



LDL Colesterol

Reactivo Precipitante

Para la separación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) en suero

SIGNIFICACION CLINICA

El contenido aproximado de colesterol en cada familia de lipoproteínas es (en % por unidad de peso): 1% en los quilomicrones, 18% en las VLDL, 50% en las LDL y 23% en las HDL. Dado que cada familia posee distinta actividad biológica, el significado clínico de un aumento de colesterol depende de la o las lipoproteínas que se encuentran en exceso.

Por otra parte, los mecanismos reguladores de los niveles plasmáticos de lipoproteínas son muy complejos y pueden ser afectados por múltiples factores (genéticos, ambientales, fisiológicos o patológicos), siendo posible encontrar valores de colesterol total cercanos al rango normal acompañados de alteraciones en las fracciones lipoproteicas.

Las HDL y las LDL han sido las más estudiadas por su importante actividad biológica:

- las LDL, producto del metabolismo de las VLDL en plasma, son las encargadas del transporte del colesterol exógeno (y en mucho menos proporción, endógeno) hacia el interior de las células;

- las HDL, sintetizadas en el hígado, remueven el colesterol no utilizado por las células (dentro de ciertos límites de concentración), transportándolo hacia el hígado para su degradación.

Diversos estudios epidemiológicos han confirmado que el exceso de colesterol de LDL con respecto a un valor crítico (1,9 g/l) debe ser considerado como factor de riesgo para el desarrollo de enfermedad cardíaca coronaria, considerando que el efecto protector de las HDL sólo parece tener relevancia dentro de cierto rango de concentraciones de colesterol circulante. Tales hallazgos permiten deducir que los valores aislados de colesterol de HDL o de LDL no pueden tomarse como índices predictivos de riesgo, sino que es necesario conformar un perfil lipídico con los valores de colesterol total, colesterol de HDL y colesterol de LDL.

FUNDAMENTOS DEL METODO

Las lipoproteínas de baja densidad (LDL o β -lipoproteínas) se separan del suero precipitándolas selectivamente mediante el agregado de polímeros de alto peso molecular. Luego de centrifugar, en el sobrenadante quedan las demás lipoproteínas (HDL y VLDL); el colesterol ligado a las mismas se determina empleando el sistema enzimático Colesterol oxidasa/ Peroxidasa con colorimetría según Trinder (Fenol/4-AF). Por diferencia entre el colesterol total y el determinado en el sobrenadante, se obtiene el colesterol unido a las LDL.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A (Reactivo Precipitante): solución 1 g/l de

sulfato de polivinilo disuelto en polietilenglicol (PM: 600) al 25%, pH 6,7.

REACTIVOS NO PROVISTOS

Colestat enzimático, Colestat enzimático AA o Colestat enzimático AA líquida, de Wiener lab.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo A: listo para usar.

PRECAUCIONES

El reactivo es para uso diagnóstico "in vitro".

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

Reactivo A: estable en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Todo cambio en la coloración u otro aspecto físico del reactivo, puede ser indicio de deterioro del mismo.

MUESTRA

Suero

a) Recolección: el paciente debe estar en ayunas (de 12 a 16 horas). Obtener suero de la manera usual y separar del coágulo dentro de la hora de la extracción.

b) Aditivos: no se requieren.

c) Sustancias interferentes conocidas: los sueros hipertriglicéridémicos (con quilomicronemia) producen sobrenadantes turbios; la bilirrubina interfiere en niveles mayores de 50 mg/l.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: el suero debe ser preferentemente fresco. En caso de no procesarse en el momento, puede conservarse en el refrigerador (2-10°C) durante no más de 24 horas contadas a partir del momento de la extracción. No congelar.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Centrifuga.

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.

- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Tubos de Kahn.
- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas.
- Baño de agua a 37°C.
- Reloj o timer.

PROCEDIMIENTO

En un tubo de Kahn, colocar:

Muestra	200 ul
Reactivo A	100 ul

Homogeneizar agitando (sin invertir) durante 20 segundos y dejar 15 minutos en un baño de agua a 20-25°C. Centrifugar 15 minutos a 3000 r.p.m. Separar inmediatamente el sobrenadante. Ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO.

Usar el sobrenadante como Muestra para el ensayo colorimétrico.

En tres tubos marcados B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), colocar:

	B	S	D
Sobrenadante	-	-	100 ul
Standard	-	20 ul	-
Reactivo de Trabajo	2 ml	2 ml	2 ml

Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C si se usa el Reactivo de Trabajo de **Colestat enzimático AA/liquida** o 15 minutos a 37°C si se usa el de **Colestat enzimático**. Retirar del baño y enfriar. Leer en espectrofotómetro a 505 nm o en fotocolorímetro con filtro verde (490-530 nm), llevando el aparato a cero de absorbancia con el Blanco.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

LDL colesterol (g/l) = Colesterol total (*) - (D x f)

$$f = \frac{0,624}{S}$$

(*) Valor obtenido con **Colestat enzimático** o **Colestat enzimático AA/liquida**.

El valor 0,624 surge de:

$$0,624 = 2 \text{ (g/l)} \times \frac{VF_E}{V_M} \times \frac{VR_E}{VR_S} \times \frac{V_S}{V_E}$$

donde:

VF_E = volumen final del extracto = 0,3 ml

V_S = volumen de muestra procesada = 0,2 ml (200 ul)

VR_E = volumen de reacción con el extracto = 2,1 ml

VR_S = volumen de reacción con el Standard = 2,02 ml

V_S = volumen de Standard en la reacción = 0,02 ml (20 ul)

V_E = volumen de extracto en la reacción = 0,1 ml (100 ul)

Si se emplean volúmenes diferentes el factor 0,624 varía y debe ser calculado nuevamente.

VALORES DE REFERENCIA

El panel de expertos del National Cholesterol Education Program (NCEP) provee los siguientes valores de LDL colesterol en relación al riesgo de contraer enfermedad cardíaca coronaria (ECC):

- **Riesgo bajo o nulo** (sujetos normales): valores de LDL colesterol menores de 1,29 g/l.
- **Riesgo moderado a elevado** (individuos con probabilidad de contraer ECC): valores entre 1,30 y 1,89 g/l.
- **Riesgo muy elevado** (individuos sospechosos de padecer ECC): valores de LDL colesterol \geq 1,90 g/l.

No obstante, es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Cuando se procesen muestras ictericas, deberán diluirse los sueros 1/2 ó 1/3 con solución fisiológica y emplearse el procedimiento habitual, teniendo en cuenta el factor de dilución para los cálculos.

Cuando el LDL colesterol no puede separarse por completo en una centrifuga común debido a niveles elevados de triglicéridos, puede efectuarse la determinación de la siguiente manera:

Seguir las instrucciones indicadas en PROCEDIMIENTO hasta la incubación en baño de agua a 20-25°C, 15 minutos, luego colocar la mezcla de reacción en capilares y centrifugar en centrifugas de microhematocrito, a 10.000 r.p.m. durante 5 minutos. Cortar el capilar desechando el precipitado y utilizar el sobrenadante límpido para la prueba.

En todos los casos en que los valores de colesterol unido a HDL y VLDL (D x f, según los cálculos) sean superiores a 1 g/l, se debe repetir la determinación con los mismos sueros empleando 100 ul de muestra y 200 ul de Reactivo A. Continuar con la técnica descripta, tomando 100 ul de sobrenadante y utilizando el factor 1,248 para los cálculos en lugar del anterior.

No dejar el precipitado en contacto con el sobrenadante, debido a que puede haber redisolución provocando valores de lecturas elevados con la consiguiente disminución de los valores de LDL colesterol.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando replicados de una misma muestra en el día, se obtienen los siguientes valores:

Nivel	D.S.	C.V.
1,14 g/l	\pm 0,03 g/l	2,6 %
2,03 g/l	\pm 0,04 g/l	2,0 %

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 5 g/l.

c) Límite de detección: en espectrofotómetro, para una variación de absorbancia de 0,001 D.O., el cambio mínimo de concentración detectable será de 0,0063 g/l de colesterol.

PRESENTACION

Para procesar 100 muestras (Cód. 1220104).


BIBLIOGRAFIA

- Seidel, D. - Ann. Clin. Biochem. 19:278 (1982).

- Levy, R.I. - Clin. Chem. 27/5:653 (1981).
- Coniglio, R.I.- Acta Bioq. Clin. Latinoam. XXIII/2:201 (1989).
- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

SIMBOLOS

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.
Disp. N°: 1994/86-187/00-7103/08



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina