



HDL DIRECTA

Números de catálogo: 248-20
248-50A
248-50B

Presentación: 1 x 60 mL + 1 x 20 mL
1 x 450 mL (R1)
1 x 150 mL (R2)

USO

Equipo diagnóstico para la determinación cuantitativa *in vitro* de fracciones de lipoproteína de alta densidad de colesterol en suero.

PRECAUCION

Evitar la ingestión y el contacto con la piel y los ojos. Vea la Hoja de Seguridad del Producto.

REACTIVOS

R1 Amortiguador HDL Directo: solución que contiene un amortiguador (pH 6.5), 0.14 g/L de 4-aminoantipirina, > 5000 U/L de ácido ascórbico oxidase (botánico), un sistema de polianiones y un detergente.

R2 Reactivo de Color de HDL Directo: una solución que contiene amortiguador (pH 6.5), > 1600 U/L de colesterol oxidasa (microbiana), > 1250 U/L de colesterol esterasa (microbiana), > 5000 U/L de peroxidasa (de rábano), 0.42 g/L de DSBmT, un detergente y un conservador.

ANTECEDENTES

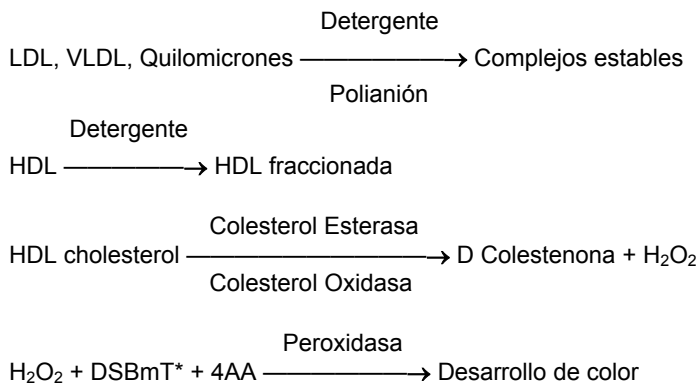
En 1951, Barr y col. (1) fueron los primeros en reportar la relación inversa entre las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y la cardiopatía coronaria.

Desde entonces, se han utilizado varios procedimientos para separar las HDL colesterol de las otras fracciones de lipoproteínas. Estos procedimientos incluyen la ultracentrifugación, electroforesis, HPLC y precipitación de apoproteína B que contiene lipoproteínas.

Los métodos de precipitación se han empleado comúnmente, pero consumen mucho tiempo ya que se requiere el pretratamiento y la centrifugación de las muestras antes de hacer el análisis de HDL.

El método actual permite hacer una determinación del HDL colesterol sin la necesidad de pretratamiento y centrifugación de las muestras. Esto se logra a través de una mezcla específica de detergentes y polianiones que resultan en la solubilización de lipoproteínas de alta densidad y la inhibición selectiva de lipoproteínas de baja densidad, lipoproteínas de muy baja densidad y quilomicrones. Esta inhibición selectiva solo permite la actividad enzimática en las lipoproteínas de alta densidad, sin la necesidad de precipitación de otras fracciones de lipoproteínas.

PRINCIPIOS



El sistema de reactivo HDL reagent esta compuesto de una solución detergente diseñada para solubilizar partículas de HDL y un componente de polianiones que inhibe la reacción de las LDL, VLDL y quilomicrones con las enzimas de colesterol. Esto permite que sólo las fracciones de HDL colesterol reaccionen con la colesterol esterasa y colesterol oxidasa para producir un derivado del colesterol y peróxido. El desarrollo de colesterol resulta de la reacción entre el peróxido, DSBmT* y 4-aminoantipirina en presencia de peroxidasa. La intensidad del color, medida a 600 nm, es directamente proporcional a la concentración de HDL colesterol en la muestra

* DSBmT = N, N-bis (4-sulfobutil)-m-toluidina, disodio.

PREPARACION DEL REACTIVO

Los reactivos son suministrados listos para su uso.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad especificada en la etiqueta a 2-8°C.

Una vez abiertos, los reactivos R1 y R2 son estables por 4 semanas a 2-8°C.

