

| |
|--|
| COD 11648 50 mL |
| CONSERVAR A 2-8°C |
| Reactivos para medir la concentración de colesterol HDL Sólo para uso <i>in vitro</i> en el laboratorio clínico |

CHOLESTEROL HDL PRECIPITATING REAGENT

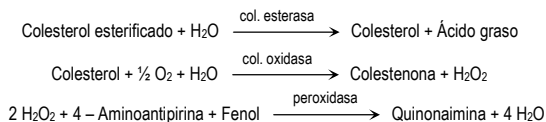


COLESTEROL HDL REACTIVO PRECIPITANTE



FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y de baja densidad (LDL) presentes en la muestra, precipitan en presencia de fosfotungstato y iones magnesio. El sobrenadante contiene las lipoproteínas de elevada densidad (HDL), cuyo colesterol se cuantifica espectrofotométricamente mediante las reacciones acopladas descritas a continuación^{1,2}.



CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

- A. Reactivo: 1 x 50 mL. Fosfotungstato 0,4 mmol/L, cloruro de magnesio 20 mmol/L.
S. Patrón de Colesterol HDL: 1 x 5 mL. Colesterol 15 mg/dL. Patrón primario acuoso.

CONSERVACIÓN

Conservar a 2-8°C.

El Reactivo y el Patrón son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

Indicaciones de deterioro:

- Reactivo: Presencia de partículas o turbidez.
- Patrón: Presencia de partículas o turbidez.

REACTIVOS ADICIONALES

Estos reactivos auxiliares deben ser utilizados junto con el Reactivo de Colesterol contenido en cualquiera de los kits de Colesterol BioSystems (cod. 11805, 11505, 11506, 11539)

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Tanto el Reactivo como el Patrón están listos para su uso.

EQUIPO ADICIONAL

- Centrífuga de sobremesa.
- Baño de agua a 37°C (opcional).
- Analizador, espectrofotómetro o fotómetro para lecturas a 500 ± 20 nm.

MUESTRAS

Suero o plasma recogidos mediante procedimientos estándar.

El Colesterol HDL en suero o plasma es estable 7 días a 2-8°C. Los anticoagulantes como la heparina, EDTA, oxalato o fluoruro, no interfieren.

PROCEDIMIENTO

Precipitación

1. Pipetear en un tubo de centrifuga (Nota 1):

| | |
|--------------------------------------|--------|
| Muestra | 0,2 mL |
| Reactivo (A) (kit de Colesterol HDL) | 0,5 mL |

2. Agitar bien y dejar durante 10 minutos a temperatura ambiente.
3. Centrifugar durante 10 minutos a un mínimo de 4.000 r.p.m.
4. Recoger con cuidado el sobrenadante (Nota 2).

Colorimetría

5. Atemperar el Reactivo (kit de Colesterol) a temperatura ambiente.
6. Pipetear en tubos de ensayo: (Nota 3)

| | Blanco | Patrón | Muestra |
|----------------------------------|--------|--------|---------|
| Agua destilada | 100 µL | — | — |
| Patrón Colesterol HDL (S) | — | 100 µL | — |
| Sobrenadante muestra | — | — | 100 µL |
| Reactivo (A) (kit de Colesterol) | 1,0 mL | 1,0 mL | 1,0 mL |

7. Agitar bien e incubar los tubos durante 30 minutos a temperatura ambiente (16-25°C) o durante 10 minutos a 37°C.
8. Leer la absorbancia (A) del Patrón y de la Muestra a 500 nm frente al Blanco. El color es estable durante al menos 30 minutos.

