



# HDL Colesterol

## *monofase AA plus*

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

### SIGNIFICACION CLINICA

Las lipoproteínas plasmáticas son partículas esféricas 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.

La proporción relativa de proteína y lípido determina la densidad de estas lipoproteínas y provee las bases sobre las cuales establecer una clasificación. Estas clases son: 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).

El HDL-colesterol 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 homogéneo que emplea dos reactivos. En la primera etapa de la reacción, se solubiliza y consume el colesterol libre o unido a proteínas distintas de la HDL en una reacción que involucra a colesterol oxidasa (CHO), peroxidasa (POD) y N-etil-N-(2-hidroxi-3-sul-fopropil)-3-toluidina disódica (TOOS) dando lugar a un producto no coloreado. En una segunda etapa, un detergente solubiliza específicamente las HDL. El HDL-colesterol es liberado para reaccionar con colesterol esterasa (CHE), colesterol oxidasa y TOOS, dando un producto coloreado:

LDL, VLDL, quilomicrones  $\xrightarrow[\text{CHO}]{\text{TOOS}}$  productos incoloros de LDL, VLDL y quilomicrones

HDL-colesterol  $\xrightarrow{\text{detergente}}$  HDL solubilizada

HDL-colesterol  $\xrightarrow[\text{CHE}]{\text{CHO}}$  colest-4-en-3-ona + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + TOOS + 4-AAP  $\xrightarrow{\text{POD}}$  desarrollo de color

\* No provisto en todas las presentaciones

### REACTIVOS PROVISTOS

**A. Reactivo A:** solución de colesterol oxidasa (< 1000 U/l), peroxidasa (< 1300 U/l) y N-etil-N-(2-hidroxi-3-sul-fopropil)-3-toluidina disódica (TOOS) (< 1 mM), en buffer de Good, con estabilizante y conservante apropiados.

**B. Reactivo B:** solución de detergente (< 2%), colesterol esterasa (< 1500 U/l) y 4-aminoantipirina (4-AAP) (< 1 mM), en buffer de Good, con estabilizante y conservante apropiados.

**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.

### 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 infeccioso.
- 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 Provistos 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 durante 3 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 100 mg/dl, hemoglobina hasta 1000 mg/dl, bilirrubina hasta 60 mg/dl, ni triglicéridos hasta 1200 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 plus** en un analizador automático. Cuando se implemente la técnica para un analizador en particular seguir las instrucciones de trabajo del mismo.

<b>Muestra o Calibrador</b>	3 ul
-----------------------------	------

<b>Reactivo A</b>	300 ul
-------------------	--------

Incubación durante 5 minutos a 37°C. Lectura de absorbancia a 600/700 nm (Blanco de Muestra).

<b>Reactivo B</b>	100 ul
-------------------	--------

Incubación 5 minutos a 37°C. Lectura del resultado a 600/700 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**) 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.

En caso de muestras con concentraciones de triglicéridos mayores a 1200 mg/dl, diluir las mismas con solución fisiológica.

#### PERFORMANCE

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

Nivel	D.S.	C.V.
32,9 mg/dl	± 0,6 mg/dl	1,9 %
50,7 mg/dl	± 0,9 mg/dl	1,7 %
101,3 mg/dl	± 1,5 mg/dl	1,5 %

Procesando la misma muestra en días diferentes, se obtuvo:

Nivel	D.S.	C.V.
32,8 mg/dl	± 0,8 mg/dl	2,4 %
50,0 mg/dl	± 1,2 mg/dl	2,5 %
100,1 mg/dl	± 2,3 mg/dl	2,3 %

**b) Linealidad:** la reacción es lineal hasta 200 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 4 mg/dl.

**d) Recuperación:** agregando cantidades conocidas de HDL colesterol a distintos sueros, se obtuvo una recuperación entre 98,4 y 99,0%.

#### 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. 1220223)
- 80 ml (1 x 60 ml + 1 x 20 ml), sin Calibrador (Cód. 1220224)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), con Calibrador (Cód. 1009328)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), con Calibrador (Cód. 1009280)
- 160 ml (2 x 60 ml + 2 x 20 ml), con Calibrador (Cód. 1009622)

#### 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, 4<sup>th</sup> ed., 2001.
- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).
- Tietz N.W., Clinical Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunders Co., Philadelphia, pag. 256, 1986.
- Westgard, J. et al. - Clin. Chem. 20:825 (1974).

# Símbolos

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 / Caústico



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.  
Cert. N°: 4980/04  
Lic N°: PCT/JP00/03860 -  
PCT/JP97/04442



**Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina