



# LDL Colesterol

## Reactivo Precipitante

Para la separación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) en suero

### SIGNIFICACION CLINICA

El contenido aproximado de colesterol en cada familia de lipoproteínas es (en % por unidad de peso): 1% en los quilomicrones, 18% en las VLDL, 50% en las LDL y 23% en las HDL. Dado que cada familia posee distinta actividad biológica, el significado clínico de un aumento de colesterol depende de la o las lipoproteínas que se encuentran en exceso.

Por otra parte, los mecanismos reguladores de los niveles plasmáticos de lipoproteínas son muy complejos y pueden ser afectados por múltiples factores (genéticos, ambientales, fisiológicos o patológicos), siendo posible encontrar valores de colesterol total cercanos al rango normal acompañados de alteraciones en las fracciones lipoproteicas.

Las HDL y las LDL han sido las más estudiadas por su importante actividad biológica:

- las LDL, producto del metabolismo de las VLDL en plasma, son las encargadas del transporte del colesterol exógeno (y en mucho menos proporción, endógeno) hacia el interior de las células;

- las HDL, sintetizadas en el hígado, remueven el colesterol no utilizado por las células (dentro de ciertos límites de concentración), transportándolo hacia el hígado para su degradación.

Diversos estudios epidemiológicos han confirmado que el exceso de colesterol de LDL con respecto a un valor crítico (1,9 g/l) debe ser considerado como factor de riesgo para el desarrollo de enfermedad cardíaca coronaria, considerando que el efecto protector de las HDL sólo parece tener relevancia dentro de cierto rango de concentraciones de colesterol circulante. Tales hallazgos permiten deducir que los valores aislados de colesterol de HDL o de LDL no pueden tomarse como índices predictivos de riesgo, sino que es necesario conformar un perfil lipídico con los valores de colesterol total, colesterol de HDL y colesterol de LDL.

### FUNDAMENTOS DEL METODO

Las lipoproteínas de baja densidad (LDL o  $\beta$ -lipoproteínas) se separan del suero precipitándolas selectivamente mediante el agregado de polímeros de alto peso molecular. Luego de centrifugar, en el sobrenadante quedan las demás lipoproteínas (HDL y VLDL); el colesterol ligado a las mismas se determina empleando el sistema enzimático Colesterol oxidasa/Peroxidasa con colorimetría según Trinder (Fenol/4-AF).

Por diferencia entre el colesterol total y el determinado en el sobrenadante, se obtiene el colesterol unido a las LDL.

### REACTIVOS PROVISTOS

**A. Reactivo A** (Reactivo Precipitante): solución 1 g/l de sulfato de polivinilo disuelto en polietilenglicol (PM: 600) al 25%, pH 6,7.

### REACTIVOS NO PROVISTOS

**Colestat enzimático, Colestat enzimático AA o Colestat enzimático AA líquida**, de Wiener lab.

### INSTRUCCIONES PARA SU USO

**Reactivo A:** listo para usar.

### PRECAUCIONES

El reactivo es para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

### ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

**Reactivo A:** estable en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

### INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Todo cambio en la coloración u otro aspecto físico del reactivo, puede ser indicio de deterioro del mismo.

### MUESTRA

Suero

**a) Recolección:** el paciente debe estar en ayunas (de 12 a 16 horas). Obtener suero de la manera usual y separar del coágulo dentro de la hora de la extracción.

**b) Aditivos:** no se requieren.

**c) Sustancias interferentes conocidas:** los sueros hiperglicémicos (con quilomicronemia) producen sobrenadantes turbios; la bilirrubina interfiere en niveles mayores de 50 mg/l.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** el suero debe ser preferentemente fresco. En caso de no procesarse en el momento, puede conservarse en el refrigerador (2-10°C) durante no más de 24 horas contadas a partir del momento de la extracción. No congelar.

### MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Centrífuga.
- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Tubos de Kahn.
- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas.

- Baño de agua a 37°C.
- Reloj o timer.

## PROCEDIMIENTO

En un tubo de Kahn, colocar:

**Muestra** 200 ul

**Reactivo A** 100 ul

Homogeneizar agitando (sin invertir) durante 20 segundos y dejar 15 minutos en un baño de agua a 20-25°C. Centrifugar 15 minutos a 3000 r.p.m. Separar inmediatamente el sobrenadante. Ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO. Usar el sobrenadante como Muestra para el ensayo colorimétrico.

En tres tubos marcados B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), colocar:

|                            | B    | S     | D      |
|----------------------------|------|-------|--------|
| <b>Sobrenadante</b>        | -    | -     | 100 ul |
| <b>Standard</b>            | -    | 20 ul | -      |
| <b>Reactivo de Trabajo</b> | 2 ml | 2 ml  | 2 ml   |

Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C si se usa el Reactivo de Trabajo de **Colestat enzimático AA/líquida** o 15 minutos a 37°C si se usa el de **Colestat enzimático**. Retirar del baño y enfriar. Leer en espectrofotómetro a 505 nm o en fotolorímetro con filtro verde (490-530 nm), llevando el aparato a cero de absorbancia con el Blanco.

## CALCULO DE LOS RESULTADOS

LDL colesterol (g/l) = Colesterol total (\*) - (D x f)

$$f = \frac{0,624}{S}$$

(\*) Valor obtenido con **Colestat enzimático** o **Colestat enzimático AA/líquida**.

El valor 0,624 surge de:

$$0,624 = 2 \text{ (g/l)} \times \frac{V_F}{V_M} \times \frac{V_R}{V_S} \times \frac{V_S}{V_E}$$

donde:

$V_F$  = volumen final del extracto = 0,3 ml

$V_M$  = volumen de muestra procesada = 0,2 ml (200 ul)

$V_R$  = volumen de reacción con el extracto = 2,1 ml

$V_S$  = volumen de reacción con el Standard = 2,02 ml

$V_S$  = volumen de Standard en la reacción = 0,02 ml (20 ul)

$V_E$  = volumen de extracto en la reacción = 0,1 ml (100 ul)

Si se emplean volúmenes diferentes el factor 0,624 varía y debe ser calculado nuevamente.

## VALORES DE REFERENCIA

El panel de expertos del National Cholesterol Education Program (NCEP) provee los siguientes valores de LDL colesterol en relación al riesgo de contraer enfermedad cardíaca coronaria (ECC):

- **Riesgo bajo o nulo** (sujetos normales): valores de LDL colesterol menores de 1,29 g/l.
  - **Riesgo moderado a elevado** (individuos con probabilidad de contraer ECC): valores entre 1,30 y 1,89 g/l.
  - **Riesgo muy elevado** (individuos sospechosos de padecer ECC): valores de LDL colesterol  $\geq 1,90$  g/l.
- No obstante, es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Cuando se procesen muestras ictericas, deberán diluirse los sueros 1/2 ó 1/3 con solución fisiológica y emplearse el procedimiento habitual, teniendo en cuenta el factor de dilución para los cálculos.

Cuando el LDL colesterol no puede separarse por completo en una centrifuga común debido a niveles elevados de triglicéridos, puede efectuarse la determinación de la siguiente manera:

Seguir las instrucciones indicadas en PROCEDIMIENTO hasta la incubación en baño de agua a 20-25°C, 15 minutos, luego colocar la mezcla de reacción en capilares y centrifugar en centrifugas de microhematocrito, a 10.000 r.p.m. durante 5 minutos. Cortar el capilar desechando el precipitado y utilizar el sobrenadante límpido para la prueba.

En todos los casos en que los valores de colesterol unido a HDL y VLDL (D x f, según los cálculos) sean superiores a 1 g/l, se debe repetir la determinación con los mismos sueros empleando 100 ul de muestra y 200 ul de Reactivo A. Continuar con la técnica descripta, tomando 100 ul de sobrenadante y utilizando el factor 1,248 para los cálculos en lugar del anterior.

No dejar el precipitado en contacto con el sobrenadante, debido a que puede haber redisolución provocando valores de lecturas elevados con la consiguiente disminución de los valores de LDL colesterol.

## PERFORMANCE

**a) Reproducibilidad:** procesando replicados de una misma muestra en el día, se obtienen los siguientes valores:

| Nivel    | D.S.           | C.V.  |
|----------|----------------|-------|
| 1,14 g/l | $\pm 0,03$ g/l | 2,6 % |
| 2,03 g/l | $\pm 0,04$ g/l | 2,0 % |

**b) Linealidad:** la reacción es lineal hasta 5 g/l.

**c) Límite de detección:** en espectrofotómetro, para una variación de absorbancia de 0,001 D.O., el cambio mínimo de concentración detectable será de 0,0063 g/l de colesterol.

## PRESENTACION

Para procesar 100 muestras (Cód. 1220104).

## BIBLIOGRAFIA

- Seidel, D. - Ann. Clin. Biochem. 19:278 (1982).
- Levy, R.I. - Clin. Chem. 27/5:653 (1981).
- Coniglio, R.I. - Acta Bioq. Clin. Latinoam. XXIII/2:201 (1989).
- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.



# LDL Colesterol

## Reactivo Precipitante

Para a separação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) em soro

### SIGNIFICADO CLÍNICO

O conteúdo aproximado de colesterol em cada uma das famílias de lipoproteínas é (em % por unidade de peso): 1% nos quilomicrones, 18% nas VLDL, 50% nas LDL e 23% nas HDL. Posto que cada uma das famílias possuem diferentes atividades biológicas, o significado clínico do aumento de colesterol depende da ou das lipoproteínas que encontram-se em maior quantidade. As mecânicas que regulam os níveis plasmáticos de lipoproteínas são muito complexos e podem ser afetados por variados fatores (genéticos, do ambiente, fisiológicos ou patológicos), sendo muito possível achar valores de colesterol total perto da faixa normal seguida de alterações nas frações lipoproteicas.

As HDL e as LDL foram as mais estudadas pela sua atividade biológica muito importante:

- as LDL, produto do metabolismo as VLDL no plasma, são as encarregadas do transporte do colesterol exógeno (e em muito menor proporção, endógeno) até o interior das células;
- as HDL, sintetizadas no fígado, removem o colesterol não utilizado pelas células (entre alguns limites de concentração), transportando-o até o fígado para sua degradação.

Diferentes estudos epidemiológicos confirmaram que o excesso de colesterol de LDL em referência a um valor crítico (1,9 g/l) deve-se considerar como fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardíacas coronárias, conforme ao efeito protetor das HDL que só tem importância dentro de uma faixa de concentração de colesterol circulante.

Porém, pode-se dizer que valores isolados de colesterol de HDL ou de LDL não podem ser considerados como parâmetros de risco, sendo que é necessário montar um perfil lipídico com os valores de colesterol total, colesterol de HDL e colesterol de LDL.

### FUNDAMENTOS DO MÉTODO

As lipoproteínas de baixa densidade (LDL ou  $\beta$ -lipoproteínas) separam-se do soro precipitando-as seletivamente pela adição de polímeros de alto peso molecular. Após centrifugar, no sobrenadante fica o resto de lipoproteínas (HDL e VLDL); o colesterol ligado às mesmas determina-se utilizando o sistema enzimático Colesterol oxidase/Peroxidase com colorimetria segundo Trinder (Fenol/4-AF).

Pela diferença obtida entre o colesterol total e o determinado no sobrenadante, se obtém o colesterol ligado às LDL.

### REAGENTES FORNECIDOS

**A. Reagente A** (Reagente Precipitante): solução 1 g/l de sulfato de polivinilo dissolvido em polietilenglicol (PM: 600) ao 25%, pH 6,7.

### REAGENTES NÃO FORNECIDOS

**Colestat enzimático**, ou **Colestat enzimático AA líquida** da Wiener lab.

### INSTRUÇÕES DE USO

**Reagente A:** pronto para uso.

### PRECAUÇÕES

O reagente é para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

### ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

**Reagente A:** estável sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem.

### INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

Toda mudança na coloração ou outro aspecto físico do reagente, pode ser indício de deterioração do mesmo.

### AMOSTRA

Soro

**a) Coleta:** o paciente deve estar em jejum (12 a 16 horas). Obter soro da maneira habitual e separar o coágulo dentro da hora da sua obtenção.

**b) Aditivos:** não são necessários.

**c) Substâncias interferentes conhecidas:** os soros hipertrigliceridémicos (com quilomicrones) produzem sobrenadantes turvos; a bilirrubina interfere nos níveis maiores de 50 mg/l.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

**d) Estabilidade e instruções de armazenamento:** o soro deve ser preferivelmente fresco. No caso de não processar a amostra na hora, conservar sob refrigeração (2-10°C) durante não mais de 24 horas a contar do momento de sua obtenção. Não congelar.

### MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Centrífuga.
- Espectrofotômetro ou fotolorímetro.
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Tubos de Kahn.
- Cubetas espectrofotométricas de faces paralelas.

- Banho-maria a 37°C.
- Relógio ou timer.

## PROCEDIMENTO

Em um tubo de Kahn, colocar:

**Amostra** 200 ul

**Reagente A** 100 ul

Homogeneizar agitando (sem inverter) durante 20 segundos e deixar 15 minutos no banho-maria a 20-25°C. Centrifugar 15 minutos a 3.000 r.p.m. Separar rapidamente o sobrenadante. Vide LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO. Utilizar o sobrenadante como Amostra para o ensaio colorimétrico. Em três tubos de fotocolorímetro marcados B (Branco), P (Padrão) e D (Desconhecido), colocar:

|                             | B    | P     | D      |
|-----------------------------|------|-------|--------|
| <b>Sobrenadante</b>         | -    | -     | 100 ul |
| <b>Padrão</b>               | -    | 20 ul | -      |
| <b>Reagente de Trabalho</b> | 2 ml | 2 ml  | 2 ml   |

Misturar e incubar 5 minutos a 37°C quando seja utilizado o Reagente de Trabalho de **Colestat enzimático AA/líquida** ou 15 minutos a 37°C quando seja utilizado aquele de **Colestat enzimático**. Tirar do banho e esfriar. Ler em espectrofotômetro a 505 nm ou em fotocolorímetro com filtro verde (490-530 nm), zerar o aparelho com o Branco.

## CÁLCULOS DOS RESULTADOS

LDL colesterol (g/l) = Colesterol total (\*) - (D x f)

$$f = \frac{0,624}{P}$$

(\*) Valor obtido com **Colestat enzimático** ou **Colestat enzimático AA/líquida**.

O valor 0,624 é obtido de:

$$0,624 = 2 \text{ (g/l)} \times \frac{VF_E}{V_A} \times \frac{VR_E}{VR_P} \times \frac{V_P}{V_E}$$

onde:

$VF_E$  = volume final do extrato = 0,3 ml

$V_A$  = volume de amostra processada = 0,2 ml (200 ul)

$VR_E$  = volume de reação com o extrato = 2,1 ml

$VR_P$  = volume de reação com o Padrão = 2,02 ml

$V_P$  = volume de Padrão na reação = 0,02 ml (20 ul)

$V_E$  = volume de extrato na reação = 0,1 ml (100 ul)

De ser utilizados volumes diferentes o fator 0,624 varia e dever ser calculado novamente.

## VALORES DE REFERÊNCIA

O painel de expertos do National Cholesterol Education Program (NCEP) fornece os seguintes valores de LDL colesterol na relação ao risco de contrair doenças cardíacas coronárias (DCC):

- **Risco baixo ou nulo** (indivíduos normais): valores de LDL colesterol < 1,29 g/l.

- **Risco moderado a elevado** (indivíduos com probabilidade de contrair DCC): valores entre 1,30 e 1,89 g/l

- **Risco muito elevado** (indivíduos suspeitos de ter DCC): valores de LDL colesterol  $\geq$  1,90 g/l.

É recomendável que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

## LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. Quando sejam processadas amostras ictericas, deverão ser diluídos os soros 1/2 ou 1/3 com solução fisiológica e utilizar o procedimento habitual, levando em conta o fator de diluição para os cálculos.

