

CHOL

CHOLESTEROL



Order information:

Catalog No.	Contents	
4046	R1 1 x 110 ml	R2 5 x for 20 ml
		R4 1 x 5 ml
4010	R1 4 x 100 ml	R2 4 x for 100 ml
		R4 1 x 5 ml

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 one 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.

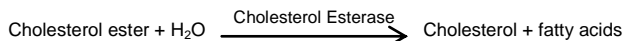
Cholesterol analysis was first reported by Liebermann in 1885 followed by Burchard in 1889. In the Liebermann-Burchard reaction, cholesterol forms a blue-green dye from polymeric unsaturated carbohydrates in an acetic acid/acetic anhydride/concentrated sulfuric acid medium. The Abell and Kendall method 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 Δ⁴-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.

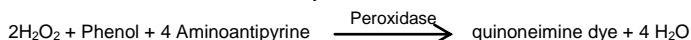
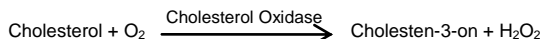
Test principle:

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 cholest-4-en 3-one and hydrogen peroxide.

The created hydrogen peroxide 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

R2:	
Cholesterol oxidase	200 U/l
Cholesterol esterase	300 U/l
Peroxidase	1250 U/l
4-Aminoantipyrine	0.4 mmol/l

R4:	
Cholesterol	200 mg/dl (5.17 mmol/l)

Preparation and stability:

Dissolve contents of enzyme reagent R2 with the corresponding volume of buffer/R1.

This working solution is stable for:

48 days	at + 2°C to + 8°C
10 days	at + 20°C to + 25°C

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 to +8°C
3 months	at -20°C

Fasting and no fasting samples can be used.

Centrifuge samples containing precipitate before performing assay.

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

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 ±10% of initial value.

Icterus: No significant interference up to an index I of 20

(approximate concentration: 20 mg/dl bilirubin)

Hemolysis: No significant interference up to an index H of 350 (approximate hemoglobin concentration: 350 mg/dl).

Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 85 (approximate triglycerides concentration: 170 mg/dl) There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

False low results can occur in patients taking Acetaminophen (Paracetamol), N-Acetyl cysteine (NAC) or Metaminazole (Dipyron). 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:

Applications for automated systems are available on request.

Materials provided

• Working solutions as described above

Additional materials required

- Calibrators and controls as indicated below
- NaCl (0.9%)

Manual procedure:

Wavelength	Hg 546nm (500-550nm)
Temperature	+25/+30/+37°C
Cuvette	1 cm light path
Zero adjustment	one reagent blank per series only

	Blank	Sample/ Calibrator
Sample / Calibrator	---	10 µl
Working reagent	1000 µl	1000 µl

Mix. Incubate 5 min. at +37°C or 10 min. at +20°C to +25°C.
Read absorbance of calibrator and sample against reagent blank within 60 min.

Calculation:

by calibrator:

$$\frac{\Delta A \text{ Sample}}{\Delta A \text{ Calibrator}} \times \text{Calibrator conc.} = \text{Cholesterol conc.}$$

by factor:

Wavelength	c (mg/dl)	c (mmol/l)
Hg 546nm	860 x ΔA	22.2 x ΔA

Expected values:

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

Lipid metabolic disturbance

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

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.

CHOL

CHOLESTEROL



Measuring/reportable range:

3-800 mg/dl (0.08-20.7 mmol/l)

To determine samples having higher activities, manually dilute the samples with 0.9% NaCl-solution (e.g. 1 + 2). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. factor 3).

Analytical sensitivity (lower detection limit):

Detection limit: 3 mg/dl (0.08 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
Control serum 1	108	1.52	1.41
Control serum 2	193	4.22	2.19
Control serum 3	282	4.78	1.70

Sample	Between day		
	Mean mg/dl	SD mg/dl	% CV
Control serum 1	102	3.11	3.05
Control serum 2	195	4.41	2.26
Control serum 3			

Method comparison:

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

$$y = 1.012x + 0.026; \quad r = 1.000$$

Quality control:

Human Control Serum:

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:

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

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.

Calibration:

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® E	10 x 3 ml	#1430
Bio Cal®	20 x 3 ml	#1420
Bio Cal® L	1 x 2 ml	#1401
	5 x 2 ml	#1402

R4: Calibrator provided in kit

Disposal:

Please note the legal regulations.

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

Bestellinformation:

Katalog Nr.	Inhalt
4046	R1 1 x 110 ml R2 5 x für 20 ml R4 1 x 5 ml
4010	R1 4 x 100 ml R2 4 x für 100 ml R4 1 x 5 ml

Anwendungszweck:

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

Zusammenfassung:

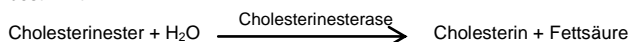
Cholesterin ist ein Steroid mit einer sekundären Hydroxylgruppe in C₃-Stellung. Es wird in vielen Geweben, besonders aber in der Leber und der Darmwand synthetisiert. Etwa drei Viertel des Cholesterins entstehen durch Neusynthese und ein Viertel durch die Nahrungsaufnahme. Die Cholesterinbestimmungen dienen als Screening auf ein atherogenes Risiko und zur Diagnose und Behandlung von Krankheiten mit erhöhtem Cholesterin sowie für Lipid- und Lipoproteinstoffwechselstörungen.

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 und Allain die erste vollenzymatische Methode. Diese Methode beruht auf der Bestimmung von Δ^4 -Cholestenon nach enzymatischer Spaltung der Cholesterinester mit Cholesterinesterase und Umwandlung des Cholesterins durch Cholesterinoxidase sowie der anschließenden Messung des gebildeten Wasserstoffperoxids 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.

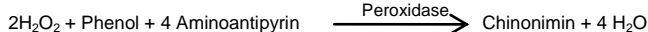
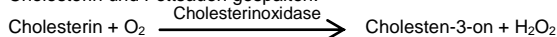
Testprinzip:

Enzymatischer Farbttest

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 Δ^4 -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
R2:	
Cholesterinoxidase	200 U/l
Cholesterinesterase	300 U/l
Peroxidase	1250 U/l
4-Aminoantipyrin	0,4 mmol/l
R4:	
Cholesterin	200 mg/dl (5,17 mmol/l)

Herstellung und Haltbarkeit:

Den Inhalt der Flasche R2 mit der entsprechenden Menge R1 lösen.

Das Arbeitsreagenz ist haltbar:

48 Tage	bei +2°C bis +8°C
10 Tage	bei +20°C bis +25°C

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 Metaminizol 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 $\pm 10\%$ vom Ausgangswert.

Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 20 (ca. 20 mg/dl Bilirubin).

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 350 (ca. 350 mg/dl Hämoglobin).

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 85 (ca. 170 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.

Falsch niedrige Ergebnisse können bei Patienten auftreten, die Acetaminophen (Paracetamol), N-Acetylcystein (NAC) oder Metaminizol (Novaminisulfon, 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.

Testverfahren:

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Gelieferte Materialien

- Gebrauchsfertige Lösung wie vorher angegeben

Zusätzlich benötigte Materialien

- Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben
- NaCl (0.9%)

Manuelle Testdurchführung		
Wellenlänge	Hg 546nm (500-550nm)	
Temperatur	+25/+30/+37°C	
Schichtdicke	1 cm light path	
Messung	Pro Messreihe ein Reagenzienleerwert	
	Leerwert	Probe/ Kalibrator
Probe / Kalibrator	---	10 μ l
Arbeitsreagenz	1000 μ l	1000 μ l
Mischen und 5 Minuten bei +37°C oder 10 Min. bei +20 bzw. +25°C inkubieren. Die Extinktionen des Kalibrators und der Probe gegen den Reagenzienleerwert messen. Signalstabilität 60 Minuten.		
Berechnung:		
mit Kalibrator::		
ΔE Probe	x Kalibratorkonz. = Cholesterinkonzentration	
ΔE Kalibrator		
mit Faktor:		
Wellenlänge	c (mg/dl)	c (mmol/l)
Hg 546nm	860 x ΔA	22,2 x ΔA

Referenzbereich:

Klinische Interpretation nach den Empfehlungen der Europäischen Arteriosklerose-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	über 300 mg/dl	

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

Idealbereich von Cholesterin:	<200 mg/dl
Grenzwertig hohes 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.

CHOL

CHOLESTERIN



Messbereich:

3 bis 800 mg/dl (0.08 - 20,7 mmol/l).

Proben mit höheren Konzentrationen manuell mit Natriumchlorid-Lösung (0,9%) verdünnen (z. B. 1+2). Ergebnis mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multiplizieren (z. B. Faktor 3).

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

3 mg/dl (0.08 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	108	1.52	1.41
Kontrollserum2	193	4.22	2.19
Kontrollserum3	282	4.78	1.70

Probe	Tag / Tag		
	MW mg/dl	SD mg/dl	% VK
Kontrollserum 1	102	3.11	3.05
Kontrollserum 2	195	4.41	2.26
Kontrollserum 3			

Methodenvergleich:

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

$$y = 1,012x + 0,026; \quad r = 1,000$$

Qualitätskontrolle:

Humanes Kontrollserum:

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

Humanes Lipid Kontrollserum:

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

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:

S1: 0,9% NaCl

S2: Bio Cal® E	10 x 3 ml	#1430
Bio Cal® E	20 x 3 ml	#1420
Bio Cal® L	1 x 2 ml	#1401
	5 x 2 ml	#1402

R4: Kalibrator enthalten in Packung

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

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 S.A.. 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