

COLESTEROL HDL (MÉTODO DIRECTO)

Reactivo líquido para la determinación fotométrica del Colesterol HDL en suero o plasma.



Para uso en el diagnóstico *in Vitro*. Apto para usar en autoanalizador.

License numbers PCT/JP00/03860 and PCT/JP97/04442

SIGNIFICANCIA CLINICA

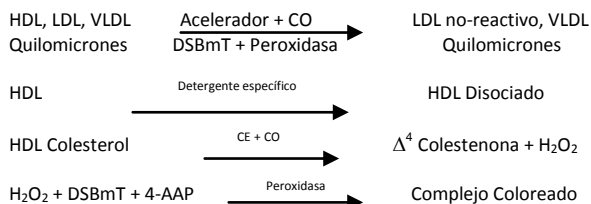
El colesterol se encuentra presente en la sangre, bilis y tejido cerebral. Es precursor de los ácidos biliares, esteroides, y vitamina D. El colesterol es transportado por tres lipoproteínas, la lipoproteína de alta densidad (HDL), la de baja densidad (LDL), y la de muy baja densidad (VLDL).

Castelli y colaboradores han reportado que hay una estrecha relación entre los niveles de HDL-Colesterol y el riesgo de enfermedad coronaria. La evaluación de los niveles de HDL-Colesterol y Triglicéridos provee una valiosa herramienta para la predicción de enfermedad coronaria, y la clasificación de las dislipidemias.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El Colesterol HDL Directo VALTEK es un método homogéneo para la determinación directa de los niveles de HDL-C en suero o plasma, sin necesidad de etapas de pretratamiento o centrifugaciones previas.

Este método, compuesto por dos reactivos, depende de la propiedades de un detergente específico tal como se ilustra, y se basa en la aceleración de la velocidad de reacción de la enzima colesterol oxidasa (CO) con el colesterol no-esterificado, y la disolución selectiva del la HDL utilizando un detergente específico. En el primer reactivo, el colesterol no-esterificado no HDL es sometido a una reacción enzimática tras la cual el peróxido producido es consumido por la enzima peroxidasa con DSBmT, obteniéndose un producto incoloro. El segundo reactivo consiste en un detergente capaz de solubilizar el HDL específicamente, reaccionando con la enzima colesterol esterasa (CE) y el complejo cromogénico de la etapa anterior, formándose un compuesto coloreado, en forma directamente proporcional a la concentración de colesterol HDL en la muestra.



REACTIVOS

Conservados entre 2° y 8°C. en frasco cerrado y protegidos de la luz, estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Los reactivos R1 y R2 abiertos a bordo del autoanalizador entre 2° y 8°C, son estables a lo menos por un mes. NO CONGELAR.

Composición de los Reactivos:

Reactivo 1	
Good 's Buffer	
Colesterol oxidasa (Fr:E.Coli)	<1000 U/L
Peroxidasa (Fr:Horseradish)	<1300 ppg U/L
N,N-bis(4-sulphobutyl)-m-toluidine-disodium(DSBmT)	<1 mM
Acelerador	<1 mM
Preservante	<0.06%
Ascorbato oxidasa (Fr. Curcubita sp.)	<3000U/L

Reactivo 2	
Good 's Buffer	
Colesterol esterasa (Fr:Pseudomonas sp.)	<1500 U/L
4-Aminoantipirina (4-AAP)	<1mM
Detergente	<2%
Preservante	<0.06%

Preparación del Reactivo de Trabajo: los reactivos se proveen listo para su uso.

MUESTRA

Las muestras deben obtenerse en ayunas (12 a 14 horas).

Suero: Obtener la muestra dejando coagular y remover el suero antes de 3 horas¹¹

Plasma: Obtener la muestra utilizando EDTA o Heparina (sodio ó Litio) removiendo el plasma antes de 3 horas.¹¹

Las muestras pueden almacenarse hasta 1 semana entre 2 y 8 °C o hasta por 3 meses a -70 °C.

EQUIPO NECESARIO NO INCLUIDO

Referirse a la programación específica para cada instrumento.

TECNICA

Puede utilizarse cualquier autoanalizador capaz de medir diferencia de absorbancia entre 700 nm y 600 nm.

A continuación se describe un procedimiento general para un equipo autoanalizador.

Muestra (ul)	3
Reactivo 1 (ul)	300
Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C. Medir la diferencia de absorbancia entre 700 nm. y 600 nm.	
Reactivo 2 (ul)	100
Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C. Medir la diferencia de absorbancia entre 700 nm. y 600 nm.	

Contactar a VALTEK para obtener aplicaciones específicas. Es responsabilidad del laboratorio validar esta aplicación.

CALIBRACION

- En la calibración se recomienda utilizar calibrador sérico Valtek específico para Colesterol HDL (código 070-120), proceder de igual forma que con las muestras.
- Se recomienda recalibrar en cualquier momento que se evidencie alguno de estos acontecimientos:
 - El lote de reactivo cambia
 - Se realiza un mantenimiento preventivo del equipo
 - Los valores de control han cambiado o se encuentran fuera de escala.

CALCULOS

Los valores de Colesterol HDL son obtenidos a partir de la calibración realizada.

CONTROL DE CALIDAD

- Es conveniente analizar junto con las muestras sueros controles valorados para Colesterol HDL por este método. Se recomienda la utilización de los sueros controles VALTROL-N (código 210-100) y VALTROL-P (código 210-110). La utilización de un control de calidad procesado como las muestras permite evaluar la exactitud y precisión del método.

Valtek S.A. Av. Marathon 1943, Ñuñoa, Santiago de Chile / Tel. + (562) 654 1100

Fax + (562) 654 1199 / www.valtekdiagnostics.com / info@valtek.cl

- Si los valores obtenidos para los controles se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, el reactivo y el calibrador.
- Cada laboratorio debe disponer de su propio Control de Calidad y establecer las correcciones necesarias en caso de que no se cumpla con las tolerancias permitidas para los controles.

ADVERTENCIAS Y MEDIDAS DE PRECAUCION:

- No usar anticoagulantes que contengan citrato.
- Proteger los reactivos de la luz solar directa.
- Almacenar los reactivos entre 2º y 8º C. No congelar.
- El NCEP recomienda no basar tratamientos en un resultado aislado del HDL-C.
- Muestras con triglicéridos superiores a 2000 mg/dl no deben ser diluidas.
- Se ha reportado valores menores de HDL colesterol a los obtenidos por el método de referencia en muestras provenientes de hígados con cirrosis.
- Alteraciones en el aspecto físico de los reactivos o de los valores de los materiales del control, fuera del rango aceptable del fabricante, pueden ser una indicación de inestabilidad de ellos.
- Consultar en nuestra página WEB la ficha de seguridad de este reactivo y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación y eliminación de residuos.
- En autoanalizadores debe utilizarse contenedores de reactivos nuevos.
- Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

ESPECIFICACIONES DE DESEMPEÑO:

Linealidad: 2.5 mg/dL a 200 mg/dL

Muestras que excedan 200 mg/dL deben ser diluidas con suero fisiológico y multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

Interferencias: Los estudios de interferencias han sido realizados conforme a las sugerencias del NCCLS No.EP7-P.¹³. Hemoglobina 1000 mg/dL, bilirrubina conjugada 60 mg/dL, bilirrubina total 60 mg/dL, ácido ascórbico 100 mg/dL, lipemia 1800 mg/dL, gamma-globulinas 5000mg/dL no presentan interferencias significativas (+/-10%)

Los efectos de drogas en los niveles de HDL-C en el suero se pueden revisar en los trabajos de Young.¹³

Exactitud: Los reactivos VALTEK no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales. Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.

Precisión Intra ensayo: n = 20

Sueros humanos replicados 20 veces cada uno.

