

Para uso en el diagnóstico in Vitro.

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 Colesterol HDL Directo Mexlab VALTEK es un método homogéneo para la determinación directa de los niveles de HDL-C en suero o plasma, sin necesidad de etapas de pretratamiento o centrifugaciones previas. Este método, compuesto por dos reactivos depende de las propiedades de un detergente específico tal como se ilustra, y se basa en la aceleración de la velocidad de reacción de la enzima colesterol oxidasa (CO) con el colesterol no-esterificado, y la disolución selectiva de la HDL utilizando un detergente específico. En el primer reactivo, el colesterol no-esterificado no HDL es sometido a una reacción enzimática tras la cual el peróxido producido es consumido por la enzima peroxidasa con DSBmT, obteniéndose un producto incoloro. El segundo reactivo consiste en un detergente capaz de solubilizar el HDL específicamente, reaccionando con la enzima colesterol esterasa (CE) y el complejo cromogénico de la etapa anterior, formándose un compuesto coloreado, en forma directamente proporcional a la concentración de colesterol HDL en la muestra.

REACTIVOS

Conservados entre 2° y 8°C en frasco cerrado y protegidos de la luz, estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Los reactivos R1 y R2 abiertos a bordo del autoanalizador entre 2° y 8°C, son estables a lo menos por un mes. NO CONGELAR.

Composición de los Reactivos:

Reactivo 1	Medida
Good 's Buffer	
Colesterol oxidasa (Fr:E.Coli)	<1000 U/l
Peroxidasa (Fr:Horseradish)	<1300ppg U/l
N,N-bis(4-sulphobutyl)-m-toluidine-disodium(DSBmT)	<1 mM
Acelerador	<1 mM
Preservante	<0.06%
Ascorbato oxidasa (Fr. Curcubita sp.)	<3000U/l

Reactivo 2	Medida
Good 's Buffer	
Colesterol esterasa (Fr:Pseudomonas sp.)	<1500U/l
4-Aminoantipirina (4-AAP)	<1 mM
Detergente	<2%
Preservante	<0.06%

Preparación del Reactivo de Trabajo: los reactivos se proveen listo para su uso.

MUESTRA

Las muestras deben obtenerse en ayunas (12 a 14 horas).

Suero:

Obtener la muestra dejando coagular y remover el suero antes de 3 horas.

Plasma: Obtener la muestra utilizando EDTA o Heparina (sodio o litio) removiendo el plasma antes de 3 horas. Las muestras pueden almacenarse hasta 1 semana entre 2 y 8 °C o hasta por 3 meses a -70°C.

EQUIPO NECESARIO NO SUMINISTRADOS

Referirse a la programación específica para cada instrumento.

TÉCNICA

Puede utilizarse cualquier autoanalizador capaz de medir diferencia de absorbancia entre 700 nm y 600 nm.

A continuación se describe un procedimiento general para un equipo autoanalizador.

Muestra (ul)	4
Reactivo 1 (ul)	300
Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C. Medir la diferencia de absorbancia entre 700 nm y 600 nm.	
Reactivo 2 (ul)	100
Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C. Medir la diferencia de absorbancia entre 700 nm y 600 nm.	

Contactar a VALTEK para obtener aplicaciones específicas. Es responsabilidad del laboratorio validar esta aplicación.

CALIBRACIÓN

1. En la calibración se recomienda utilizar calibrador sérico VALTEK específico para Colesterol HDL, proceder de igual forma que con las muestras.
2. Se recomienda recalibrar en cualquier momento que se evidencie alguno de estos acontecimientos:
3. El lote de reactivo cambia
4. Se realiza un mantenimiento preventivo del equipo
5. Los valores de control han cambiado o se encuentran fuera de escala.

CÁLCULOS

Los valores de Colesterol HDL son obtenidos a partir de la calibración realizada.

CONTROL DE CALIDAD

1. Es conveniente analizar junto con las muestras sueros controles valorados para Colesterol HDL por este método. Se recomienda la utilización de los sueros controles VALTROL-N (código 8002101) y VALTROL-P (código 8002104). La utilización de un control de calidad procesado como las muestras permite evaluar la exactitud y precisión del método.
2. Si los valores obtenidos para los controles se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, el reactivo y el calibrador.
3. 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. No usar anticoagulantes que contengan citrato.
2. Proteger los reactivos de la luz solar directa.
3. Almacenar los reactivos entre 2° y 8° C. No congelar.
4. El NCEP recomienda no basar tratamientos en un resultado aislado del HDL-C.
5. Muestras con triglicéridos superiores a 2000 mg/dl no deben ser diluidas.
6. Se ha reportado valores menores de HDL colesterol a los obtenidos por el método de referencia en muestras provenientes de hígados con cirrosis.
7. Alteraciones en el aspecto físico de los reactivos o de los valores de los materiales del control, fuera del rango aceptable del fabricante, pueden ser una indicación de inestabilidad de ellos.
8. 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.
9. En autoanalizadores debe utilizarse contenedores de reactivos nuevos.

ESPECIFICACIONES DE DESEMPEÑO

-Linealidad: 2.5 mg/dl a 200 mg/dl

Muestras que excedan 200 mg/dl deben ser diluidas con suero fisiológico y multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

-Interferencias: Los estudios de interferencias han sido realizados conforme a las sugerencias del NCCLS No.EP7-P.13. Hemoglobina 1000 mg/dl, bilirrubina conjugada 60 mg/dl, bilirrubina total 60 mg/dl, ácido ascórbico 100 mg/dl, lipemia 1800 mg/dl, gamma-globulinas 5000mg/dl no presentan interferencias significativas (+/-10%)

Los efectos de drogas en los niveles de HDL-C en el suero se pueden revisar en los trabajos de Young.13

-Exactitud: Los reactivos Mexlab VALTEK no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales. Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.

Precisión Intra ensayo: n = 20

Sueros humanos replicados 20 veces cada uno.

Nivel	Media (mg/dl)	SD (mg/dl)	C.V %
Bajo <40mg/dl	32.9	0.3	0.8%
Medio 40 a 59 mg/dl	50.6	0.2	0.5%
Alto >60mg/dl	101.4	0,7	0.7%

Precisión Inter ensayo: n = 40

Sueros humanos procesados en duplicados dos veces diarias durante diez días:

Nivel	Media (mg/dl)	SD (mg/dl)	C.V %
Bajo <40mg/dl	32.8	0.4	1.3%
Medio 40 a 59 mg/dl	50.0	0.7	1.5%
Alto >60mg/dl	100.1	1.1	1.1%

Estos datos han sido obtenidos utilizando un autoanalizador. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o al realizar el procedimiento manualmente.

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.

Hombres	30-70 mg/dl
Mujeres	30-85 mg/dl

Para convertir los valores de Colesterol HDL en mg/dl a unidades internacionales estandarizadas, multiplicar el resultado por 0.0259.
 $\text{mg/dl} \times 0.0259 = \text{mmol/l}$ Colesterol HDL

Conforme al NCEP, valores de HDL mayores o iguales a 40 mg/dl se consideran adecuados, y valores iguales o superiores a 60 mg/dl se considera que ofrecen algún grado de protección contra la enfermedad coronaria. Valores inferiores a 40 mg/dl se considera como un factor significativo de riesgo de enfermedad coronaria.

PRESENTACIONES DISPONIBLES

Contenido:
1x15ml + 1x5 ml
1x60ml + 1x20 ml

REFERENCIAS

1. Gotto, A.M., Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia, Hospital Practice, 23; Suppl. 1, 4 (1988).
2. Crouse, J.R. et al., Studies of low density lipoprotein molecular weight in human beings with coronary artery disease, J. Lipid Res., 26; 566 (1985).
3. Castelli, W.P. et al., HDL cholesterol and other lipids in coronary heart disease, Circulation, 55; 767 (1977).
4. Barr, D.P., Russ E.M., Eder, H.A., Protein-lipid relationships in human plasma, Am. J. Med., 11; 480 (1951).
5. Gordon, T. et al., High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease, Am. J. Med., 62; 707 (1977).
6. Williams, P., et al., High density lipoprotein and coronary risk factor, Lancet, 1; 72, (1979).
7. Kannel, W.B., Castelli, W.P., Gordon, T., cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease; New perspectives based on the Framingham study, Ann. Intern. Med., 90; 85, (1979).
8. National Institutes of Health publication No. 93-3095, September, 1993 method development and evaluation. Clinical Chemistry 1974; 20: 825-833.