



HDL Colesterol

monofase AA plus

Método colorimétrico sin precipitación para la determinación de HDL-colesterol en suero o plasma

SIGNIFICACION CLINICA

Las lipoproteínas plasmáticas son partículas esféricas que contienen cantidades variables de colesterol, triglicéridos, fosfolípidos y proteínas. Los fosfolípidos, el colesterol libre y las proteínas constituyen la superficie externa de la partícula lipoproteica, mientras que su core contiene en mayor proporción colesterol esterificado y triglicéridos. Estas partículas solubilizan y transportan el colesterol en el torrente sanguíneo.

La proporción relativa de proteína y lípido determina la densidad de estas lipoproteínas y provee las bases sobre las cuales establecer una clasificación. Estas clases son: quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL - Very Low Density Lipoproteins), lipoproteínas de baja densidad (LDL - Low Density Lipoproteins) y lipoproteínas de alta densidad (HDL - High Density Lipoproteins). Numerosos estudios clínicos han demostrado que las diferentes clases de lipoproteínas tienen distintos y variados efectos en el riesgo de enfermedad coronaria.

La función principal de las HDL en el metabolismo lipídico es la captación y transporte de colesterol desde los tejidos periféricos al hígado en un proceso conocido como transporte reverso de colesterol (mecanismo cardioprotectivo).

El HDL-colesterol bajo, está asociado con un alto riesgo de enfermedad cardíaca. Por este motivo la determinación de HDL-colesterol es una herramienta útil en la identificación de individuos de alto riesgo.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El presente, es un método homogéneo que emplea dos reactivos. En la primera etapa de la reacción, se solubiliza y consume el colesterol libre o unido a proteínas distintas de la HDL en una reacción que involucra a colesterol oxidasa (CHO), peroxidasa (POD) y N-etil-N-(2-hidroxi-3-sul-fopropil)-3-toluidina disódica (TOOS) dando lugar a un producto no coloreado. En una segunda etapa, un detergente solubiliza específicamente las HDL. El HDL-colesterol es liberado para reaccionar con colesterol esterasa (CHE), colesterol oxidasa y TOOS, dando un producto coloreado:

LDL, VLDL, quilomicrones $\xrightarrow[\text{CHO}]{\text{TOOS}}$ productos incoloros de LDL, VLDL y quilomicrones

HDL-colesterol $\xrightarrow{\text{detergente}}$ HDL solubilizada

HDL-colesterol $\xrightarrow[\text{CHE}]{\text{CHO}}$ colest-4-en-3-ona + H₂O₂

H₂O₂ + TOOS + 4-AAP $\xrightarrow{\text{POD}}$ desarrollo de color

* No provisto en algunas presentaciones

861265522

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de colesterol oxidasa (< 1000 U/l), peroxidasa (< 1300 U/l) y N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-toluidina disódica (TOOS) (< 1 mM), en buffer de Good, con estabilizante y conservante apropiados.

B. Reactivo B: solución de detergente (< 2%), colesterol esterasa (< 1500 U/l) y 4-aminoantipirina (4-AAP) (< 1 mM), en buffer de Good, con estabilizante y conservante apropiados.

Calibrador*: suero humano liofilizado conteniendo lipoproteínas de diversos tipos incluyendo HDL. La concentración es variable lote a lote (ver título en el rótulo).

REACTIVOS NO PROVISTOS

Agua destilada.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos A y B: listos para usar.

Calibrador: reconstituir con el volumen de agua destilada indicado en el rótulo. Tapar el vial y dejar en reposo durante 5 minutos. Ayudar a la disolución rotando el vial suavemente, evitando la formación de espuma. No agitar.

PRECAUCIONES

- Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".
- No pipetear con la boca.
- El Calibrador ha sido examinado para HBsAg, HCV y anticuerpos contra HIV 1/2, encontrándose no reactivo. No obstante, debe procesarse como si se tratara de material infectivo.
- 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

Los Reactivos Provistos son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar. Una vez abiertos los reactivos son estables durante 3 semanas en refrigerador (2-10°C).

Una vez reconstituido, el Calibrador es estable 1 semana en refrigerador (2-10°C) o 1 mes congelado (-20°C), evitando descongelar y volver a congelar.

MUESTRA

Suero o plasma

a) Recolección: obtener la muestra de la manera usual.

b) Aditivos: heparina o EDTA cuando se utilice plasma como muestra.

c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por ácido ascórbico hasta 100 mg/dl, hemoglobina hasta 1000 mg/dl, bilirrubina hasta 60 mg/dl, ni triglicéridos hasta 1200 mg/dl (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO).

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

c) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: centrifugar y separar el suero del coágulo dentro de las 3 horas posteriores a la extracción. De no procesar las muestras inmediatamente, las mismas pueden ser conservadas durante 1 semana en refrigerador (2-10°C).

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Material volumétrico para medir los volúmenes indicados
- Analizador automático

PROCEDIMIENTO

(analizadores automáticos)

A continuación se detalla un procedimiento general para **HDL Colesterol monofase AA plus** en un analizador automático. Cuando se implemente la técnica para un analizador en particular seguir las instrucciones de trabajo del mismo.

Muestra o Calibrador	3 ul
-----------------------------	------

Reactivo A	300 ul
-------------------	--------

Incubación durante 5 minutos a 37°C. Lectura de absorbancia a 600/700 nm (Blanco de Muestra).

Reactivo B	100 ul
-------------------	--------

Incubación 5 minutos a 37°C. Lectura del resultado a 600/700 nm (concentración de HDL-colesterol).

CALIBRACION

El Calibrador debe procesarse de la misma manera que las muestras. Las concentraciones del Calibrador se encuentran alrededor de los niveles de decisión médica y son variables lote a lote (ver título en el rótulo). Ingresar el valor de concentración del calibrador cada vez que se cambie de lote.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de HDL colesterol, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

Los valores esperados de HDL colesterol son los siguientes:

Varones: 30 - 70 mg/dl

Mujeres: 30 - 85 mg/dl

El panel de expertos del National Cholesterol Education Program (NCEP) provee los siguientes valores de HDL colesterol: 40 - 60 mg/dl

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia. No obstante, valores mayores de 40 mg/dl se consideran recomendables y los que se encuentren por encima de 60 mg/dl se han considerado como

protectivos. Por el contrario, valores de HDL colesterol por debajo de 40 mg/dl se consideran como índice significativo de riesgo de enfermedad cardíaca coronaria.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

No deben emplearse anticoagulantes que contengan citrato.

No exponer los reactivos a la luz.

Conservar los reactivos de acuerdo a las instrucciones.

En caso de muestras con concentraciones de triglicéridos mayores a 1200 mg/dl, diluir las mismas con solución fisiológica.

PERFORMANCE

a) Precisión: procesando simultáneamente replicados de una misma muestra en un mismo día se obtiene lo siguiente:

Nivel	D.S.	C.V.
32,9 mg/dl	± 0,6 mg/dl	1,9 %
50,7 mg/dl	± 0,9 mg/dl	1,7 %
101,3 mg/dl	± 1,5 mg/dl	1,5 %

Procesando la misma muestra en días diferentes, se obtuvo:

Nivel	D.S.	C.V.
32,8 mg/dl	± 0,8 mg/dl	2,4 %
50,0 mg/dl	± 1,2 mg/dl	2,5 %
100,1 mg/dl	± 2,3 mg/dl	2,3 %

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 200 mg/dl. Para valores superiores, diluir la muestra con solución fisiológica y multiplicar el resultado por el factor de dilución empleado.

c) Límite de cuantificación: la mínima concentración cuantificable de HDL colesterol es de 4 mg/dl.

d) Recuperación: agregando cantidades conocidas de HDL colesterol a distintos sueros, se obtuvo una recuperación entre 98,4 y 99,0%.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

PRESENTACION

- 80 ml (1 x 60 ml + 1 x 20 ml), con Calibrador (Cód. 1220223)
- 80 ml (1 x 60 ml + 1 x 20 ml), sin Calibrador (Cód. 1220224)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), con Calibrador (Cód. 1009328)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), con Calibrador (Cód. 1009280)
- 160 ml (2 x 60 ml + 2 x 20 ml), con Calibrador (Cód. 1009622)

BIBLIOGRAFIA

- Castelli, W. et al. - Circulation, 55:767 (1977).
- Gordon, T. et al. - Am. J. Med. 62:707 (1977).
- Warnick, G. - Clin. Chem. 41:10, 1427 (1995).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).
- Tietz N.W., Clinical Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunder Co., Philadelphia, pag. 256, 1986.
- Westgard, J. et al. - Clin. Chem. 20:825 (1974).

Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control




Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo

 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.
Cert. N°: 4980/04
Lic N°: PCT/JP00/03860 -
PCT/JP97/04442



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina