



HDL Colesterol

monofase AA v.2

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

SIGNIFICACION CLINICA

Las lipoproteínas plasmáticas son partículas globulares 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.

Las proteínas de las lipoproteínas pueden tener distintas funciones: estabilización de la estructura, reconocimiento celular en tejidos periféricos, e interrelación con otras lipoproteínas que permite el intercambio de material entre ellas.

La proporción relativa de proteína y lípido determina la densidad de estas lipoproteínas y provee las bases sobre las cuales establecer una clasificación. Las 4 clases más importantes son (en orden creciente de densidad): 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.

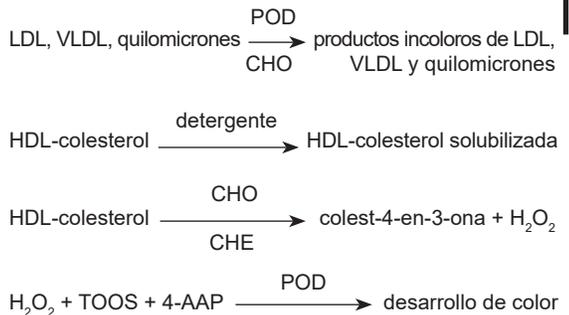
La función principal de las HDL en el metabolismo lipídico es la captación y transporte de colesterol desde los tejidos periféricos al hígado en un proceso conocido como transporte reverso de colesterol (mecanismo cardioprotectivo). Las HDL son mucho más pequeñas que las otras lipoproteínas y son las más abundantes desde el punto de vista numérico. Su composición proteica es el 50%, lo que explica su alta densidad en comparación con las otras.

La elevación del HDL-colesterol (HDL-C) podría significar un mayor transporte reverso de colesterol desde los tejidos periféricos al hígado con lo cual tendría un efecto antiaterogénico, pero también podría suceder que exista una alteración en su eliminación hepática lo cual implicaría un efecto proaterogénico. De igual manera, valores bajo de HDL-C podrían no indicar un problema en el transporte reverso de colesterol sino una alta tasa aclaramiento hepático, en cuyo caso la baja concentración de HDL-C no se correlacionaría con efectos proaterogénicos, sino antiaterogénicos tal como sucede con el genotipo Apo A-I Milano.

Sin embargo, el HDL-C 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 birreactivo homogéneo para la determinación de HDL-colesterol (HDL-C). En la primera etapa de la reacción se solubiliza y consume el colesterol libre asociado a proteínas distintas de HDL, en una reacción que involucra a colesterol oxidasa (CHO) y peroxidasa (POD), dando lugar a un producto no coloreado. En una segunda etapa, una solución de detergentes solubiliza específicamente las HDL. El HDL-colesterol es así liberado para reaccionar con colesterol esterasa (CHE), CHO, 4-AAP (4-amino antipirina) y N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-toluidina disódica (TOOS), dando un producto coloreado que se lee a 540-600 nm.



REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de colesterol oxidasa (< 3000 U/l), peroxidasa (< 5000 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 (< 3000 U/l) y 4-aminoantipirina (4-AAP) (< 1 mM), en buffer de Good, conservantes y estabilizante apropiado.

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.

- **HDL Cholesterol Calibrator** (para las presentaciones que no proveen Calibrador).

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 Provisos 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 al menos 4 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 25 mg/dl, hemoglobina hasta 1000 mg/dl, bilirrubina hasta 50 mg/dl, ni triglicéridos hasta 3000 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 v.2** 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 540/600 nm (Blanco de Muestra).

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

Incubación 5 minutos a 37°C. Lectura del resultado a 540/600 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** de Wiener lab.) 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.

PERFORMANCE

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

Nivel	D.S.	C.V.
31,1 mg/dl	± 0,59 mg/dl	1,9 %
48,1 mg/dl	± 0,33 mg/dl	0,7 %
58,3 mg/dl	± 0,29 mg/dl	0,5 %

Procesando la misma muestra en días diferentes, se obtuvo:

Nivel	D.S.	C.V.
31,1 mg/dl	± 0,23 mg/dl	2,4 %
48,1 mg/dl	± 0,67 mg/dl	1,4 %
58,3 mg/dl	± 0,64 mg/dl	1,1 %

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 150 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 3 mg/dl.

d) Recuperación: agregando cantidades conocidas de HDL colesterol a distintos sueros, se obtuvo una recuperación entre 99.1% y 101.6%.

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. 1220231)
- 80 ml (1 x 60 ml + 1 x 20 ml), sin Calibrador (Cód. 1220239)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), con Calibrador (Cód. 1009401)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), con Calibrador (Cód. 1009264)
- 160 ml (2 x 60 ml + 2 x 20 ml), con Calibrador (Cód. 1009702)
- 160 ml (2 x 60 ml + 2 x 20 ml), con Calibrador (Cód. 1009930)

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, 3rd ed., 1990.
- 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).
- CLSI. User verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline—second Edition. CLSI document EP15-A2 [ISBN 1-56238-574-7]. CLSI, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
- CLSI. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP6-A [ISBN 1-56238-498-8]. CLSI, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2003.
- CLSI. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline—Second Edition (Interim Revision). CLSI document EP09-A2-IR. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
- Glick, M.R., K.W. Ryder, and S.A. Jackson, Graphical comparisons of interferences in clinical chemistry instrumentation. Clin Chem, 1986. 32(3): p. 470-475.

SIMBOLOS

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 / Cáustico

 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.
PM-1102-147

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina