

LDL-CHOLESTEROL DIRECT

| | | |
|---|--|--|
| REF 1142005 40 mL CONTENIDO R1.Reactivo 1 x 30 mL R2.Reactivo 1 x 10 mL | REF 1142010 320 mL CONTENIDO R1.Reactivo 3 x 80 mL R2.Reactivo 1 x 80 mL | <h2>COLESTEROL-LDL</h2> <p>DIRECTO <i>Método enzimático colorimétrico</i></p> <p>PUNTO FINAL</p> |
| Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i> | | |

FUNDAMENTO

Este método directo para cuantificar el colesterol en las lipoproteínas de baja densidad (LDL) se basa en el ácido sulfónico de polivinilo modificado (PVS) y el éter metílico de polietilenglicol (PEGME) asociado al clásico método de precipitación en proporciones optimizadas de EVP/PEGME y detergentes seleccionados. LDL, VLDL y quilomicrones (CM) reaccionan con PVS y PEGME y las lipoproteínas del HDL presentes en la muestra se descomponen por la acción simultánea de la colesterol esterasa (CE) y la colesterol oxidasa (CO).

Adicionalmente el R2 contiene un detergente específico que libera el LDL del complejo SPV/PEGME. El LDL liberado reacciona con las enzimas para producir H₂O₂ que se cuantifica por la reacción de Trinder.¹

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de LDLc presente en la muestra ensayada.

MUESTRAS²

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 venipuntura. Las muestras pueden conservarse 2 semanas a 4-8°C ó 3 meses a -20°C.

INTERFERENCIAS

- Triglicéridos (10 g/L) no interfiere.
- Bilirrubina (40 mg/dL) no interfiere.
- Hemoglobina (10 g/L) no interfiere.
- Otros medicamentos y sustancias pueden interferir⁴.

COMPOSICION DE LOS REACTIVOS

R1 Tampón MES (pH 6.5), ácido sulfónico de polivinilo modificado (PVS), éter metílico de polietilenglicol, MgCl₂, EDTA, 4-aminoantipirina, colesterol esterasa, colesterol oxidasa, peroxidasa, detergentes.

R2 Tampón MES (pH 6.5), EDTA, TODB N,N-Bis(4-sulfobutil)-3-metilalanina, detergentes.

CAL **Calibrador HDL/LDL.** Optativo. Ref. 1972005. El valor de concentración es trazable al Material de Referencia Certificado 1951a.

EQUIPO ADICIONAL

- Fotómetro o colorímetro para mediciones a 600 (±10 nm).
- Unidad termostatizada ajustable a 37°C.
- 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 | Blanco | Muestra | Calibrador |
|------------|--------|---------|------------|
| R1 | 300 µL | 300 µL | 300 µL |
| Muestra | - | 4 µL | - |
| CAL | - | - | 4 µL |

3. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C.
4. Añadir:

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

5. Mezclar por completo e incubar 5 minutos adicionales a 37°C.
6. Leer la absorbancia (A) de la muestra y del calibrador a 600 nm frente al blanco de reactivo.

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.

R1. Absorbancia del Blanco (A) a 600 nm > 0,120 en cubeta de 1 cm.

R2. 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.



CALCULOS

$$\frac{A \text{ Muestra}}{A \text{ Calibrador}} \times C \text{ Calibrador} = \text{mg/dL Colesterol-LDL}$$

Para expresar los resultados en unidades SI aplicar:
mg/dL x 0,0259 = mmol/L

Muestras superiores a 250 mg/dL de LDLc deben diluirse 1:2 con solución salina y repetir el ensayo. Multiplicar los resultados por 2.

VALORES DE REFERENCIA³

Grupos de riesgo clasificados según los niveles de LDL-C.

| Niveles de Colesterol-LDL | RIESGO |
|------------------------------------|----------|
| < 100 mg/dL (2,59 mmol/L) | Muy Bajo |
| 100 - 129 mg/dL (2,59-3,34 mmol/L) | Bajo |
| 130 - 159 mg/dL (3,37-4,12 mmol/L) | Moderado |
| 160 - 189 mg/dL (4,14-4,89 mmol/L) | Alto |
| ≥ 190 mg/dL (4,92 mmol/L) | Muy 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 CLINICO

Investigaciones de laboratorio, epidemiológicas y factores genéticos de la hipercolesterolemia indican que un colesterol-LDL elevado es una causa mayor de enfermedad cardíaca coronaria. La relación entre los niveles de colesterol-LDL y el riesgo de enfermedad coronaria es continuo en un amplio rango de concentraciones, aumentando el riesgo al incrementarse éstas.

Pruebas clínicas recientes muestran con firmeza que la terapia dirigida a disminuir la tasa de colesterol-LDL reduce el riesgo de enfermedad cardíaca coronaria. Por estas razones el panel ATP III continúa en la identificación de tasas elevadas de colesterol-LDL como el objetivo principal de la terapia reductora de colesterol.

CARACTERISTICAS ANALITICAS

- **Linealidad** : Hasta 250 mg/dL

- **Precisión** :

| mg/dL | Intraserial | | | Interserial | | |
|-------|-------------|-------|-------|-------------|-------|-------|
| | 97,14 | 147,3 | 211,4 | 97,14 | 147,3 | 211,4 |
| SD | 1,00 | 1,19 | 1,38 | 1,55 | 2,23 | 2,98 |
| CV% | 1,0 | 0,8 | 0,7 | 1,6 | 1,5 | 1,4 |
| N | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 |

- **Sensibilidad** : A la dilución 1:75:25 muestra/reactivos a 600 nm, 100 mg/dL de colesterol dan una absorbancia comprendida entre 0,090/ 0,150.

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

$$r = 0,9804 \quad y = 1,0883x + 0,6078.$$

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 and composition for determining low density lipoprotein cholesterol, Chinese Patent CN1379234A (2002).
- NCCLS Document, "Procedures for the collection of arterial blood specimens". Approved Standard, 3rd Ed. (1999).
- 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).
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.

