

# LDL-CHOLESTEROL

DIRECT

*Enzymatic colorimetric method*

ENDPOINT

<b>REF KR10290</b> 5 x 40 mL <b>CONTENTS</b> R1. Reagent 5 x 30 mL R2. Reagent 5 x 10 mL	<b>REF KR10292</b> 1 x 40 mL <b>CONTENTS</b> R1. Reagent 1 x 30 mL R2. Reagent 1 x 10 mL
For <i>in vitro</i> diagnostic use only	

## SUMMARY

The assay is a homogeneous method for directly measuring LDL-C concentrations in serum or plasma, without the need for any off-line pretreatment or centrifugation steps.

The method is in a two-reagent format and depends on the properties of a unique detergent. This detergent (Reagent 1) solubilizes only the non LDL lipoprotein particles. The cholesterol released is consumed by cholesterol esterase and cholesterol oxidase in a non color forming reaction. A second detergent (Reagent 2) solubilizes the remaining LDL particles and a chromogenic coupler allows for color formation. The enzyme reaction with LDL-C in the presence of the coupler produces color that is proportional to the amount of LDL cholesterol present in the sample. The intensity of the color formed is proportional to the LDLc concentration in the sample.

## REAGENTS

**R1. Reagent 1.** Buffer. Detergent 1 <1%, Cholesterol esterase (*Pseudomonas* sp.) <1500 U/L, Cholesterol oxidase (*Cellulomonas* sp.) <1500 U/L, Peroxidase (Horseradish) <1300 ppg U/L, 4-Aminoantipyrine <0.1%, Ascorbic oxidase (*Curcubita* sp.) <3000 U/L. Preservative.

**R2. Reagent 2.** Buffer (pH 6.3). Detergent 2 <1%, N,N-bis (4-sulfobutyl) - m-toluidine, disodium (DSBmT) <1.0 mM. Preservative.

**PREPARATION** The Reagents are ready to use.

## STORAGE AND STABILITY

Store at 2-8°C. Stable until the expiry date stated on the label. After daily use stored tightly closed and protected from light. Do not use reagents over the expiration date. Do not freeze. On board are stables 4 weeks. Discard if appear signs of deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Inability to recover control values.

## SAMPLE COLLECTION

Serum, EDTA or heparinized plasma obtained by the patient after an overnight fast. Remove from cells within 3 hours of venipuncture. Samples may be kept at 2-8°C for 2 weeks or at -20°C for 3 months. Anticoagulants containing citrate should not be used.

## INTERFERENCES

- Ascorbic Acid 50 mg/dL
- Hemoglobin 500 mg/dL
- Bilirubin 20 mg/dL
- Gamma-Globulins 5000 mg/dL
- Other drugs and substances may interfere.

Concentration with no significant ( $\pm 10\%$ ) interference.

## INSTRUMENTATION AND MATERIALS

- KROMA analyzer.
- Laboratory equipment.
- Cleaning solutions Ref. KR18100, KR18200, KR18300, KR18400.
- HDL/LDL-Cholesterol Calibrator Ref. 1972005.

## AUTOMATED PROCEDURE

A graphic display pictures the specific sets corresponding to the technical application outlined for this test. Any new application, to the instrument should be validated to confirm that results meet the analytical performance of the method. It is recommended to validate periodically the instrument.

## CALIBRATION

Recalibrate weekly, when a new lot of reagent is used, when control recovery falls out of the expected range or when adjustments are made to the instrument. Two point calibration is recommended (S1: NaCl 9 g/L and S2: Calibrator). A reagent blank should be run daily before sample analysis.

## RESULTS

If results are to be expressed as SI units apply:  $\text{mg/dL} \times 0.0259 = \text{mmol/L}$

## EXPECTED VALUES

Risk group classification according with LDL-C levels.

LDL-Cholesterol levels	RISK
< 100 mg/dL (2.59 mmol/L)	Optimal
100-129 mg/dL (2.59-3.34 mmol/L)	Near optimal
130-159 mg/dL (3.37-4.12 mmol/L).	Borderline
160-189 mg/dL (4.14-4.89 mmol/L)	High
$\geq 190$ mg/dL (4.92 mmol/L)	Very high

It is recommended that each laboratory establishes its own reference range.

