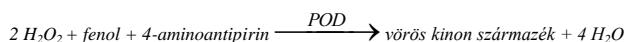
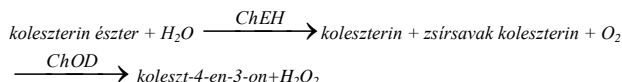


**Szérum összkoleszterin koncentrációjának meghatározására szolgáló reagenskészlet. Enzimátikus, kolorimetriás teszt (PAP).**

A koleszterin bioszintézise elsősorban a májban és a bélnyálkahártyában történik, de szinte valamennyi sejt szintetizálja. Számos membrán alkotórésze, egyesek és a szteroid hormonok kiindulási vegyülete. A vérben észterek formájában béta-lipoproteinekhez kötve kering. A koleszterin-szint változása elsősorban a májműködés zavaraira utal. Emelkedhet elzáródásos sárgaságban, diabetes mellitusban 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 mérés elve**

A koleszterin észtereket a koleszterin észter-hidroláz (ChEH) hidrolizálja. Az így keletkezett szabad koleszterint a koleszterinoxidáz (ChOD) koleszterinná alakítja át, miközben hidrogén-peroxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) keletkezik. A hidrogén-peroxid a peroxidáz (POD), fenol és 4-aminantipirin indikátorreakció segítségével 505 nm-en jól mérhető vörös kinon származékká alakul.



**Referencia-értéktartomány**

Szérum, felnőtt: 2,8-5,2 mmol/l (110-200 mg/dl)  
 Szérum, gyermek: <4,40 mmol/l (<170 mg/dl)

Minden laboratóriumnak ajánlott a saját normálérték-tartományát meghatározni.

**Reagens**

**1. Reagens (R1)**

PIPES puffer pH=6,7	50 mmol/l
Fenol	24 mmol/l
koleszterin-oxidáz	200 U/l
koleszterin-észteráz	180 U/l
peroxidáz	1000 U/l
4-aminoantipirin	0,5 mmol/l
nátrium-kolát	0,5 mmol/l

**2. Standard**

Csak a 47061S és 47062S katalógusszámú terméknel. 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.

**Reagens stabilitása**

Fénytől védve és 2-8 °C-on tárolva a reagensek felbontás nélkül: a címkén jelzett időpontig  
 felbontás után: 30 nap  
 kalibrációs gyakoriság: 7 nap  
 onboard stabilitás: 7-30 nap  
 A stabilitások kizárólag új rendszerflakon használata esetén érvényesek!

**A VIZSGÁLAT KIVITELEZÉSE**

A reagens felhasználásra kész. Amennyiben a reagens abszorbanciája 492 nm-en meghaladja a 0,28-at, nem használható.

**Minta**

Hemolízismentes szérum. Stabilitás: 7 nap (2-8°C)

**Mérési eljárás**

Hullámhossz: 505 (480-520) nm  
 Hőmérséklet: 37 °C  
 Fényút: 1 cm  
 Mérési mód: végpontos (növekvő)  
 Leolvasás: reagens vakkal szemben

**Bemérés**

	vak	standard	minta
desztillált víz	10µl		
standard		10µl	
minta			10µl
munkareagens	1ml	1ml	1ml

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  
 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 minőségügyi rendszere előírja.

**Az eredmény kiszámítása**

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

A=abszorbancia, C=koncentráció

**Belső minőségellenőrzés**

A minőségellenőrzés ajánlott minden laboratóriumnak. Két különböző szintű (egy normál és egy emelkedett) kontrollt javasolunk. 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 Olympus 400-as automatán végeztük (37°C). Átváltás: [mmol/l]=[mg/dl]/38,64

**Linearitás**

A módszer 0,4 - 20,0 mmol/l (15,5 - 773 mg/dl) koncentrációig lineáris.

**Kimutatási határ**

A kimutatási határ 0,012 mmol/l (0,5 mg/dl)

**Érzékenység**

Minden laboratórium számára ajánlott meghatározni saját érzékenységi határt, mivel ezt az alkalmazott spektrofotométer érzékenysége is befolyásolja. A kézi mérés körülményei között 492 nm-en mért 0,001 abszorbanciaváltozás megegyezik 0,015 mmol/l (0,58 mg/dl) koleszterin-koncentrációval.

**Precizitás**

n=20	Reprodukálhatóság		
	Átlag konc.(mmol/l)	SD	CV %
1. minta	2,5	0,044	1,79
2. minta	5,4	0,093	1,72

n=20	Ismételhetőség		
	Átlag konc.(mmol/l)	SD	CV %
1. minta	3,6	0,034	1,02
2. minta	11,8	0,094	0,80

**Korreláció**

Összehasonlítottuk reagensünket más gyártó Koleszterin PAP reagensével.

A korrelációs regresszió adatai a következők:  
 korrelációs koefficiens: r= 0,9994,  
 lineáris regresszió: y (mmol/l)= 1,006x+0.105  
 (x= más gyártó reagens, y= saját reagens).