CÁLCULOS

La concentración de colesterol HDL en la muestra se calcula a partir de la siguiente fórmula general:

$$\frac{A_{\text{Muestra}}}{A_{\text{Patrón}}} \times C_{\text{Patrón}} \times \text{Factor dilución muestra} = C_{\text{Muestra}}$$

Si se utiliza para calibrar el Patrón de Colesterol HDL suministrado (Nota 4):

| | |
|--|--|
| $\frac{A_{\text{Muestra}}}{A_{\text{Patrón}}}$ | $\times 52,5 = \text{mg/dL colesterol HDL}$ |
| $\frac{A_{\text{Muestra}}}{A_{\text{Patrón}}}$ | $\times 1,36 = \text{mmol/L colesterol HDL}$ |

VALORES DE REFERENCIA

Las concentraciones de colesterol de HDL varían considerablemente con la edad y el sexo. El siguiente valor discriminante ha sido recomendado para identificar individuos con elevado riesgo de enfermedad coronaria³.

| | |
|------------------------------|---------|
| Hasta 35 mg/dL = 0,91 mmol/L | Elevado |
| > 60 mg/dL = > 1,56 mmol/L | Bajo |

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de los Sueros Control Bioquímica nivel I (cod. 18005 y 18009), para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida.

Cada laboratorio debe establecer su propio programa de Control de Calidad interno, así como procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

- Límite de detección: 3,0 mg/dL = 0,078 mmol/L.
- Límite de linealidad: 150 mg/dL = 3,9 mmol/L.
- Repetibilidad (intra-serie):

| Concentración media | CV | n |
|------------------------|-------|----|
| 30 mg/dL = 0,78 mmol/L | 3,3 % | 20 |
| 55 mg/dL = 1,42 mmol/L | 2,0 % | 20 |

- Reproducibilidad (inter-serie):

| Concentración media | CV | n |
|------------------------|-------|----|
| 30 mg/dL = 0,78 mmol/L | 4,2 % | 25 |
| 55 mg/dL = 1,42 mmol/L | 3,2 % | 25 |

- Veracidad: Los resultados obtenidos con estos reactivos no muestran diferencias sistemáticas significativas al ser comparados con reactivos de referencia (Nota 4). Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.
- Interferencias: La lipemia (triglicéridos 10 g/L) no interfieren. La hemólisis (hemoglobina > 5 g/L) y la bilirrubina (> 10 mg/dL) pueden interferir. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir⁴.

Estos datos han sido obtenidos utilizando un analizador. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o realizar el procedimiento manualmente.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

Las HDL participan en la captación del colesterol de los tejidos y en su transporte hacia el hígado donde se elimina en forma de ácidos biliares.

Existe una correlación positiva entre concentraciones bajas de HDL-colesterol en plasma y la incidencia de aterosclerosis, base del infarto de miocardio y accidentes cerebrovasculares^{5,6}.

Existen diversos estados patológicos o influencias ambientales asociados con niveles reducidos de HDL: enfermedades hepatoceculares agudas o crónicas, hiperalimentación intravenosa, malnutrición severa, diabetes, anemia crónica, alteraciones mieloproliferativas, enfermedad de Tangier, analfalipoproteinemia, estrés agudo, algunos medicamentos y el tabaco^{5,6}.

El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

NOTAS

1. Se pueden modificar los volúmenes de muestra y Reactivo A, manteniendo la misma proporción.
2. El sobrenadante debe ser completamente claro. En caso de persistir la turbidez o de no obtener una buena sedimentación del precipitado, adicionar otros 0,5 mL de Reactivo A, mezclar bien y centrifugar de nuevo. Multiplicar el resultado obtenido por 1,7 para corregir la dilución efectuada.
3. Estos reactivos pueden utilizarse en la mayoría de analizadores automáticos. Solicite información a su distribuidor.
4. La calibración con el patrón acuoso suministrado puede causar sesgos, especialmente en algunos analizadores. En estos casos, se recomienda calibrar usando un patrón de base sérica (Calibrador Bioquímica, cod. 18011 y 18044).

BIBLIOGRAFÍA

1. Grove TH. Effect of reagent pH on determination of high-density lipoprotein cholesterol by precipitation with sodium phosphotungstate-magnesium. *Clin Chem* 1979; 25: 560-564.
2. Burstein M, Scholnick HR and Morfin R. Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *Scand J Clin Lab Invest* 1980; 40: 583-595.
3. National Cholesterol Education Program Expert Panel. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III). NIH Publication. Bethesda: National Heart, Lung, and Blood Institute; 2001.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AAC Press, 2000.
5. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AAC Press, 2001.