

INDICACIONES DE USO

Reactivo complementario al colesterol total VALTEK para la determinación de colesterol HDL en suero.
Agente de diagnóstico in vitro para uso exclusivo de laboratorio clínico o de gabinete.

SIGNIFICANCIA CLÍNICA

El colesterol se encuentra presente en la sangre, bilis y tejido cerebral. Es precursor de los ácidos biliares, esteroides, y vitamina D. El colesterol es transportado por tres lipoproteínas, la lipoproteína de alta densidad (HDL), la de baja densidad (LDL), y la de muy baja densidad (VLDL). Castelli y colaboradores han reportado que hay una estrecha relación entre los niveles de HDL-Colesterol y el riesgo de enfermedad coronaria. La evaluación de los niveles de HDL-Colesterol y Triglicéridos provee una valiosa herramienta para la predicción de enfermedad coronaria, y la clasificación de las dislipidemias.

FUNDAMENTOS DEL MÉTODO

El HDL-Colesterol es obtenido precipitando selectivamente las lipoproteínas LDL y VLDL, quedando el primero en solución. El HDL-Colesterol en solución se determina por acción de las enzimas Colesterol Ester hidrolasa y Colesterol oxidasa. La primera libera el colesterol de los ésteres de colesterol, y la segunda oxida el colesterol libre produciéndose peróxido de hidrógeno, el cual en presencia de la enzima peroxidasa reacciona con el sistema cromo génico dando origen a un compuesto coloreado que absorbe a 505 nm.

Colesterol Ester → Colesterol + ácidos grasos
Colesterol + O₂ → Colest-4-en-3-ona + H₂O₂
2H₂O₂ + 4-AAP + p-HBA → Comp. Coloreado + 4H₂O

CONSERVACION

Conservar a una temperatura de entre 2°C y 8°C y protegidos de la luz, estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

PRESENTACION

- 1.- Reactivo precipitante 1x50 ml. en frasco PEAD incoloro.
- 2.- Reactivo precipitante 1x100 ml. en frasco PEAD incoloro.
- 1.- Reactivo precipitante 2x100 ml. en frasco PEAD incoloro.

Composición del Reactivo:

Ácido fosfotúngstico	0.55 mM
Cloruro de Magnesio	25 mM

Preparación del Reactivo de Trabajo: El reactivo se provee listo para su uso. Debe complementarse el uso del reactivo precipitante con el reactivo para la determinación enzimática de colesterol Mexlab-VALTEK.

MUESTRA

Utilizar suero libre de hemólisis. La muestra debe tomarse con el paciente en ayunas. Los tubos y material de vidrio deben estar limpios y libres de residuos de detergentes. El colesterol es estable 7 días a temperatura ambiente, y 6 meses en congelador.

MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

Espectrofotómetro manual o automático o fotocolorímetro de filtros con cubeta termoestable, capaz de medir absorbancia a 505 nm. (Rango 500 - 550 nm.), baño termoregulado, cronómetro, pipetas, kit Colesterol LS Mexlab-VALTEK.

TÉCNICA

Precipitación: Agregar en un tubo de centrifuga 0.5 mL de reactivo precipitante y 0.2 mL de muestra, mezclar y esperar 15 minutos a temperatura entre 20° y 30°C. Centrifugar 15 minutos a 3000 r.p.m. o 3 minutos a 10.000 r.p.m.

Colorimetría: Llevar el reactivo Colesterol Total a la temperatura que se realizará el ensayo.

	Blanco	Standard	Desconocido
Sobrenadante (mL)	--	--	0.10
Standard (mL)	--	0.01	--
Reactivo Colesterol (mL)	1.00	1.00	1.00

Mezclar e incubar 10 minutos a 37°C o 20 minutos a temperatura ambiente (20 a 25°C.). Leer las absorbancias llevando a cero el espectrofotómetro con el blanco de reactivo. El color resultante es estable por a lo menos treinta minutos.

Nota: Utilizar como Standard el provisto en el kit de Colesterol Total, con el valor asignado de 76,5 mg/dl de Colesterol HDL.

CÁLCULOS

$$Factor = \frac{76.5}{Abs. standard}$$

$$HDL\ Colesterol = Factor * Abs. Desconocido$$

CALCULO DEL COLESTEROL LDL

$$LDL - C = C. Tot - HDL - \frac{Trig.}{5}$$

CONTROL DE CALIDAD

1. Se recomienda utilizar un control sérico específico para Colesterol HDL.
2. Cada laboratorio debe disponer de su propio Control de Calidad y establecer las correcciones necesarias en caso de que no se cumpla con las tolerancias permitidas para los controles.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Después de centrifugar, el sobrenadante debe ser claro.
2. Sueros con concentraciones de triglicéridos superior a 1000 mg/dl deben diluirse con suero fisiológico antes de precipitar. El resultado obtenido se multiplica por el factor de dilución.
3. La fórmula para el cálculo del LDL-Colesterol es válida sólo en muestras con concentraciones de triglicéridos inferior a 1000 mg/dl.
4. Consultar en nuestra página WEB la ficha de seguridad de este reactivo y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación y eliminación de residuos.

ESPECIFICACIONES DE DESEMPEÑO

-Linealidad: hasta 400 mg/dl.

Para valores superiores a 400 mg/dl, diluir la muestra con suero fisiológico y el resultado obtenido se multiplica por el factor de dilución.

-Límite de detección: 1.0 mg/dl.

-Interferencias: Hemoglobina sobre 0,5 gr/dl, bilirrubina sobre 10 mg/dl y la lipemia (triglicéridos sobre 1000 mg/dl) podrían interferir en la técnica. Otros medicamentos y sustancias podrían interferir.

-Reproducibilidad Inter serie: n = 10.

Nivel	Media (mg/dl)	C.V %
Normal	44	3.63%

Estos datos han sido obtenidos utilizando la técnica manual. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento.

- Certificado de Conformidad y Trazabilidad disponible a solicitud.

RANGOS DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de referencia en función de la población de pacientes. Los rangos de referencia que se enumeran a continuación están tomados de la bibliografía existente.

	Bajo riesgo	Riesgo standard	Alto riesgo
HOMBRES	>55 mg/dL	35 - 65 mg/dL	<35 mg/dL
MUJERES	>65 mg/dL	45 - 65 mg/dL	<45 mg/dL

REFERENCIAS

1. Tietz N. (ed), Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co. Philadelphia, 1976.
2. Watson, D., Clin. Chem. Acta 5 (637), 1960.
3. Trinder, P., Ann Clin. Biochem. 6 (24), 1969.
4. Castelli, W.P., et al., Circ. 55 (767) 1977.
5. Young D.S., Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.