No caso do LDL colesterol não ser separado totalmente na centrifuga, por níveis elevados de triglicerídeos, pode ser realizada a determinação da seguinte maneira:

Seguindo as instruções do PROCEDIMENTO até a incubação no banho-maria a 20-25°C, 15 minutos, após colocar a mistura de reação em capilares e centrifugar em centrifuga de microhematocrito a 10.000 r.p.m. durante 5 minutos. Cortar o capilar descartando o precipitante e utilizar o sobrenadante limpo para a prova.

Em todos os casos em que os valores de colesterol ligado a HDL e VLDL ( $D \times f$ , segundo os cálculos) sejam superiores a 1 g/l, devese repetir a determinação com os mesmos soros utilizando 100 ul de amostra e 200 ul de Reagente A. Continuar com a técnica descrita, tomando 100 ul de sobrenadante e utilizando o fator 1,248 para os cálculos no lugar do anterior. Não deixar o precipitado em contato com o sobrenadante, devido a que pode existir uma nova dissolução provocando valores de leituras elevados com a diminuição dos valores de LDL colesterol.

## DESEMPENHO

**a) Reprodutibilidade:** processando duplicatas de uma mesma amostra em um mesmo dia, obtivera-se o seguinte:

| Nível    | D.P.           | C.V.  |
|----------|----------------|-------|
| 1,14 g/l | $\pm$ 0,03 g/l | 2,6 % |
| 2,03 g/l | $\pm$ 0,04 g/l | 2,0 % |

**b) Linearidade:** a reação é linear até 5 g/l.

**c) Limite de detecção:** em espectrofotômetro, para uma variação de absorbância de 0,001 D.O., a mudança mínima de concentração detectável será de 0,0063 g/l de colesterol.

## APRESENTAÇÃO

Para processar 100 amostras (Cód. 1220104).

## REFERÊNCIA

- Seidel, D. - Ann. Clin. Biochem. 19:278 (1982).
- Levy, R.I. - Clin. Chem. 27/5:653 (1981).
- Coniglio, R.I. - Acta Bioq. Clin. Latinoam. XXIII/2:201 (1989).
- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.



# LDL Cholesterol

## *Reactivo Precipitante*

For the separation of the low density lipoproteins  
(LDL) in serum

### SUMMARY

The approximate cholesterol content in each lipoprotein family is (in % per weight unit): 1% in chylomicrons, 18% in VLDL, 50% in LDL and 23% in HDL. Each family has a different biological activity, thus the clinical significance of a cholesterol increase depends on the lipoprotein or lipoproteins that are in excess.

The regulatory mechanisms of the plasma lipoproteins levels are very complex and can be affected by several factors (genetic, environmental, physiological or pathological). It is possible to find total cholesterol values near the normal range along with alterations in the lipoprotein fractions.

The HDL and LDL have been the most studied due to their important biological activity:

- the LDL, product of the VLDL metabolism in plasma, are the ones that transport the exogenous cholesterol (and in much less proportion, endogenous) to the interior of the cells;
- the HDL, synthesized in the liver, remove the cholesterol that is not used by the cells (within certain concentration limits), transporting it to the liver for its degradation.

Several epidemiological studies have confirmed that the LDL cholesterol excess in reference to a critical value (1.9 g/l) must be considered as a risk factor for the development of coronary heart disease, considering that the HDL's protective effect only seems to have relevance within certain concentrations range of circulating cholesterol. These findings allow to deduce that isolated HDL or LDL values cannot be taken as predictive risk indexes, but it is necessary to make a lipid profile with the total cholesterol, HDL cholesterol and LDL cholesterol values.

### PRINCIPLE

Low-density lipoproteins (LDL or  $\beta$ -lipoproteins) are separated from the serum selectively precipitating them by adding high molecular weight polymers. In the supernatant, after centrifugation, the other lipoproteins (HDL and VLDL) remain; the determination of cholesterol associated to them is performed using the enzymatic system cholesterol-oxidase/peroxidase with Trinder colorimetry (Phenol/4-AP). The difference between the total cholesterol and the one determined in the supernatant will give the cholesterol associated to the LDL.

### PROVIDED REAGENTS

**A. Reagent A** (Precipitating Reagent): 1 g/l solution of polyvinyl sulfate dissolved in polyetyleneglycol (MW: 600) at 25%, pH 6.7.