DETERIORO DEL REACTIVO

La solución del reactivo debe ser clara. Una turbidez indicaría deterioro.

INSTRUMENTOS

Puede usarse cualquier analizador con control de temperatura de $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ que sea capaz de leer la absorbancia con exactitud, con una sensibilidad de 0.001 de absorbancia a 600 nm. El ancho de banda deberá ser de 10 nm o menos, la desviación de la luz de 0.5% o menos y la exactitud de longitud de onda dentro de 2 nm.

RECOLECCION Y PREPARACION DE LA MUESTRA

Las muestras recomendadas son suero o plasma tratado con EDTA o heparinizado.

Las muestras deben ser tomadas después de 12 horas de ayuno.

Suero: recolecte sangre completa mediante venopunción y deje que coagule. Centrifugue y retire el plasma tan pronto como sea posible después de la recolección (antes de 3 horas) (2)

Plasma: las muestras pueden recolectarse con EDTA o heparina. Centrifugue y retire el plasma tan pronto como sea posible después de la recolección (antes de 3 horas) (2)

Si no se analizan rápido, las muestras pueden almacenarse a 2-8°C hasta por 1 semana. Si las muestras necesitan almacenarse por más de 1 semana, pueden conservarse hasta por 2 años a -70°C.

INTERFERENCIAS

Se evaluó la interferencia por hemólisis, lipemia e ictericia para este método de HDL colesterol en un analizador Hitachi 911 utilizando un criterio de significancia de variancia >10% a partir del control.

No se encontró interferencia por bilirrubina a concentraciones de hasta 342 $\mu\text{mol/L}$ (20 mg/dL) en una muestra de HDL de 1.03 mmol/L (40 mg/dL).

No se encontró interferencia importante por lipemia a concentraciones de triglicéridos de hasta 22.4 mmol/L (1984 mg/dL) en una muestra de HDL de 0.65 mmol/L (25 mg/dL).

No se encontró interferencia importante por hemoglobina a concentraciones de hasta 77.5 $\mu\text{mol/L}$ (500 mg/dL) en una muestra de HDL de 1.03 mmol/L (40 mg/dL).

Puede encontrar un resumen de la influencia de drogas en las pruebas de laboratorio clínico consultando a Young, D.S. (3).

PROCEDIMIENTO

Materiales Proporcionados

Se incluyen los reactivos necesarios para la determinación de HDL colesterol. Siga los siguientes lineamientos para la adaptación a analizadores automatizados específicos.

Condiciones

Analizadores automatizados

Longitud de onda	600 (700) nm
Temperatura	37°C
Tipo de reacción	Punto final
Tiempo de reacción	10 minutos
Volumen de la muestra	3 µL
Volumen de reactivo	300 µL R1; 100 µL R2
Volumen total	403 µL
Relación muestra/reactivo	1:100:33

CALIBRACION

El equipo no incluye un estándar de HDL colesterol; sin embargo, debe usarse uno de acuerdo con las instrucciones para calibrar el procedimiento.

DCL recomienda su calibrador Cat. No. SE-248 Direct HDL Calibrator. La frecuencia de calibración en sistemas automatizados depende del sistema en sí y de los parámetros usados.

CONTROL DE CALIDAD

Se debe analizar un suero control con nivel normal y anormal en cada serie de muestras, y los resultados deberán caer dentro de ± 2 desviaciones estándar del valor establecido.

CALCULO Y RESULTADOS

Resultados

La concentración de HDL colesterol se expresa en mmol/L (mg/dL).

Limitaciones

Una muestra con una concentración de HDL Colesterol que exceda el límite de linealidad, debe diluirse con solución salina a 0.9% y volver a analizarse incorporando el factor de dilución en el cálculo del resultado.

VALORES ESPERADOS (4)

Deseable: > 1.55 mmol/L (> 60 mg/dL)

Riesgo de CHD: < 1.03 mmol/L (< 40 mg/dL)

Se sugieren estos valores como referencia. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal para el área donde está localizado.

