálatok és paraméterek (2010) (ISBN 978-963-9879-75-1)*

Version: 60-DL-2014-09
Date of revision: 2016-03