

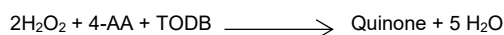
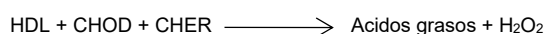
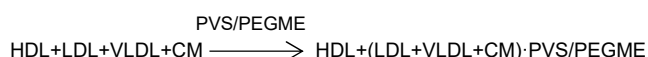
HDL-CHOLESTEROL DIRECT 

REF 1133520 40 mL CONTENIDO R1. Reagent 1 x 30 mL R2. Reagent 1 x 10 ml CAL. 1 x 1 mL	REF 1133530 80 mL CONTENIDO R1. Reagent 2 x 30 mL R2. Reagent 1 x 20 mL CAL. 1 x 1 mL	COLESTEROL-HDL DIRECTO <i>Método enzimático colorimétrico</i> PUNTO FIJO
Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i>		

FUNDAMENTO

El método está basado en una modificación del procedimiento clásico de precipitación que utiliza cantidades optimizadas de ácido polivinil sulfónico (PVS), polietilenglicol metil éter (PEGME) y detergentes seleccionados.¹

Las fracciones de LDL, VLDL y quilomicrones (CM) reaccionan con el PVS y PEGME, quedando bloqueada su reactividad frente a las enzimas colesterol oxidada (CHOD) y colesterol esterasa (CHER). Estas enzimas reaccionan selectivamente con la fracción HDL, liberando H₂O₂ que es detectado mediante una reacción de Trinder.



COMPOSICION DE LOS REACTIVOS

R1 **Reactivo 1.** Tampón MES (pH 6,5), TODB N,N-Bis(4-sulfobutil)-3-metilaniлина, ácido polivinil sulfónico (PVS), polietilenglicol metil éter (PEGME), MgCl₂, detergentes, EDTA.

R2 **Reactivo 2.** Tampón MES (pH 6,5), colesterol esterasa, colesterol oxidasa, peroxidasa, 4-aminoantipirina, detergentes.

CAL **Calibrador HDL/LDLc.** El valor de concentración es trazable al Material de Referencia Certificado NIST SRM 1951b.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

 Conservar a 2-8°C.

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Mantener los frascos cerrados, protegidos de la luz y evitar la contaminación durante su uso.

Descartar si se observan signos de deterioro:

- Presencia de partículas y turbidez.

- Absorbancia del Blanco (A) a 600 nm > 0,080 en cubeta de 1 cm.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

Los reactivos **R1** y **R2** están listos para su uso. La estabilidad abiertos y situados en el analizador a 2-8°C es de 2 meses.

Calibrador HDL/LDLc. Liofilizado. Reconstituir un vial añadiendo exactamente el volumen de agua destilada indicada en la etiqueta. Mezclar con cuidado y dejar reposar 5 minutos antes de su empleo. El material reconstituido es estable 7 días a 2-8°C ó 1 mes a -20°C. Desecharlo si presenta turbidez o muestra signos de contaminación microbiana.

El calibrador ha sido preparado a partir de suero humano negativo para HBsAg, HCV y no-reactivo para anticuerpos HIV. Manejar con las mismas precauciones empleadas para las muestras.

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

- Lípidos (Triglicéridos < 12 g/L) no interfiere.
- Bilirrubina (< 30 mg/dL) no interfiere.
- Hemoglobina (< 5 mg/dL) no interfiere.
- Ascorbato (< 50 mg/dL) no interfiere.
- Otros medicamentos y sustancias pueden interferir⁵⁻⁶.

EQUIPO ADICIONAL

- Fotómetro o espectrofotómetro con compartimiento de medición termostataado a 37°C, para leer a 600 (± 10 nm).
- Cronómetro, registrador gráfico o impresora.
- Cubetas de 1-cm de paso de luz.
- Pipetas de volumen variable para reactivos y muestras.

TECNICA

1. Equilibrar reactivos y muestras a temperatura ambiente.
2. Pipetear en cubetas rotuladas:

Cubetas	Muestra	Calibrador
R1	300 µL	300 µL
Muestra	4 µL	-
CAL	-	4 µL

3. Mezclar, incubar 5 minutos a 37°C y leer (A₁ blanco).
4. Añadir:

R2	100 µL	100 µL
-----------	--------	--------

5. Mezclar, incubar 5 minutos a 37°C y leer (A₂muestra) y (A₂ calibrador).



CALCULOS

$$\Delta A = A_2 - A_1$$

$$\frac{\Delta A_{\text{muestra}} - \Delta A_{\text{blanco}}}{\Delta A_{\text{calibrador}} - \Delta A_{\text{blanco}}} \times C_{\text{Calibrador}} = \text{mg/dL Colesterol-HDL}$$

Para expresar los resultados en unidades SI aplicar:

$$\text{mg/dL} \times 0,0259 = \text{mmol/L.}$$

Muestras con concentraciones de HDLc superiores a 180 mg/dL deben diluirse 1:2 con solución salina y repetir el ensayo. Multiplicar los resultados por 2.

VALORES DE REFERENCIA^{2,4}

Valores clínicos de HDL-Colesterol empleados para clasificar grupos de riesgo.

Colesterol de lipoproteínas de alta densidad		RIESGO
Hombres	> 55 mg/dL (> 1,42 mmol/L)	Bajo
	40 - 55 mg/dL (0,90 - 1,42 mmol/L)	Moderado
	< 40 mg/dL (< 1,04 mmol/L)	Alto
Mujeres	> 65 mg/dL (> 1,68 mmol/L)	Bajo
	45 - 65 mg/dL (1,16 - 1,68 mmol/L)	Moderado
	< 45 mg/dL (< 1,16 mmol/L)	Alto

CONTROL DE CALIDAD

El empleo de un calibrador para calcular los resultados permite obtener una exactitud independiente del sistema o instrumento empleado.

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

Si los resultados obtenidos se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y la técnica usada. Cada laboratorio debe establecer su propio Control de Calidad y sus medidas correctoras cuando los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

SIGNIFICADO CLINICO³

Un valor de Colesterol-HDL bajo es un indicador independiente y firme de enfermedad coronaria. En ATP III, el valor bajo de Colesterol-HDL quedó categóricamente definido como un nivel < 40 mg/dL (1,04 mmol/L), un cambio en relación al nivel < 35 mg/dL establecido anteriormente en ATP II (1993).

Un valor bajo de Colesterol-HDL se emplea como un estimador de riesgo a 10 años, de padecer la enfermedad cardíaca coronaria debiéndose ésta a diversas causas: triglicéridos elevados, sobrepeso y obesidad, inactividad física, tabaco, ingestas muy altas de carbohidratos (> 60% de calorías) y ciertas drogas como los esteroides, anabolizantes y los agentes progestacionales.

CARACTERISTICAS ANALITICAS

- **Limite detección:** 1,06 mg/dL

- **Linealidad: Hasta** 180 mg/dL

- **Precisión:**

mg/dL	Intraserial			Interserial		
Media	29	53	90	29	53	90
DE	0.3	0.41	0.84	0.65	1.36	2.02
CV%	1.0	0.8	0.9	2.3	2.6	2.2
N	80	80	80	80	80	80

- **Correlación:** Este ensayo (y) fue comparado con un método Comercial similar (x). Los resultados fueron los siguientes:

$$N = 84 \quad r = 0,98$$

Las características analíticas han sido generadas usando un instrumento automático. Los resultados pueden variar según el instrumento utilizado.

NOTAS

- Este ensayo permite ser adaptado a distintos instrumentos automáticos. Cualquier adaptación a un instrumento deberá ser validada con el fin de demostrar que se cumplen las características analíticas del método. Se recomienda validar periódicamente el instrumento. Consultar con su distribuidor para cualquier dificultad en la adaptación del método.
- 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.

REFERENCIAS

- Hongbing Xiao Method, composition for determining high density lipoprotein cholesterol. Patent CN 1379235A (2002).
- Warnick, G. y Wood, P.D., Clin. Chem. 41 : 1427 (1995).
- SPECIAL REPORT. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). JAMA. 285 : 2486 (2001).
- Tietz. N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry, p.940. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1987).
- Friedman y Young. Effects of disease on clinical laboratory tests. 5th ed. AACC (Press 2000).
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.