## QUALITY CONTROL

To ensure adequate quality control (QC), each run should include a set of controls (normal and abnormal) with assayed values handled as unknowns.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

## DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS

Laboratory investigations, epidemiology and genetic factors of hypercholesterolemia indicate that elevated LDL cholesterol is a major cause of coronary heart disease (CHD). The relationship between LDL-cholesterol levels and CHD risk is continuous over a broad range of LDL levels from low to high.

Recent clinical trials robustly show that LDL-lowering therapy reduces risk for CHD. For these reasons the Adult Treatment Panel III continues to identify elevated LDL cholesterol as the primary target of cholesterol-lowering therapy.

Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance characteristics are available on request.

## BIBLIOGRAPHY

1. Gotto AM, Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia, Hospital Practice, 23: Suppl.1, 4 (1988).
2. Crouse JR et al., Studies of low density lipoprotein molecular weight in human beings with coronary artery disease, J. Lipid Res.,26; 566 (1985).
3. Badimon JJ, Badimon L., Fuester V., Regression of Atherosclerotic Lesions by High-Density Lipoprotein Plasma Fraction in the Cholesterol-Fed Rabbit, Journal of Clinical Investigation, 85:1234-41 (1990).
4. Castelli WP et al., Cholesterol and other lipids in coronary heart disease, Circulation, 55; 767 (1977).
5. Barr DP, Russ EM, Eder HA, Protein-lipid relationships in human plasma, Am. J. Med.,11;480 (1951).



# COLESTEROL-LDL

DIRECTO

Método enzimático colorimétrico

PUNTO FINAL

<b>REF KR10290</b> 5 x 40 mL <b>CONTENIDO</b> R1. Reactivo 5 x 30 mL R2. Reactivo 5 x 10 mL
Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i>

## FUNDAMENTO

El ensayo LDL-C Direct es un método homogéneo para cuantificar las concentraciones de LDL-C en suero o plasma, sin la necesidad de realizar ningún pretratamiento de la muestra.

El método está formulado con dos reactivos y basado en las propiedades de un detergente único. Este detergente (Reactivo 1) no solubiliza las partículas de lipoproteína LDL. El colesterol liberado es consumido por colesterol esterasa y colesterol oxidasa en una formación sin color reacción. Un segundo detergente (Reactivo 2) solubiliza el LDL restante y un acoplador cromogénico permite la formación de color. La reacción enzimática con LDL-C en presencia del acoplador produce color, la intensidad del color formado es proporcional a la concentración de LDLc presente en la muestra ensayada.

## REACTIVOS

**R1. Reactivo 1.** Tampón. Detergente 1 <1%, Colesterol esterasa (*Pseudomonas* sp.) <1500 U/L, Colesterol oxidasa (*Cellulomonas* sp.) <1500 U/L, Peroxidasa (Horseradish) <1300 ppg U/L, 4-Aminoantipyrine <0.1%, Ascórbic oxidasa (*Curcubita* sp.) <3000 U/L. Conservantes.

**R2. Reactivo 2.** Tampón (pH 6.3). Detergente 2 <1%, N,N-bis (4-sulfobutyl) -m-toluidine, disodium (DSBmT) <1.0 mM. Conservantes.

**PREPARACIÓN** Los reactivos R1 y R2 están listos para su uso.

## ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conservar a 2-8°C. Estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Después de su uso diario, mantenerlos bien cerrado y protegido de la luz. En el analizador son estables 4 semanas. No congelar.

**Descartar si se observan signos de deterioro:**

- Presencia de partículas y turbidez.
- Resultados con los controles fuera del rango esperado.

## MUESTRAS

Suero o plasma heparinizado u obtenido con EDTA. El paciente estará en ayunas desde la noche anterior a la extracción. Separar las células dentro de las 3 horas siguientes a la extracción. Las muestras pueden conservarse 2 semanas a 4-8°C ó 3 meses a -20°C.