### NON-PROVIDED REAGENTS

Wiener lab.'s **Colestat enzimático**, **Colestat enzimático AA** or **Colestat enzimático AA líquida**.

### INSTRUCTIONS FOR USE

**Reagent A:** ready to use.

### WARNINGS

The Reagent is for "in vitro" diagnostic use.

Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

### STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

**Reagent A:** stable in refrigerator (2-10°C) until the expiration date shown on the box.

### INSTABILITY OR DETERIORATION OF REAGENTS

Any change in the coloration or in other physical feature of the reagent may be a sign of its deterioration.

### SAMPLE

Serum

**a) Collection:** the patient must be on a 12 to 16-hour fasting. Obtain the serum in the usual way and separate the clot within an hour from the extraction.

**b) Additives:** not required.

**c) Known interfering substances:** hypertriglyceridemic sera (with chylomicronemia) produce turbid supernatants; bilirubin in levels above 50 mg/l, interferes.

**d) Stability and storage instructions:** serum should be preferably fresh. In case the test cannot be performed immediately, the sample can be kept refrigerated (2-10°C) for no longer than 24 hours from the extraction. Do not freeze.

### REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Centrifuge.
- Spectrophotometer or photocolormeter.
- Micropipettes and pipettes for measuring the stated volumes
- Kahn tubes.
- Spectrophotometric cuvettes.
- Water bath at 37°C.
- Stopwatch.

### PROCEDURE

In a Kahn tube place:

|           |             |
|-----------|-------------|
| Sample    | 200 $\mu$ l |
| Reagent A | 100 $\mu$ l |

Homogenize by shaking (not by inversion) for 20 seconds and place in a water bath at 20-25°C for 15 minutes. Centrifuge for 15 minutes at 3000 rpm. Immediately separate the supernatant. See PROCEDURE LIMITATIONS.

Use the supernatant as Sample for the colorimetric assay. In three photocolormeter tubes labeled B (Blank), S (Standard) and U (Unknown) place:

|                        | B    | S     | U      |
|------------------------|------|-------|--------|
| <b>Supernatant</b>     | -    | -     | 100 ul |
| <b>Standard</b>        | -    | 20 ul | -      |
| <b>Working Reagent</b> | 2 ml | 2 ml  | 2 ml   |

Mix and incubate for 5 minutes at 37°C, if the Working Reagent of **Colestat enzimático AA Línea Líquida** is used or 15 minutes at 37°C if **Colestat enzimático** Working Reagent is employed. Remove from the bath and let cool. Read at 505 nm in spectrophotometer or at 490-530 nm in photocolormeter with green filter, setting the instrument to zero with the Blank.

## CALCULATIONS

LDL Cholesterol (g/l) = Total Cholesterol (\*) - (U x f)

$$f = \frac{0.624}{S}$$

(\*) Value obtained with **Colestat enzimático** or **Colestat enzi-mático AA Línea Líquida**.

The 0.624 value comes from:

$$0.624 = 2 \text{ (g/l)} \times \frac{FV_E}{V_S} \times \frac{RV_E}{RV_{Std}} \times \frac{V_{Std}}{V_E}$$

where:

$FV_E$  = extract final volume = 0.3 ml

$V_S$  = processed sample volume = 0.2 ml (200 ul)

$RV_E$  = reaction volume with extract = 2.1 ml

$RV_{Std}$  = reaction volume with Standard = 2.02 ml

$V_{Std}$  = Standard volume in the reaction = 0.02 ml (20 ul)

$V_E$  = extract volume in the reaction = 0.1 ml (100 ul)

If different volumes are used the 0.624 factor varies and must be calculated again.

## REFERENCE VALUES

The expert panel from the National Cholesterol Education Program (NCEP) provides the following LDL Cholesterol values related to the risk of acquiring coronary heart disease (CHD):

- **Low or no risk** (normal individuals): LDL Cholesterol values below 1.29 g/l.

- **Moderate or high risk** (individuals with probability of acquiring CHD): values between 1.30 and 1.89 mg/l.

- **Very High risk** (individuals suspected from suffering from CHD): LDL Cholesterol values  $\geq 1.90$  g/l.

However, each laboratory should establish its own references values.

## PROCEDURE LIMITATIONS

See Known interfering substances under SAMPLE.

When icteric samples are processed, the sera should be diluted 1:2 or 1:3 with saline solution, using the usual procedure, taking into account the dilution factor for the calculations.

When the LDL cholesterol cannot be completely separated in a common centrifuge, due to high levels of triglycerides, the determination can be performed in this manner:

Follow the instructions under PROCEDURE up to the incubation in water bath at 20-25°C for 15 minutes, then place the reaction mixture in capillary tubes and centrifuge in a microhematocrit centrifuge at 10,000 rpm for 5 minutes. Cut the tube discarding the precipitate and use the clean supernatant for the test.

In all the cases in which the cholesterol values associated to HDL and VLDL ( $U \times f$ , according to the calculation) are above 1 g/l, the determination must be repeated with the same sera using 100 ul sample and 200 ul Reagent A. Continue with the described technique, taking 100 ul supernatant and using the 1.248 factor for the calculations.

Do not let the precipitate in contact with the supernatant, as a redissolution may take place producing high reading values with the consequent decrease in the LDL Cholesterol values.

## PERFORMANCE

**a) Reproducibility:** processing replicates of one sample on the same day, the following results were obtained:

| Level    | S.D.           | C.V.  |
|----------|----------------|-------|
| 1.14 g/l | $\pm 0.03$ g/l | 2.6 % |
| 2.03 g/l | $\pm 0.04$ g/l | 2.0 % |

**b) Linearity:** the reaction is linear up to 5 g/l.

**c) Detection limit:** depends on the spectrophotometer used. For a 0.001 O.D. reading, the minimum visible change of concentration will be of approximately 0.0063 g/l.

## WIENER LAB. PROVIDES

Kit for processing 100 samples (Cat. 1220104).

## REFERENCES

- Seidel, D. - Ann. Clin. Biochem. 19:278, 1982.
- Levy, R.I. - Clin. Chem. 27/5:653, 1981.
- Coniglio, R.I. - Acta Bioq. Clin. Latinoam. XXIII/2:201, 1989.
- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.



## SÍMBOLOS // SÍMBOLOS // SYMBOLS

Símbolos que podrían encontrarse en los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Símbolos que podem ser encontrados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // Symbols that might be found on Wiener lab diagnostic reagent kits.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro" // Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro" // This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices



Representante autorizado en la Comunidad Europea // Representante autorizado na Comunidade Europeia // Authorized representative in the European Community



Uso diagnóstico "in vitro" // Uso médico-diagnóstico "in vitro" // "In vitro" diagnostic medical device



Contenido suficiente para <n> ensayos // Conteúdo suficiente para <n> testes // Contains sufficient for <n> tests



Fecha de caducidad // Data de validade // Use by



Límite de temperatura (conservar a) // Limite de temperatura (conservar a) // Temperature limitation (store at)



No congelar // Não congelar // Do not freeze



Riesgo biológico // Risco biológico // Biological risks



Volumen después de la reconstitución // Volume após a reconstituição // Volume after reconstitution



Contenido // Conteúdo // Contents



Número de lote // Número de lote // Batch code



Elaborado por: // Elaborado por: // Manufactured by:



Nocivo // Nocivo // Harmful



Corrosivo / Cáustico // Corrosivo / Caústico // Corrosive / Caustic



Irritante // Irritante // Irritant



Consultar instrucciones de uso // Consultar as instruções de uso // Consult instructions for use



Calibrador // Calibrador // Calibrator



Control // Controle // Control



Control Positivo // Controle Positivo // Positive Control



Control Negativo // Controle Negativo // Negative Control



Número de catálogo // Número de catálogo // Catalog number

IVD

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.  
Riobamba 2944  
2000 - Rosario - Argentina  
<http://www.wiener-lab.com.ar>  
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola  
Bioquímica  
Producto Autorizado A.N.M.A.T.  
Disp. N°: 1994/86-187/00-7103/08



**Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina