

HDL-CHOLESTEROL 

REF 1133010

2 x 40 mL

CONTENIDO

R1. Reactivo 2 x 40 mL

CAL. Patrón 1 x 3 mL

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*

COLESTEROL-HDL

PRECIPITACIÓN DIFERENCIAL

Método enzimático colorimétrico

PUNTO FINAL

FUNDAMENTO

Esta técnica¹ emplea un método de separación basado en la precipitación selectiva de las lipoproteínas conteniendo apoproteínas-B (VLDL, LDL y (a)Lpa) por acción del ácido fosfotúngstico/C₁₂Mg, sedimentación del precipitado por centrifugación y subsiguiente análisis enzimático como colesterol residual de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) contenidas en el sobrenadante claro.

COMPOSICION DE LOS REACTIVOS

R1 **Reactivo precipitante.** Acido fosfotúngstico 0,63 mmol/L, cloruro de magnesio 25 mmol/L. Estabilizantes.

CAL **Patrón de Colesterol.** Colesterol 50 mg/dL (1,30 mmol/L). Patrón primario de matriz orgánica. El valor de concentración es trazable al Material de Referencia Certificado 1951a. No incluido.

R2 **Colesterol MR.** Optativo. Ref: 1118005, 1118010, 1118015.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

 Conservar a 2-8°C.

Los Reactivos y el Patrón son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Descartar si se observan signos de deterioro:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia del Blanco (A) a 500 nm > 0,100 en cubeta de 1 cm.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

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.

MUESTRAS

Suero o plasma recogido con EDTA o heparina, libre de hemólisis. 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 sin que se altere la tasa de colesterol-HDL.

El sobrenadante conteniendo la fracción HDL es convenientemente preparado el día de la extracción pudiendo analizarse tras 2 semanas a 4-8°C ó 3 meses a -20°C en un congelador desprovisto de auto-descongelación.²

INTERFERENCIAS

- Lipemia (triglicéridos 10 g/L) no interfiere.
- Bilirrubina (> 10 mg/dL), hemoglobina (> 5 g/L) puede afectar los resultados.
- Otros medicamentos y sustancias pueden interferir³.

EQUIPO ADICIONAL

I. Precipitación

- Diluidor y pipetas.
- Tubos de centrifuga (13 x 100 m/m).
- Mezclador Vortex.
- Centrifuga de sobremesa.

II. Colorimetría

- Kit para la medición de Colesterol Total.
- Unidad termostatizada ajustable a 37°C.
- Fotómetro o colorímetro para mediciones a 500 ± 10 nm.

TECNICA

I. Precipitación

1. Equilibrar reactivos y muestras a temperatura ambiente.
2. Pipetear en tubos de centrifuga rotulados:

Muestra o patrón	0,2 mL	Razón $\frac{\text{Muestra}}{\text{Reactivo}} = \frac{1}{2}$
Reactivo precipitante	0,4 mL	
		Factor de dilución = 3

3. Mezclar en agitador rotatorio y reposar los tubos 10 minutos temperatura ambiente.
4. Centrifugar 10 minutos a 4000 r.p.m. o 2 minutos a 12000 r.p.m.
5. Decantar el sobrenadante claro dentro de las 2 horas.

En el caso de sobrenadantes turbios ocasionados por triglicéridos elevados (>350 g/dL) deberá diluirse la muestra 1:2 con solución salina y repetir los pasos 2,3,4 y 5. Multiplicar los resultados de la colorimetría por 2.

II. Colorimetría

- Equilibrar el monoreactivo auxiliar de Colesterol MR y el patrón (50 mg/dL) del kit a temperatura ambiente.
- Pipetear en tubos rotulados:

TUBOS	Blanco	Sobrenadante muestra	Sobrenadante Patrón
Monoreactivo	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Sobrenadante	-	50 µL	-
Patrón	-	-	50 µL

- Mezclar y reposar los tubos 10 minutos a temperatura ambiente ó 5 minutos a 37°C.
- Leer la absorbancia (A) del sobrenadante y el patrón a 500 nm frente al blanco de reactivo.

El color es estable como mínimo 30 minutos protegido de la luz.

CALCULOS

$$\frac{A_{\text{Sobrenadante}}}{A_{\text{Patrón}}} \times C_{\text{Patrón}} = \text{mg/dL Colesterol-HDL}$$

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

VALORES DE REFERENCIA⁴

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
	35-55 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 medidas correctoras cuando los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

SIGNIFICADO CLINICO

Un valor de Colesterol-HDL bajo es un indicador independiente y firme de enfermedad coronaria. En ATP III⁵, 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 de detección:** 0,3 mg/dL

- **Linealidad:** Hasta 275 mg/dL

- **Precisión:**

mg/dL	Intraserial			Interserial		
Media	42,1	45,8	54,6	42,1	45,8	54,6
DE	0,23	0,23	0,2	0,27	0,28	0,31
CV%	0,54	0,5	0,34	0,64	0,61	0,52
N	10	10	10	10	10	10

- **Sensibilidad:** 0,037 A / mg/dL

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

$$N = 25 \quad r = 0,995 \quad y = 0,985x + 2,6$$

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

- Burstein, M., Scholnick, H.R. y Morfin, R. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 40 : 560 (1980).
- Finley, P.R., Shifman, R.B., Williams, R.S. y Lichti, D.I. Clin. Chem. 24 : 931 (1971).
- Tietz, N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (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).
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.