

HDL COLESTEROL (MÉTODO DIRECTO)

Uso:

El HDL-Colesterol es utilizado para la determinación cuantitativa in vitro de la lipoproteína de alta densidad del Colesterol en suero o plasma (Colesterol – HDL) humano. El reactivo puede ayudar en el diagnóstico y tratamiento de pacientes en riesgo de desarrollar enfermedad coronaria.

Significado Clínico:

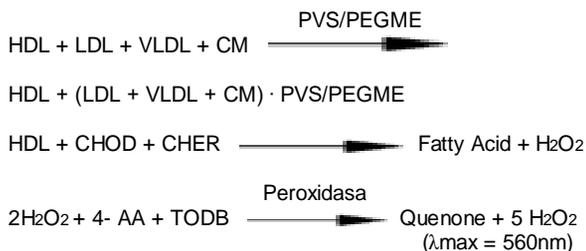
Lipoproteínas de alta densidad (HDL) componen una de las principales clases de lipoproteínas plasmáticas. Se sintetiza en el hígado en forma de complejos de apolipoproteínas y fosfolípidos y son capaces de recoger el colesterol llevándolo desde las arterias hasta el hígado, donde el colesterol se convierte en ácidos biliares y se excreta en el intestino.

Una relación inversa entre el colesterol HDL (HDL-C) los niveles en suero y la incidencia/prevalencia de la enfermedad cardiaca coronaria (CHD) ha sido demostrada en una serie de estudios epidemiológicos. La importancia de HDL-C como un factor de riesgo para la cardiopatía coronaria es ahora reconocida.1-8

La medición precisa de HDL-C es de vital importancia cuando se evalúa el riesgo del paciente de padecer CHD.

Principio de la Prueba:

El ensayo se basa en un polivinílico modificado de ácido sulfónico (PVS) y polietileno-glicol-metil-éter (PEGME) acoplado en un método clásico de precipitación con las mejoras en el uso de cantidades optimizadas de PVS / PEGME y seleccionados detergentes.9 LDL, VLDL, quilomicrones y (CM) reaccionan con PVS y PEGME y la reacción resulta en la inaccesibilidad de LDL, VLDL y CM por el colesterol oxidasa (CHOD) y colesterol esterasa (CHER). Las enzimas reaccionan con HDL selectivamente para producir H₂O₂ que se detecta a través de reacción de Trinder.



Reactivos – Solución de Trabajo:

Reactivo HDL R1: MES Buffer (pH 6.5), N TODB, N-Bis (4-sulfobuty) -3 - metilanilina), ácido polivinilo sulfónico, éster de polietileno-glicol-metil, MgCl₂, detergentes, EDTA.

Reactivo HDL R2: MES buffer (pH 6.5), Colesterol esterasa, Colesterol oxidasa, Peroxidasa, 4-aminoantipirina, Detergentes.

Precauciones:

1. Para uso de diagnóstico in vitro solamente.

2. Las muestras que contengan materiales de origen humano deben manipularse como si fueran potencialmente infecciosas utilizando los procedimientos de seguridad de laboratorio, como los descritos en Bioseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos (HHS Número de publicación [CDC] 93-8395).

3. Al igual que con cualquier procedimiento diagnóstico de prueba, los resultados deben interpretarse teniendo en cuenta todos los resultados de otras pruebas y el estado clínico del paciente.

4. Evitar la ingestión y el contacto con la piel o las membranas mucosas. Ver ficha de seguridad.

5. Los reactivos son sensibles a la luz. No deje botellas permanecer abiertas. Mantenga los recipientes bien cerrados.

6. No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad indicada en el exterior de la caja.

Preparación del Reactivo:

El HDL-Colesterol de (R1, R2) son líquidos estables, listos para usarse.

Almacenaje y Estabilidad del Reactivo

Reactivos sin abrir son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la caja externa cuando se almacenan a 2-8°C. Estabilidad del reactivo es por lo menos 60 días. La solución del reactivo debe ser clara. Si están turbios, los reactivos se han deteriorado.

Recolección y Almacenaje de la Muestra:

Utilice suero fresco y muestras de plasma de paciente en ayunas (EDTA, citrato, heparina Li). Muestras de ayuno y sin ayuno pueden ser usadas.11 Si las muestras contienen HDL colesterol mayor de 184.8 mg/dL, deben diluirse con solución salina

Materiales provistos:

Reactivo R1 (45 mL), Reactivo R2 (15 mL), Estándar (1 mL), Inserto (Técina).

Materiales Requeridos Pero No Provistos:

Cualquier instrumento con control de temperatura de 37 ± 0.5°C, que es capaz de leer con precisión la absorbancia en 600nm puede ser utilizado. Controles para validar el funcionamiento de los reactivos de HDL-colesterol se venden por separado. Solución salina para diluir muestras de suero no se proporciona.

Procedimiento (Manual):

1. Etiquete los tubos, Blanco, Estándar, Control, Paciente, etc.
2. Establecer la temperatura de la cubeta del espectrofotómetro a 37°C.
3. Pipetear 750 uL del reactivo R1 en los tubos de ensayo.
4. Añadir 0.01 mL (10 µl) de muestra, estándar, control a los tubos de ensayo que contienen R1, mezclar y colocar inmediatamente a 37°C. Incubar durante 5 minutos.
5. Pipetear 250 uL del reactivo R2 en los tubos de ensayo. Realizar y registrar la primera lectura de absorbancia de cada tubo (A1) **Blanco Muestra**.
6. Incubar nuevamente durante 5 minutos.
7. Después exactamente a los 5 minutos, lea y registre la segunda lectura de absorbancia (A2).

Resultados:

Ejemplo de Cálculos

$$\Delta A = A_2 - A_1$$

Concentración de HDL-Colesterol en suero:

$$\frac{\Delta A \text{ muestra} - \Delta A \text{ blanco}}{\Delta A \text{ estándar} - \Delta A \text{ blanco}} \times \text{estándar} = \text{mg/dL}$$

Calibración:

El calibrador HDL-colesterol se debe utilizar para calibrar el HDL-colesterol, Agua destilada o desmineralizada se debe utilizar como un calibrador de punto cero.

Calibradores de Colesterol HDL se suministran en forma líquida y son estables hasta la fecha de caducidad cuando se almacenan a 15 - 30°C.

Frecuencia de Calibración:

La curva de calibración es estable durante al menos 14 días. La calibración se realiza mediante la introducción de los valores como se muestra en las etiquetas de la botella del calibrador suministrado.

El calibrador de HDL colesterol es trazable a NIST SRM 195 libras y debe ser almacenado a 15-30°C.

Control de Calidad:

Se recomienda que cada laboratorio utilice controles de HDL-colesterol para validar el rendimiento del reactivo HDL-colesterol. Si los resultados de los controles caen fuera de los límites aceptables, como se determina por sus valores asignados, la prueba no debe ser realizada. Se recomienda que los requisitos de control de calidad deben ser establecidos de acuerdo con leyes locales, estatales y / o federales.

Resultados:

La concentración de HDL-Colesterol es expresada como mg/dL.

Para convertir de unidades convencionales a unidades S.I., multiplique las unidades convencionales por 0.02586.10

$$\begin{array}{l} \text{mg/dL} \times 0.02586 = \text{mmol/L HDL-Colesterol} \\ \text{mmol/L} \times 38.66 = \text{mg/dL} \end{array}$$

Resultados (en mg/dL) son impresos automáticamente por la Hitachi 917. Para otros instrumentos, consulte el manual del operador para obtener instrucciones impresas.

Rango de Referencia¹⁰:

Los valores esperados para el colesterol HDL en suero son los siguientes: Menos de 40 mg/dL- Un factor de riesgo importante para las enfermedades del corazón. De 40 a 59 mg/d - Cuanto mayor sea el nivel de HDL, mejor. De 60 mg/dL y más- Un nivel de HDL de 60 mg/dL o más se considera protector contra la enfermedad cardiaca. Cada laboratorio debe establecer su propio rango de valores esperados.

Limitaciones:

1. Una muestra con un nivel de HDL-colesterol superior al límite de linealidad, debe diluirse con 0.9% de solución salina

y reanalizar incorporando el factor de dilución en el cálculo del valor.

2. Proteger los reactivos de la luz solar directa.

3. Almacenar los reactivos a 2-8°C y el estándar de 15-30°C. No congelar los reactivos.

Características de Desempeño:

Todas las características de desempeño fueron determinadas utilizando un analizador de química Hitachi 917. Los resultados pueden variar entre laboratorios.

Límite de Blanco:

El límite de blanco (LOB) del HDL-Colesterol se determinó de la siguiente manera: el HDL calibrador cero fue probado en 12 réplicas en una Hitachi 917. El LOB = media + 3DS = 1.06mg/dL.

Estudios de Precisión:

La precisión del reactivo HDL-Colesterol se evaluó de acuerdo con las Normas del Instituto Laboratorio Clínico (CLSI), directriz EP5-A. En el estudio, tres muestras de suero que contienen alrededor de 30, 55 y 90mg/dL de HDL-colesterol fueron probados en una Hitachi 917 con 2 corridas al día en duplicado durante 20 días de trabajo. Este método no ha sido probado o certificado por el "Cholesterol Reference Method Laboratory Network" (CRMLN).

Precisión Entre Corridas:

	Nivel 1: 30 mg/dL HDL	Nivel 2: 55 mg/dL HDL	Nivel 3: 90 mg/dL HDL
Número de Puntos de datos	80	80	80
Promedio (µM)	29.00	53.07	90.56
SD (µM)	0.3	0.41	0.84
CV %	1.0	0.8	0.9

Precisión Entre Laboratorios (S₁):

	Nivel 1: 30 mg/dL HDL	Nivel 2: 55 mg/dL HDL	Nivel 3: 90 mg/dL HDL
Número de Puntos de datos	80	80	80
Promedio (µM)	29.00	53.07	90.56
SD (µM)	0.65	1.36	2.02
CV %	2.3	2.6	2.2

Un estudio de precisión adicional del HDL-Colesterol se llevó a cabo de acuerdo al "Clinical and Laboratory Standards Institute" (CLSI), directriz EP5- A. En el estudio, tres niveles de las muestras de suero que contienen aproximadamente 21, 44 y 160 HDL mg/dL, respectivamente, se ensayaron con 2 corridas por día en duplicado durante 5 días laborables

Precisión Entre Corridas:

	Nivel 1: 21 mg/dL HDL	Nivel 2: 44 mg/dL HDL	Nivel 3: 160 mg/dL HDL
Número de Puntos de datos	20	20	20
Promedio (µM)	21.63	44.28	159.59
SD (µM)	0.18	0.30	1.77
CV %	0.90	0.70	1.10

Precisión Entre Laboratorios (S₁):

	Nivel 1: 21 mg/dL HDL	Nivel 2: 44 mg/dL HDL	Nivel 3: 160 mg/dL HDL
Número de Puntos de datos	20	20	20
Promedio (µM)	21.63	44.28	159.59
SD (µM)	0.61	0.79	5.90
CV %	2.8	1.80	3.7

Linealidad:

El rango de linealidad de la prueba es de 1.06 a 184.8 mg/dL en suero. Los resultados por debajo 1.06 mg/dL no son válidos. Los resultados que superan 184.8 mg/dL se deben diluir con solución salina y reanalizarse.

Interferencias:

Las siguientes sustancias normalmente presentes en el suero produjeron menos del 10% de desviación en las concentraciones que se indican: triglicéridos a 1000 mg/dL, ácido ascórbico a 10 mM, la bilirrubina conjugada en 30 mg/dL, bilirrubina a 40 mg/dL, hemoglobina a 1000 mg/dL.

Referencias:

1. Dominiczak M, McNamara J. The system of Cardiovascular prevention. 103-125; Nauk M, Wiebe D,

Warnick G. Measurement of High-Density- Lipoprotein Cholesterol. 221-244. In: Handbook of Lipoprotein Testing (eds. Rifai, Warnick and Dominiczak), 2^{na} edition.

2. Castelli, W.P. et al., HDL Cholesterol and other lipids in coronary heart disease, Circulation, 55;767 (1977).

3. Barr, D.P., Russ, E. M., Eder, H. A., Protein-lipid relationships in human plasma, Am. J. Med., 11;480 (1951).

4. Gordon, T. et al., High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease, Am. J. Med., 62;707 (1977).

5. Williams, P., et al., High density lipoprotein and coronary risk factor, Lancet, 1;72, (1979).

6. Kannel, W.B., Castelli, W. P., Gordon, T., Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease; New perspectives based on the Farmingham study, Ann. Intern. Med., 90;85, (1979).

7. National Institute of Health publication No. 93-3095, September, (1993).

8. Castelli, W.P. et al., HDL Cholesterol and other lipids in coronary heart disease.

9. Hongbing Xiao Method and composition for determining high density lipoprotein cholesterol, Chinese Patent CN 1379235A (2002).

10. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, Evaluation, and Treatment of the High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III, or ATP III).

11. Pisani T. GebSKI CP, Leary Et, et al. Accurate Direct Determination of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Assay. Arch Pathol Lab Med 1995; 119:1127.

