

BioLyzer® Order information:

Catalog No.	BioLyzer	Contents
B4001	200 / 600	R1 18 x 50 ml
B4003	300 / 600*	R1 12 x 60 ml

*only for instruments with a reagent tray for 20 / 70ml bottles

Intended use:

Enzymatic in vitro test for the quantitative determination of cholesterol in human serum and plasma.

Summary:

Cholesterol is a steroid with a secondary hydroxyl group in the C₃ position. It is synthesized in many types of tissue, but particularly in the liver and intestinal wall. Approximately three quarters of cholesterol is newly synthesized and a quarter originates from dietary intake. Cholesterol assays are used for screening for atherosclerotic risk and in the diagnosis and treatment of disorders involving elevated cholesterol levels as well as lipid and lipoprotein metabolic disorders.

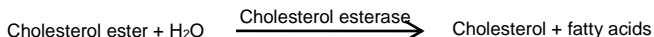
Cholesterol analysis was first reported by Liebermann in 1885 followed by Burchard in 1889. In the Liebermann-Burchard reaction, cholesterol forms a blue-green dye from polymeric unsaturated carbohydrates in an acetic acid/acetic anhydride/concentrated sulfuric acid medium. The Abell and Kendall method is specific for cholesterol, but is technically complex and requires the use of corrosive reagents. In 1974, Roeschlau and Allain described the first fully enzymatic method.

This method is based on the determination of Δ^4 cholestenone after enzymatic cleavage of the cholesterol ester by cholesterol esterase, conversion of cholesterol by cholesterol oxidase and subsequent measurement by the Trinder reaction of the hydrogen peroxide formed. Optimization of ester cleavage (>99.5%) allows standardization using primary and secondary standards and a direct comparison with the CDC and NIST reference methods. The Analyticon cholesterol assay meets the 1992 National Institutes of Health (NIH) goal of less than or equal to 3% for both precision and bias.

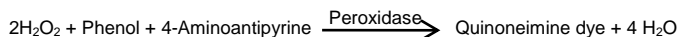
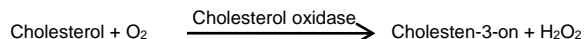
Test principle:

Enzymatic colorimetric test.

Cholesterol is determined enzymatically using cholesterol esterase and cholesterol oxidase.



Cholesterol esters are cleaved by the action of cholesterol esterase to yield free cholesterol and fatty acids



Cholesterol is converted by oxygen with the aid of cholesterol oxidase to Δ^4 -cholestenone and hydrogen peroxide. Hydrogen peroxide created forms a red dyestuff by reacting with 4-aminoantipyrine and phenol under the catalytic action of peroxidase. The color intensity is directly proportional to the concentration of cholesterol and can be determined photometrically.

Reagent concentration:

R1:	
Pipes buffer, pH 6.9	90 mmol/l
Phenol	26 mmol/l
Cholesterol oxidase	200 U/l
Cholesterol esterase	300 U/l
Peroxidase	1250 U/l
4-Aminoantipyrine	0.4 mmol/l

Preparation and stability:

Reagent is ready for use.

The unopened kit components: Up to expiry date at +2°C to +8°C.

Onboard stability: R1: 60 days

Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes.

Heparinized or EDTA plasma. Do not use citrate, oxalate or fluoride-plasma.

Stability: 5-7 days at +2°C to +8°C
3 months at -20°C

Fasting and nonfasting samples can be used.

Centrifuge samples containing precipitate before performing assay.

Blood samples should only be drawn prior to the administration of **Metamizole**.

Notes:

For in vitro diagnostic use.

The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>.

Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within $\pm 10\%$ of initial value.

Icterus: No significant interference up to an index I of 14 Bilirubin. (approximate concentration: 14 mg/dl bilirubin)

Hemolysis: No significant interference up to an index H of 800 (approximate hemoglobin concentration: 800 mg/dl).

False low results can occur in patients taking Acetaminophen (Paracetamol), N-Acetyl cysteine (NAC) or Metamizole (Dipyrone). The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

Testing procedure:

Materials provided

• Working solutions as described above

Additional materials required

• Calibrators and controls as indicated below

• 0.9% NaCl

Measuring/reportable range:

30 - 400 mg/dl (0.78 - 10.3 mmol/l)

Determine samples having higher concentrations via the rerun function using 0.9 % NaCl solution as diluent.

Expected values:

Clinical Interpretation according to the recommendations of the European atherosclerosis Society.

Lipid metabolic disturbance		
Cholesterol Triglycerides	below 200 mg/dl	No
Cholesterol	200 - 300 mg/dl	yes if HDL-Cholesterol below 35 mg/dl
Cholesterol Triglycerides	above 300 mg/dl	Yes

Recommendations of the NCEP Adult Treatment Panel for the following risk-cut-off thresholds for the US American population

Desirable cholesterol level: <200 mg/dl

Borderline high cholesterol: 200-239 mg/dl

High cholesterol: >240 mg/dl

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes the cholesterol results should always be assayed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

At least two measurements of cholesterol on separate occasions should be made before any medical decision is made, since a single point total cholesterol measurement may not represent a patient's usual cholesterol concentration.

Analytical sensitivity (lower detection limit):

Detection limit: 2.80 mg/dl (0.075 mmol/l)

The lower detection limit represents the lowest measurable cholesterol concentration that can be distinguished from zero.

Imprecision:

Reproducibility was determined using controls. The following results were obtained:

Sample	within run		
	Mean mg/dl	SD mg/dl	% CV
Sample 1	95.8	1.37	1.4
Sample 2	195.9	2.89	1.5
Sample 3	165.5	1.94	1.2

Sample	Run to run		
	Mean mg/dl	SD mg/dl	% CV
Sample 1	220.7	7.91	3.6
Sample 2	151.6	5.42	3.6

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Fluitest® CHOL (y) with a commercial obtainable assay (x) gave following result:

$$y = 0.949x + 2.472; \quad r = 0.9818$$

Calibration:

The Cholesterol method was calibrated against the isotope dilution/mass spectrometry. This complies with the requirements of the National Institute of Standards and Technology (NIST).

Calibration Type: Linear

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® E 10 x 3 ml #1430

Calibration frequency:

Two point calibration is recommended

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

Quality control:

Human Control Sera:

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Controptath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

Human Lipid Control Serum:

Contronorm® L	5 x 2 ml	#1302
Controptath® L	5 x 2 ml	#1303

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Disposal:

Please note the legal regulations.

Text passages with grey background were changed in the latest revision of this package insert.

Literature:

1. Abell L. et al. Standard Methods in Clinical Chemistry 1958; 26:2.
2. Allain C.C. et al. Clin Chem 1974;20:470
3. Burchard H. Beiträge zur Kenntnis der Cholesterine. Dissertation Rostock 1889.
4. Cohn J.S., McNamara J.R., Schaefer E.J.. Lipoprotein Cholesterol Concentrations in the plasma of Human Subjects as Measured in the fed and Fasted States. Clin. Chem 1988;34:2456-2459
5. Glick M.R., Ryder K.W., Jackson S.A.. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474
6. Greinling H., Gressner A.M. eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie. 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995
7. Liebermann C. Ber Dtsch chem Ges 1885; 18:1803
8. Pisani T., Gebiski C.P., Leary E.T. et al. Accurate Direct Determination of Low-density Lipoprotein Cholesterol Using an Immunoseparation Reagent and Enzymatic Cholesterol Assay. Arch. Pathol Lab Med 1995;119:1127
9. Recommendations for Improving Cholesterol Measurement: A Report from the Laboratory Standardization Panel of the National Cholesterol Education Program. NIH Publication No. 90-2964, February 1990
10. Roeschlau P. et al. Z Klein Chem Klein Biochem 1974;12:226
11. Second Report of the Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. NIH Publikation No. 93-3096, September 1993
12. Siedel J. Hägele E.O., Ziegenhorn J. et al. Clin Chem 1983;29:1075.
13. Study Group, European Atherosclerosis Society. Strategies for the prevention of coronary heart disease: A policy statement of the European Atherosclerosis Society. European Heart Journal 1987;8:77
14. Thomas, L., Labor und Diagnose, 5th. ed. (1998)
15. Tietz N.W. eds.. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3.Auflage. Philadelphia, Pa: W.B. Saunders Company, 1995:130-131
16. Wiebe D.A., Bernert J.T.. Clin Chem. 1984;30:352

Bioalyzer® Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Bioalyzer	Inhalt
B4001	200 / 600	R1 18 x 50 ml
B4003	300 / 600*	R1 12 x 60 ml

*nur für Instrumente mit Reagenzteller für 20 / 70ml Flaschen

Anwendungszweck:

Enzymatischer in vitro Test zur quantitativen Bestimmung von Cholesterin in Humanserum und -plasma.

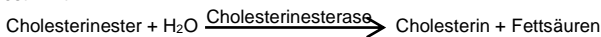
Zusammenfassung:

Cholesterin ist ein Steroid mit einer sekundären Hydroxylgruppe in C₃-Stellung. Es wird in vielen Geweben, besonders aber in der Leber und der Darmwand synthetisiert etwa drei Viertel des Cholesterins entstehen durch Neusynthese und ein Viertel durch die Nahrungsaufnahme. Die Cholesterinbestimmungen dienen als Screening auf ein atherogenes Risiko und zur Diagnose und Behandlung von Krankheiten mit erhöhtem Cholesterin sowie für Lipid- und Lipoproteinstoffwechselfstörungen. Die erste Cholesterinbestimmung beschrieb Liebermann 1885 und nachfolgend Burchard 1889. Cholesterin bildet nach dem Liebermann-Burchard-Prinzip mit Essigsäure, Essigsäureanhydrid und konzentrierter Schwefelsäure blaugrün gefärbte Verbindungen aus polymeren ungesättigten Kohlenwasserstoffen. Die Methode nach Abell und Kendall ist spezifischer, aber technisch umständlich und verwendet ebenfalls ätzende Reagenzien. 1974 beschrieben Roeschlaue sowie Allain die erste vollenzymatische Methode. Diese Methode beruht auf der Bestimmung von Δ⁴-Cholestenon nach enzymatischer Spaltung der Cholesterinester mit Cholesterinesterase und Umwandlung des Cholesterins durch Cholesterinoxidase sowie der anschließenden Messung des gebildeten Wasserstoffperoxides über eine Trinderreaktion. Die Optimierung der Esterspaltung (> 99,5%) ermöglicht die Standardisierung durch primäre und sekundäre Standards und einen direkten Vergleich zu den CDC- und NIST-Referenzverfahren. Die Cholesterinbestimmung von Analyticon erreicht die Zielvorgabe 1992 des National Institutes of Health (NIH) für eine akzeptable Performance (Präzisionen und Achsenabschnitt < 3%).

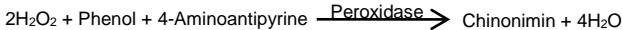
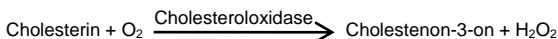
Testprinzip:

Enzymatischer Farbstest.

Mit Cholesterinesterase und Cholesterinoxidase wird das Cholesterin enzymatisch bestimmt.



Die Cholesterinester werden unter Einwirkung der Cholesterinesterase in freies Cholesterin und Fettsäuren gespalten.



Das Cholesterin wird von Sauerstoff unter Mitwirkung von Cholesterinoxidase zu Δ⁴-Cholestenon und Wasserstoffperoxid umgesetzt. Das entstandene Wasserstoffperoxid bildet mit 4-Aminoantipyrin und Phenol unter katalytischer Wirkung der Peroxidase einen roten Farbstoff, dessen Farbintensität der Cholesterinkonzentration direkt proportional ist und photometrisch gemessen werden kann.

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:

Pipes-Puffer, pH 6.9	90 mmol/l
Phenol	26 mmol/l
Cholesterinoxidase	200 U/l
Cholesterinesterase	300 U/l
Peroxidase	1250 U/l
4-Aminoantipyrin	0,4 mmol/l

Herstellung und Haltbarkeit:

R1 ist gebrauchsfertig.

Haltbarkeit ungeöffnet: bis zum angegebenen Verfallsdatum bei +2°C bis +8°C

Onboard Stabilität: R1: 60 Tage

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen.

Heparin- oder EDTA-Plasma.

Citrat-, Oxalat- und Fluorid-Plasma nicht verwenden.

Haltbarkeit: 5 - 7 Tage bei +2°C bis +8°C
3 Monate bei -20°C

Nüchternserum und postprandiale Proben können eingesetzt werden.

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Blutproben sollten nur vor der Verabreichung von Metamizol entnommen werden.

Hinweis:

In vitro Diagnostikum. Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.

Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung ±10% vom Ausgangswert.

Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 14 (ca. 14 mg/dl Bilirubin).

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 800 (ca. 800 mg/dl Hämoglobin).

Falsch niedrige Ergebnisse können bei Patienten auftreten, die Acetaminophen (Paracetamol), N-Acetylcystein (NAC) oder Metamizol (Novaminsulfon, Dipyron) bekommen. Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Testverfahren:

Gelieferte Materialien

- Gebrauchsfertige Lösung wie vorher angegeben

Zusätzlich benötigte Materialien

- Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben
- Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

Messbereich:

30 - 400 mg/dl (0,78 - 10,3 mmol/l)

Proben mit höheren Konzentrationen werden über die Rerun-Funktion mit NaCl - Lösung bestimmt.

Referenzbereich:

Klinische Interpretation nach den Empfehlungen der Europäischen Atherosklerose-Gesellschaft.

Fettstoffwechselstörung		
Cholesterin	unter 200 mg/dl	Nein
Triglyceride		
Cholesterin	200 - 300 mg/dl	Ja wenn HDL-Cholesterin unter 35 mg/dl
Cholesterin	über 300 mg/dl	Ja
Triglyceride		

Empfehlungen des Adult Treatment Panel (NCEP) für folgende Risiko-Cutoff-Bereiche für die amerikanische Bevölkerung

Idealbereich von Cholesterin: <200 mg/dl
Borderline hohen Cholesterin: 200-239 mg/dl
Hohes Cholesterin: >240 mg/dl

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die Cholesterinergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Es sind mindestens 2 Cholesterinbestimmungen zu verschiedenen Zeitpunkten durchzuführen, bevor eine medizinische Bewertung erfolgt, da eine Einzelbestimmung nicht unbedingt repräsentativ für den normalen Patientencholesterinwert zu sein braucht.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

2,8 mg/dl bzw. 0,075 mmol/l

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren Cholesterinkonzentration, die von Null unterschieden werden kann.

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben bestimmt und ergaben folgende Ergebnisse:

Probe	In der Serie		
	MW mg/dl	SD mg/dl	% VK
Kontrollserum 1	95,84	1,371	1,4
Kontrollserum 2	195,87	2,889	1,5
Kontrollserum 3	165,53	1,945	1,2

Probe	Tag / Tag		
	MW mg/dl	SD mg/dl	% VK
Kontrollserum 1	220,72	7,917	3,6
Kontrollserum 2	151,61	5,422	3,6

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Fluitest® CHOL (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden folgende Ergebnisse erhalten:

$y = 0.949x + 2.472$; $r = 0.9818$

Qualitätskontrolle:

Humane Kontrollseren:

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Contropath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

Human Lipid Control Serum:

Contronorm® L	5 x 2 ml	#1302
Contropath® L	5 x 2 ml	#1303

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

Kalibration:

Standardisierung:

Die Cholesterin-Methode wurde an der Isotopenverdünnung / Massenspektrometrie abgeglichen. Diese Standardisierung genügt den Anforderungen des National Institute of Standards and Technology (NIST).

Kalibrations Typ: Linear

S1: 0,9% NaCl

S2: Bio Cal® E 10 x 3 ml #1430

Kalibrationshäufigkeit:

Zweipunktkalibration wird empfohlen

- bei Reagenzchargenwechsel
- Wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern.

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Grau hinterlegte Textpassagen wurden in der letzten Überarbeitung dieser Gebrauchsanweisung geändert.

Literatur:

1. Abell L. et al Standard Methods in Clinical Chemistry 1958; 26:2.
2. Allain C.C. et al. Clin Chem 1974;20:470
3. Burchard H. Beiträge zur Kenntnis der Cholesterine. Dissertation Rostock 1889.
4. Cohn J.S., McNamara J.R., Schaefer E.J. Lipoprotein Cholesterol Concentrations in the plasma of Human Subjects as Measured in the fed and Fasted States. Clin. Chem 1988;34:2456-2459
5. Glick M.R., Ryder K.W., Jackson SA.. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474
6. Greinling H., Gressner A.M. (Hrsg.) Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie. 3rd. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995
7. Liebermann C. Ber Dtsch chem Ges 1885; 18:1803
8. Pisani T. , Geebsk C.P., Leary E.T. et al Accurate Direct Determination of Low-density Lipoprotein Cholesterol Using an Immunoseparation Reagent and Enzymatic Cholesterol Assay. Arch. Pathol Lab Med 1995;119:1127
9. Recommendations for Improving Cholesterol Measurement: A Report from the Laboratory Standardization Panel of the National Cholesterol Education Program. NIH Publication No. 90-2964, February 1990
10. Roeschlau P. et al. Z Klein Chem Klein Biochem 1974;12:226
11. Second Report of the Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. NIH Publikation No. 93-3096, September 1993
12. Siedel J., Hägele E.O., Ziegenhorn J. et al Clin Chem 1983;29:1075.
13. Study Group, European Atherosclerosis Society. Strategies for the prevention of coronary heart disease: A policy statement of the European Atherosclerosis Society. European Heart Journal 1987;8:77
14. Thomas L., Labor und Diagnose, 5th. ed. (1998)
15. Tietz N.W. (Hrsg.). Clinical Guide to Laboratory Tests, 3.Auflage. Philadelphia, Pa: WB Saunders Company, 1995:130-131
16. Wiebe D.A., Bernert J.T. Clin Chem. 1984;30:352