## INTERFERENCIAS

- Ácido Ascórbico 50 mg/dL
- Hemoglobina 500 mg/dL
- Bilirrubina 20 mg/dL
- Gammaglobulinas 5000 mg/dL
- Otros medicamentos y sustancias pueden interferir.

Concentración sin interferencia significativa ( $\pm$  10%).

Las muestras con valores de triglicéridos de hasta 1,293 mg / dL no interfirieron con los resultados del análisis. Muestras con niveles de triglicéridos > 1,293 mg / dL no debe diluirse.

## EQUIPO ADICIONAL

- Analizador KROMA.
- Material de laboratorio.
- Soluciones de lavado Ref. KR18100, KR18200, KR18300, KR18400.
- HDL/LDL-Cholesterol Calibrator Ref. 1972005.

## TECNICA AUTOMATICA

Una representación grafica visualiza los ajustes especificos correspondientes a la aplicación técnica diseñada para este ensayo. Cualquier aplicación nueva al instrumento deberá validarse para confirmar que los resultados cumplen las características del método. Se recomienda validar periódicamente el instrumento.

## CALIBRACION

Recalibrar semanalmente, al cambiar el lote de reactivos, cuando los valores del control estén fuera del rango de aceptación o cuando se realicen ajustes en el instrumento. Se recomienda la Calibración de dos puntos (M1: CINA 9 g/L y M2: Calibrador). Realizar un blanco del reactivo cada día de trabajo antes de analizar las muestras.

## CALCULOS

Para expresar los resultados en unidades SI: mg/dL x 0,0259 = mmol/L

## VALORES DE REFERENCIA<sup>2</sup>

Grupos de riesgo clasificados según los niveles de LDL-C.

Niveles de Colesterol-LDL	RIESGO
< 100 mg/dL (2,59 mmol/L)	Muy Bajo
100-129 mg/dL (2,59-3,34 mmol/L)	Bajo
130-159 mg/dL (3,37-4,12 mmol/L)	Moderado
160-189 mg/dL (4,14-4,89 mmol/L)	Alto
$\geq$ 190 mg/dL (4,92 mmol/L)	Muy alto

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia.

## CONTROL DE CALIDAD

Para un control de calidad (CC) adecuado, se incluirán en cada serie controles valorados (normal y abnormal) que se tratarán como muestras problema.

Cada laboratorio debe establecer su propio Control de Calidad y sus medidas correctoras cuando los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

## SIGNIFICADO CLINICO

Investigaciones de laboratorio, epidemiológicas y factores genéticos de la hipercolesterolemia indican que un colesterol-LDL elevado es una causa mayor de enfermedad cardíaca coronaria. La relación entre los niveles de colesterol-LDL y el riesgo de enfermedad coronaria es continuo en un amplio rango de concentraciones, aumentando el riesgo al incrementarse éstas. Pruebas clínicas recientes muestran con firmeza que la terapia dirigida a disminuir la tasa de colesterol-LDL reduce el riesgo de enfermedad cardíaca coronaria. Por estas razones el panel ATP III continúa en la identificación de tasas elevadas de colesterol-LDL como el objetivo principal de la terapia reductora de colesterol.

El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

## CARACTERISTICAS ANALITICAS

Las características analíticas están disponibles bajo solicitud.

## REFERENCIAS

- Gotto AM, Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia, Hospital Practice, 23: Suppl.1, 4 (1988).
- Crouse JR et al., Studies of low density lipoprotein molecular weight in human beings with coronary artery disease, J. Lipid Res.,26; 566 (1985).
- Badimon JJ, Badimon L., Fuester V., Regression of Atherosclerotic Lesions by High-Density Lipoprotein Plasma Fraction in the Cholesterol-Fed Rabbit, Journal of Clinical Investigation, 85:1234-41 (1990).
- Castelli WP et al., Cholesterol and other lipids in coronary heart disease, Circulation, 55; 767 (1977).
- Barr DP, Russ EM, Eder HA, Protein-lipid relationships in human plasma, Am. J. Med.,11;480 (1951).



Aplicaciones en KROMA  
*Applications on KROMA*

## LDL-CHOLESTEROL DIRECT

Two reagents method



LDL-Cholesterol Direct (5 x 40 mL), Code KR10290

**USO**  
*USE*

**Reactivo de diagnóstico *in vitro* para la determinación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) en suero o plasma.**  
*In vitro diagnostic reagent for the determination of low density lipoproteins (LDL) in serum or plasma.*

**METODO**  
*METHOD*

**Enzimático colorimétrico.**  
*Enzymatic colorimetric.*

**MUESTRA**  
*SAMPLE*

**Suero o plasma heparinizado u obtenido con EDTA.**  
*Serum or EDTA or heparinized plasma.*

**REACTIVOS**  
*REAGENTS*

**Los reactivos R1 y R2 están listos para su uso.**  
*The reagents **R1 and R2** are ready to use.*

**CALIBRADOR**  
*STANDARD*

**HDL/LDL Calibrator, Code CT19750**

**CONTROL CALIDAD**  
*QUALITY CONTROL*

**Linear Human Multisera Normal CT19800**  
**Linear Human Multisera Abnormal CT19850**

**DETERMINACIONES**  
*NUMBER OF TESTS*

**1000 tests/kit, Code KR10290**  
**(no se considera el volumen muerto).**  
*(dead volume is not taken in consideration).*

**LINEALIDAD**  
*LINEARITY*

**Sin post-dilución automática: Hasta 1000 mg/dL**  
*Without automatic post-dilution: Up to 1000 mg/dL.*

**NOTA**  
*NOTE*

**Para más información lea el prospecto del reactivo**  
*For additional information read reagent packaging insert.*

**NOTA DE AVISO**  
*WARNING*

**La aplicación incluida se da solamente como pauta. Cualquier aplicación deberá ser validada con el fin de demostrar que se cumplen las características analíticas del método.**  
*The reported application is given only as a guideline. Any application to an instrument should be validated to demonstrate that results meet the performance characteristics of the method.*



## KROMA

**General Info**

Name:  Code:  Barcode:  Unit:  Decimal digits:

Type:   No. of rgt:

Visible Mode:  Notes:

---

**Filters**

F1:  F2:

**Volumes [microlitres]**

Sample:

R1:  R2:  R3:

**Bottle sizes**

R1:  R2:  R3:

**Incubation/Reading time [sec]**

Substrate/Sample Start:

R1,S -> R2:  2nd Incub. time:  Final incub.:

**Reference range**

Sample type:

Patient type	Min	Max
Female	0.00	0.00
Male	0.00	0.00

**Instrument Factor (Y = aX + b)**

a:  b:

**Controls**

C1  C2  C3

No. of SD for QC ref range:

---

**Reagents**

Blank Abs (min; max):    Include blank in calc.

Reagent linearity:

Detection limit:

Dilution settings

Name	N. of Standards	N. of rep.	Units	Stability
LDL-Cholesterol Direct	2	3	mg/dL	

Dil.ratio	Std value	O.D.	Reagent ...
	*		

  

Factor	Factor Min	Factor Max

\* entered by the user

KR10290-1/0907

## KROMA PLUS

**General Info**

Name:  Code:  Barcode:  Unit:  Decimal digits:

Type:    Bichromatic No. of rgt:  Multiply pre-diluted result:

Visible Mode:  Notes:

**Filters**

F1:  F2:

**Incubation/Reading time [sec]**

Final incub.:

**Reference range**

Sample type:

Patient type	Min	Max
Female	0.00	0.00
Male	0.00	0.00
Paediatric	0.00	0.00

**Volumes [microlitres]**

Sample:

R1:  R1 Bottle sizes:

R2:  R2 Bottle sizes:

**Instrument Factor (Y = aX + b)**

a:  b:

**Controls**

C1  C2  C3

No. of SD for QC ref range:

**Reagents**

Blank Abs (min; max):    Include blank in calc.

Reagent linearity:

Detection limit:

Show reagent blank history

Dilution settings

Name	N. of Standards	N. of rep.	Units	Stability
LDL-Cholesterol Direct	2	3	mg/dL	

Dil.ratio	Std value	O.D.	Reagent ...
*			

  

Factor	Factor Min	Factor Max

\* entered by the user

KR10290-1/0907