Nivel	Media (mg/dL)	SD (mg/dL)	C.V.
Bajo <40 mg/dl	32.9	0.3	0.8%
Medio 40-59 mg/dl	50.6	0.2	0.5%
Alto ≥60 mg/dl	101.4	0.7	0.7%

Precisión Inter ensayo: n = 40

Sueros humanos procesados en duplicados dos veces diarias durante diez días:

Nivel	Media (mg/dL)	SD (mg/dL)	C.V.
Bajo <40 mg/dl	32.8	0.4	1.3%
Medio 40-59 mg/dl	50.0	0.7	1.5%
Alto ≥60 mg/dl	100.1	1.1	1.1%

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

RANGOS DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de referencia en función de la población de pacientes. Los rangos de referencia que se enumeran a continuación están tomados de la bibliografía existente.

Hombres: 30 -70 mg/dL

Mujeres: 30 -85 mg/dL

Para convertir los valores de Colesterol HDL en mg/dl a unidades internacionales estandarizadas, multiplicar el resultado por 0.0259.

mg/dL x 0.0259 = mmol/L Colesterol HDL

Conforme al NCEP, valores de HDL mayores o iguales a 40 mg/dL se consideran adecuados, y valores iguales o superiores a 60 mg/dL se considera que ofrecen algún grado de protección contra la enfermedad coronaria. Valores inferiores a 40 mg/dL se considera como un factor significativo de riesgo de enfermedad coronaria.¹⁰

PRESENTACIONES DISPONIBLES

CODIGO	CONTENIDO	
070-110	Reactivo 1	1 x 60 mL
	Reactivo 2	1 x 20 mL
300080	Reactivo 1	4 x 36 mL
	Reactivo 2	4 x 12 mL
200080	Reactivo 1	2 x 36 mL
	Reactivo 2	2 x 12 mL

BIBLIOGRAFIA

1. Gotto,A.M.,Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia,Hospital Practice,23;Suppl.1,4 (1988).
2. Crouse,J.R.et al.,Studies of low density lipoprotein molecular weight in human beings with coronary artery disease,J.Lipid Res.,26;566 (1985).
3. Badimon,J.J.,Badimon,L.,Fuester V.,Regression of Atherosclerotic Lesions by High Density Lipoprotein Plasma Fraction in the cholesterol-Fed Rabbit,Journal of Clinical Investigation,1990,85:1234-41.
4. Castelli,W.P.et al.,HDL cholesterol and other lipids in coronary heart disease,Circulation,55;767 (1977).
5. Barr,D.P.,Russ E.M.,Eder,H.A.,Protein-lipid relationships in human plasma,Am.J.Med.,11;480 (1951).
6. Gordon,T.et al.,High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease,Am.J.Med.,62;707 (1977).
7. Williams,P.,et al.,High density lipoprotein and coronary risk factor,Lancet,1;72,(1979).
8. Kannel,W.B.,Castelli,W.P.,Gordon,T.,colesterol in the prediction of atherosclerotic disease;New perspectives based on the Framingham study,Ann.Intern.Med.,90:85,(1979).
9. National Institutes of Health publication No.93-3095, September,(1993).
10. Special Communication,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, Vol.285,No.19,May 16,2001,pages 2486 – 2497..
11. Warnick,G.Russell,Wood,Peter D.,National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol:Executive Summary, Clinical Chemistry,Vol.41,No.10,1427-1433 (1995).
12. Kimberly MM,Leary ET,Cole TG and Waymack PP. Selection,validation,standardization,and performance of a designated comparison method for HDL-cholesterol for use in the cholesterol reference method laboratory network. Clin Chem 1999;45:1803-12.
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation Protocol Number 7,Vol.6,No.13,August (1986).
14. Young,D.S.,Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests,3rd ed.,AACC Press,Washington,DC,1990, 3-104 thru 3-106.
15. Carey RN,Garber CC.Evaluation of methods.In:Kaplan LA,Pesce AJ,eds.Clinical Chemistry:theory,analysis and correlation.Third Edition.St.Louis:The CV Mosby Company, St.Louis,MO.,1996:402-423.
16. Westgard JO,Carey RN,Wold S.Criteria for judging precision and accuracy in method development and evaluation.Clinical Chemistry 1974;20:825-833.