**Szelektivitás**










Bilirubin 855 µmol/l-ig (0,5 g/l), lipid 4,5 g/l-ig, glukóz 55,5 mmol/l-ig (10 g/l), aszkorbinsav 0,6 mmol/l-ig (0,1 g/l) nem befolyásolja a mérést.

**Megjegyzés**

Ne használja a reagent a csomagolása címkéjén feltüntetett lejárat dátum eltelte után. A készítményeket, tesztadatokat és reagenset csak az itt leírt teszthez szabad felhasználni.

**Csak in vitro diagnosztikai vizsgálatokra alkalmas.**

**A címkéken a következő szimbólumok lehetnek**

	In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz		Gyártási szám
	Gyártó		Kódszám
	CE-jelölés		Tárolási irány
	Tárolási hőmérséklet		Biológiai veszély
	Lejárat idő (év/hónap)		

**Irodalom**

Allain C.C and al., Clin.Chem.,20, (1974), 470.

Verzió: 70-DL-2016-13

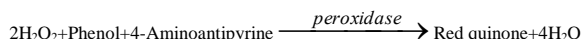
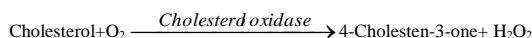
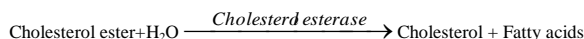
Felülvizsgálat dátuma: 2016-12

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

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**

The Cholesterol esters of the sample are hydrolysed by Cholesterol esterhydrolase (ChEH). 4-Cholesten-3-one and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> are then formed from the released free Cholesterol by Cholesterol oxidase (ChOD). A measurable Red quinonimine derivative which absorbance light at 505 nm is formed from Hydrogenperoxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and 4-Aminoantipyrine in the presence of Phenol and peroxidase (POD).



**Reference values**

**Serum, adult:** 2.8-5.2 mmol/l (110-200 mg/dl)  
**Serum, child:** <4.40 mmol/l (<170 mg/dl)

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

**Reagents**

**1. Reagent (R1)**

Pipes buffer, pH=6.90	50 mmol/l
Phenol	24 mmol/l
Sodium cholate	0.5 mmol/l
4-Aminoantipyrine	0.5 mmol/l
Cholesterol esterase	180 U/l
Cholesterol oxidase	200 U/l
Peroxidase	1000 U/l

**Precautions**

Discard cloudy reagent. Avoid contamination by using clean laboratory materials (pipettes, plastic vials...). 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.

**Stability of the reagents**

Store the reagent protected from light. Store it between 2-8 °C.  
 without opening: till the expiry date indicated on the label  
 after opening: 30 days  
 calibration frequency: 7 days  
 onboard stability: 7-30 days  
 Stability data are valid only when using new system bottle!

**PROCEDURE**

**Preparation and stability of working reagents**

The reagent is ready for use.  
 If the absorbance of working reagent is higher than 0.28 at 492 nm the reagent can not be used.

**Samples**

Serum free of haemolysis. Stability: 7 day (2-8°C)

**Assay conditions**

Wavelength:	505 (480-520) nm
Temperature:	37°C
Cuvette:	1 cm light path
Read against:	reagent blank
Method:	endpoint (increasing)

**Pipette into cuvette**

	Blank	Standard	Sample
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.

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

S1: Distilled water  
 S2: Diagnosticum DunaCal Cat. No.: Deal 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:**

Two point calibration is recommended

- after reagent lot change,  
 - as required following quality control procedures.

**Calculation using calibration**

$$\frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{standard}}} \times C_{\text{standard}} = C_{\text{sample}}$$

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 Olympus 400 analyzer (37°C). Conversion factor: [mmol/l]=[mg/dl]/38,64

**Linearity**

Between 0,4 - 20,0 mmol/l (15,5 - 773 mg/dl).

**Limit of detection**

The limit of detection is 0,012 mmol/l (0,5 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 0.015 mmol/l (0,58 mg/dl) Cholesterol concentration at 492 nm.

**Precision**

n=20	Reproducibility		
	Average concentration (mmol/l)	SD	CV%
Sample I	2.5	0.044	1.79
Sample II.	5.4	0.093	1.72

n=20	Repeatability		
	Average concentration (mmol/l)	SD	CV%
Sample I	3.6	0.034	1.02
Sample II.	11.8	0.094	0.80

**Correlation**

Comparative studies were done to compare our reagent with another commercial Cholesterol PAP reagent.

The results from these studies are detailed below.

Correlation coefficient: r =0.9994

Linear regression: y (mmol/l)= 1.006x-0.105

(x= other commercial reagent, y= own reagent).

**Specificity**










Bilirubin 855 µmol/l (50 mg/dl), lipid 450 mg/dl, glucose 55.5 mmol/l (1000 mg/dl) and ascorbic acid 0.6 mmol/l (10 mg/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**

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

**Bibliography**

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

Version: 70-DL-2016-13  
 Date of revision: 2016-12