Para información adicional sobre la interpretación de los resultados de HDL Colesterol, vea la sección "Interpretación de los valores de HDL Colesterol" al final de este inserto.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Rango Lineal (NCCLS EP6-P)

La linealidad del procedimiento automatizado descrito es de 3.88 mmol/L (150 mg/dL). El límite inferior de detección del procedimiento descrito es 0.10 mmol/L (3.7 mg/dL). Estos datos resultan en un rango reportable de 0.10-3.88 mmol/L (3.7-150 mg/dL).

Estudios de Precisión

Se recopilaron los datos de dos sueros control en 40 corridas durante 20 días.

Nivel		DE Total		CV Total %	DE dentro de la corrida		CV dentro de la corrida %
mmol/L	mg/dL	mmol/L	mg/dL		mmol/L	mg/dL	
0.61	23.4	0.01	0.3	1.49	0.01	0.2	0.99
1.44	55.7	0.02	0.7	1.31	0.01	0.4	0.79
2.21	85.6	0.03	1.0	1.17	0.01	0.2	0.28

Exactitud

Se comparó el rendimiento de este método (y) con el de otro método de comparación diseñado para análisis de (x) en un Hitachi 911. Las muestras de suero de 54 pacientes que oscilaron de 0.79-2.23 mmol/L (30.6-86.4 mg/dL) dieron un coeficiente de correlación de 0.99. El análisis de regresión lineal dio la siguiente ecuación:

$$\text{Este método} = 1.06 (\text{método de referencia}) - 0.02 \text{ mmol/L (0.72 mg/dL)}$$

Interpretación de HDL - Colesterol

Los valores de HDL Colesterol son más útiles cuando se interpretan en relación con un aumento del riesgo de cardiopatía coronaria (CHD).

Tabla 1. Basado en el National Cholesterol Education Program, Adult Treatment Panel III.

Anormalidades Lipídicas en Adultos (4)				
	Deseable	Límite de Riesgo Alto de CHD	Alto Riesgo de CHD	Riesgo Muy Alto de CHD
Colesterol	< 200 mg/dL (< 5.17 mM)	200-239 mg/dL (5.17-6.18 mM)	≥ 240 mg/dL (≥ 6.20 mM)	--
LDL Colesterol	< 100 mg/dL (< 2.58 mM)	130-159 mg/dL (3.36-4.11 mM)	160-180 mg/dL (4.13-4.88 mM)	≥ 190 mg/dL (≥ 4.91 mM)
HDL Colesterol	> 60 mg/dL (> 1.55 mM)	--	≤ 40 mg/dL (≤ 1.03 mM)	--
Triglicéridos	< 150 mg/dL (< 1.70 mM)	150-199 mg/dL (1.70-2.25 mM)	200-499 mg/dL (2.26-5.64 mM)	≥ 500 mg/dL (≥ 5.65 mM)
TC/HDL	< 5.0	5.0-6.0	> 6.0	

También pueden calcularse las LDL utilizando la siguiente fórmula (5) si la concentración de triglicéridos es menor de 4.52 mmol/L (400 mg/dL).

Cuando todos los resultados se expresan en mmol/L:

$$\text{LDL (mmol/L)} = \text{Colesterol Total} - \text{HDL Colesterol} - \frac{\text{Triglicéridos}}{2.2}$$

Cuando todos los resultados se expresan en mg/dL:

$$\text{LDL (mg/dL)} = \text{Colesterol Total} - \text{HDL Colesterol} - \frac{\text{Triglicéridos}}{5}$$

REFERENCIAS

1. Barr, D.P., et. al., Am. J. Med. 11, 480 (1951).
2. Warnick, G.R., Wood, P.D., National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High Density Lipoprotein Cholesterol: Executive Summary, Clinical Chemistry, Vol. 41, No. 10, 1427-1433 (1995).
3. Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, AACC Press, Third Edition, Washington (1990).
4. Warnick, G.R., Myers, G.L., Cooper, G.R., Rifai, N. Clin. Chem. 48:1, 11-17 (2002).
5. Friedewald, W.I., et. al., Clinical Chemistry 18, 499 (1972).

Abril 29, 2002