



# HDL Cholesterol

*fast*

Método colorimétrico homogéneo 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 birreactivo homogéneo para la determinación de HDL-colesterol. 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 catalasa (CAT), dando lugar a un producto no coloreado. En una segunda etapa, un agente específico (azida) bloquea la acción de CAT y un detergente 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.

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

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

## REACTIVOS PROVISTOS

**A. Reactivo A:** solución de colesterol oxidasa (< 3000 U/l), peroxidasa (< 5000 U/l), catalasa (< 3000 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, con azida sódica (0.9 g/l) 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 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 24 mg/dl, hemoglobina hasta 1000 mg/dl, bilirrubina hasta 80 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.

**d) 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 Cholesterol fast** 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 540-600 nm (Blanco de Muestra).

<b>Reactivo B</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**) 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 encuentran 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 3000 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.
24,1 mg/dl	± 0,20 mg/dl	0,8%
50,9 mg/dl	± 0,34 mg/dl	0,7%
75,9 mg/dl	± 0,93 mg/dl	1,2%

Procesando la misma muestra en días diferentes, se obtuvo:

Nivel	D.S.	C.V.
24,1 mg/dl	± 0,49 mg/dl	2,0%
50,9 mg/dl	± 0,45 mg/dl	0,9%
75,9 mg/dl	± 1,84 mg/dl	2,3%

**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 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

40 ml: - 1 x 30 ml Reactivo A

- 1 x 10 ml Reactivo B

(Cód. 1220229)

80 ml: - 1 x 60 ml Reactivo A  
- 1 x 20 ml Reactivo B  
(Cód. 1220233)

160 ml: - 2 x 60 ml Reactivo A  
- 2 x 20 ml Reactivo B  
- 1 x 1 ml Calibrador  
(Cód. 1009691)

#### 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", AACCC Press, 3<sup>ra</sup> 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.

#### 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 / 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-1102-115

Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina