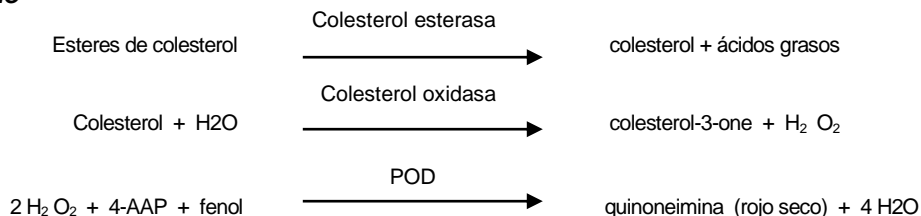


HISTORIA DEL METODO

A finales del siglo XIX Lieberman y Bouchard desarrollaron un método para determinar colesterol, el cuál aun se utiliza a pesar de su naturaleza corrosiva y de ser susceptible a interferencias.

A mediados de los 70's Flegg y Richmond comenzaron a trabajar con métodos enzimáticos. Allain y Roeschlau comenzaron a usar colesterol esterasa y oxidasa, en un reactivo sencillo para determinar colesterol total en suero.

PRINCIPIO



La intensidad del color rojo formado es directamente proporcional al colesterol total en la muestra cuando se lee a 500 nm.

REACTIVOS

4-AAP 0.3mM; colesterol esterasa > 150 U/L; colesterol oxidasa > 150 U/L; peroxidasa > 2500 U/L; fenol 15 mM; buffer fosfato pH 6.8; estabilizadores no reactivos y preservativos.

El reactivo está listo para usarse; es estable hasta fecha de caducidad si se guarda a 2-8-°C.

No se debe utilizar si está turbio.

INTERFERENCIAS

Algunas drogas y sustancias pueden afectar la determinación de colesterol.

MATERIAL

Reactivo de colesterol

MATERIAL REQUERIDO, NO SUMINISTRADO

Pipetas automatizadas

Tubos de ensayo

Cronómetro

Bloque térmico

Espectrofotómetro capaz de leer a 500 nm

PROCEDIMIENTO (MANUAL)

1. Identificar los tubos: blanco, estándar, control, etc.
2. Pipetear 1 mL de reactivo en cada tubo. Precalear a 37 °C por lo menos 5 minutos.
3. Agregar 10 µL de suero a sus respectivos tubos. Mezclar suavemente.
4. Incubar todos los tubos por 5 minutos.
5. Ajustar el espectrofotómetro a 0 con el blanco (500 nm).
6. Leer y anotar absorbancias

NOTAS

Si el espectrofotómetro usado requiere un volumen final mayor a 1 mL, use 25 µL de muestra y 3 de reactivo.

Sueros lipémicos requieren un blanco de suero: 10 µL de suero y 1 mL de solución salina; leer y anotar absorbancia contra blanco de agua. Reste el valor obtenido al valor del paciente.

LIMITACIONES

Muestras con valores que exceden 500 mg/dL debe ser diluidas 1:1 con solución salina y vueltas a correr, el resultado final debe ser multiplicado por 2

CALIBRACIÓN

Un estándar acuoso puede ser usado para calibrar el procedimiento o un calibrador de suero apropiado. La prueba debe ser calibrada según las especificaciones del instrumento. Si el resultado del control se encuentra fuera del rango, se debe recalibrar la prueba.

CALCULOS

Abs. = absorbancia

$$\text{mg /dL} = \frac{\text{Abs. (desconocido)}}{\text{Abs. (estándar)}} * \text{concentración colesterol mg/dL}$$

CONTROL DE CALIDAD

La integridad de la reacción debe ser monitoreada por el uso de un suero control normal y un anormal con valores de colesterol conocidos. Estos controles se deben correr por lo menos cada vez que se ejecuten ensayos de colesterol. Se recomienda que cada laboratorio establezca la frecuencia de determinación de control.

VALORES ESPERADOS

Colesterol deseable < 200 mg/dL
Linea límite - Colesterol alto > 200 - 239 mg / dL
Colesterol alto > 240 mg/dL

FABRICADO POR:

POINTE SCIENTIFIC, INC.
E.E.U.U.
